



T. C.

ORDU ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KURU MEYVE GÜVESİ *PLODIA INTERPUNCTELLA* (HÜBNER),
(LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)'NIN BAKTERİYAL VE FUNGAL
PATOJENLERİNİN İZOLASYONU, KARAKTERİZASYONU VE
BİYOLOJİK MÜCADELEDE KULLANILMA POTANSİYELİNİN
ARAŞTIRILMASI**

GÖNÜL ALGI

DOKTORA TEZİ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

ORDU 2023

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre; bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

GÖNÜL ALGI

Bu tez, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 118O980 numaralı 1001 projesi ile desteklenmiştir.

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

“KURU MEYVE GÜVESİ (*PLODIA INTERPUNCTELLA* (HÜBNER), LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)’NIN BAKTERİYAL VE FUNGAL PATOJENLERİNİN İZOLASYONU, KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK MÜCADELEDE KULLANILMA POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI”

GÖNÜL ALGI

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ, 165 SAYFA

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. ÖMER ERTÜRK)

Bu tez çalışmasında *Plodia interpunctella*’nın bakteriyel ve fungal etmenleri araştırılmış, tespit edilmiş ve modern yöntemler ile ortaya konulmuştur. Türkiye’nin üç ilinden alınan örnekler ile tez çalışmasının kapsamı oldukça genişletilmiştir ve bu sayede önemli literatür boşluklarını doldurmaktadır. Bakteriyel ve fungal etmenlerin tespiti, karakterizasyonu için boyamaların ardından DNA izolasyonu ve moleküler çalışmaların sonunda filogenetik analizler yapılmıştır. Tez çalışması sonucunda 9 adet bakteri ve 4 adet fungus izole edilip tüm moleküler ve filogenetik çalışmalar ile tespit edilmiştir. Ayrıca elde edilen bakteri ve fungusların biyoassay deneyleri de yapılmıştır. Bu deneyler için macfarlant cihazı ile ayarlanmış $1,5 \times 10^6$, $1,5 \times 10^7$, $1,5 \times 10^8$ ve $1,5 \times 10^9$ konsantrasyonları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bunlara ek olarak bu konsantrasyonların her biri 2-3.instar, 3-4.instar ve 4-5.instar larvalara denenmiştir. Bioassay sonuçlarına göre $1,5 \times 10^6$ konsantrasyonu sağlıklı larvalar üzerinde ciddi bir etki göstermemiş buna karşılık $1,5 \times 10^9$ konsantrasyon ise yüksek ölümlerle sonuçlanmıştır. Deneylerde en hassas olan instarların 2-3.instar olduğu görülmüş, en dirençli olanların ise 4-5. instar larvalar olduğu tespit edilmiştir. Biyoassaylar bununla sınırlı kalmamış temsili depo şartlarında da deneyler yapılmıştır. Deney sonuçları istatistiksel olarak kıyaslanıp sonuçlandırılmıştır. Bu tez çalışması ile elde edilen bakteri izolatlarının hepsi *Plodia interpunctella*’dan Türkiye’de ilk kez izole edilmeleri bakımından büyük bir özgün değere sahiptir. Funguslar da *P. interpunctella*’nın biyolojik mücadelesi kapsamında önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bakteri, biyolojik mücadele, depo zararlısı, fungus, Moleküler Filogeni, *Plodia interpunctella*, 16S rRNA

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE ISOLATION, CHARACTERIZATION OF BACTERIAL AND FUNGAL PATHOGENS OF THE INDIAN MEAL MOTH *PLODIA INTERPUNCTELLA* HÜBNER (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) AND THE POTENTIAL OF USING IN BIOCONTROL

NAME AND SURNAME OF THE AUTHOR

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED
SCIENCES

MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

PHD THESIS, 165 PAGES

(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. ÖMER ERTÜRK)

In this thesis study, bacterial and fungal agents of *Plodia interpunctella* were investigated, identified and revealed with modern methods. The scope of the thesis has been greatly expanded with the examples taken from three provinces of Turkey, thus filling important literature gaps. Phylogenetic analyzes were performed at the end of DNA isolation and molecular studies after staining for the detection and characterization of bacterial and fungal agents. As a result of the thesis study, 9 bacteria and 4 fungi were isolated and determined by all molecular and phylogenetic studies. In addition, bioassay experiments of the obtained bacteria and fungi were also carried out. For these experiments, 1.5×10^6 , 1.5×10^7 , 1.5×10^8 and 1.5×10^9 concentrations adjusted with the macfarlant instrument were used. Additionally, each of these concentrations was tested on 2-3.instar, 3-4.instar and 4-5.instar larvae. According to the bioassay results, 1.5×10^6 concentration did not have a serious effect on healthy larvae, whereas 1.5×10^9 concentration resulted in high mortality. In the experiments, it was seen that the most sensitive instars were 2-3. instars, and the most resistant ones were 4-5. were found to be instar larvae. Bioassays were not limited to this, but experiments were also carried out in representative warehouse conditions. Experiment results were statistically compared and concluded. All of the bacterial isolates obtained in this thesis study have a great unique value in that they are isolated from *Plodia interpunctella* for the first time in Turkey. Fungi are also important in the biological control of *P. interpunctella*.

Keywords: Bacteria, Fungus, Biological Control, Storage Pest, Molecular Pylogny, *Plodia interpunctella*, 16S rRNA

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi, çalışmanın yürütülmesi ve yazımı esnasında başta danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ömer ERTÜK'e kalpten teşekkür ederim. Tez konumun TÜBİTAK tarafından desteklenmesiyle çalışmalarına maddi ve manevi olarak katkıda bulunan hocama ve TÜBİTAK'a ayrıca teşekkür ederim. Lisansüstü hayatım boyunca yanında beraber çalışma onuruna erişebildiğim değerli hocam Prof. Dr. Mustafa YAMAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez yazım aşamasında desteklerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Ali GÜNCAN hocama ve ekibinden Arş. Gör. Yunus Emre ALTUNÇ hocama ve ayrıca moleküler çalışmalarda imkanlarını hiçbir zaman esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Yılmaz ÇİFTÇİ ve Ümit GÜR'e teşekkür ederim.

Aynı zamanda, maddi ve manevi desteklerini her an üzerimde hissettiğim, beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan, her zaman güvenen sevgili ailem, babam, annem ve kardeşlerime teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ BİLDİRİMİ.....	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİL LİSTESİ.....	VII
ÇİZELGE LİSTESİ.....	X
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ.....	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1 Kuru Meyve Zararlıları	15
2.2 <i>Plodia interpunctella</i> (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae)'nın Sınıflandırılması .	15
2.2.1 <i>Plodia interpunctella</i> 'nın Tanımı ve Biyolojisi	15
2.2.2 Zarar Şekli, Ekonomik Önemi ve Yayılışı.....	21
2.2.3 Mücadele Yöntemleri.....	24
2.2.3.1 Kimyasal Mücadele.....	24
2.2.3.2 Fiziksel Mücadele	26
2.2.3.3 Biyoteknik Mücadele	28
2.2.3.4 Biyolojik Mücadele.....	30
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	36
3.1 Böceklerin elde edilmesi	36
3.2 Makroskobik çalışmalar	37
3.3 Mikroskobik çalışmalar.....	37
3.3.1 Işık mikroskobu çalışmaları	38
3.4 Hastalık Etmenlerinin Tespit Edilmesi	39
3.4.1 Entomopatojenik bakterilerin tespiti	39
3.4.1.1 Saf Kültürlerin hazırlanması	40
3.4.1.2 Saf kültürlerin stoklanması	40
3.4.1.3 Bakteriyel izolatların morfolojik özelliklerinin belirlenmesi.....	40
3.4.1.4 Koloni morfolojisinin belirlenmesi	40
3.4.1.5 Basit boyama.....	40
3.4.1.6 Gram boyama	40
3.4.1.7 Endospor boyama.....	41
3.4.1.8 Kristal boyama	41
3.5 Entomopatojenik fungusların tespiti	42
3.5.1 Saf kültürlerin hazırlanması	42
3.6 Bakteriyel ve Fungal İzolatların İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi.....	43
3.7 Tez Çalışmasında Elde Edilen Bakteri ve Fungusların Moleküler Çalışmaları... 45	
3.7.1 DNA İzolasyonu.....	45
3.7.1.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (rDNA amplifikasyonu)	45
3.7.1.3 Bakteriyel ve Fungal Solüsyonların 16S rDNA Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Yükseltgenmesi	46
3.7.1.4 Çoğaltılan 16S rDNA Bölgesinin Agaroz Jel Elektroforeziyle İncelenmesi .	48
3.8 DNA Sekans Analizi	50

3.9 Filogenetik Analizler.....	50
3.10 Laboratuvar Koşullarında Etkili Olan Entomopatojenlerin Temsili Depo Koşullarında İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi	51
3.11 İstatiksel Analiz.....	53
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	54
4.1 Entomopatojenik Bakteriler	54
4.1.2 Entomopatojenik Bakterilerin Karakterizasyonu	54
4.1.3 Tespit Edilen Patojen Bakterilerin Filogenisi	55
3.1.4 Entomopatojenik Fungusların Karakterizasyonu	77
4.1.5 Tespit Edilen Entomopatojen Bakterilerin İnsektisidal Etkinliğinin Belirlenmesi	84
4.2 Entomopatojenik Funguslar	96
4.2.1 Entomopatojenik Fungusların Karakterizasyonu	96
4.2.2 Tespit Edilen Patojen Fungusların Filogenisi	97
4.3 Laboratuvar Koşullarında Etkili Olan Entomopatojenlerin Temsili Depo Koşullarında İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi	103
4.4 İstatistiksel Analiz.....	108
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	130
6. KAYNAKLAR	133
ÖZGEÇMİŞ	149

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 Çeşitli Depolama Sistemleri. (a) Afrikalı Küçük Toprak Sahipleri Tarafından Kullanılan ve "gota" Olarak Adlandırılan Kerpiç Kaplar; (b) Dış Mekan Çuval İstifleri; (c) Havalandırılmalı ve fumigant Devridaimli Çelik Depolar; (d) Beton Elevatör (Asansör); (e) İşleme ve Nakliye ile Birlikte Büyük Beton Asansör Sistemi; ve (f) hermetik (Hava Geçirmez) Küçük Torba Saklama Yöntemi (Hagstrum ve Phillips, 2017).....	3
Şekil 2.1 <i>Plodia interpunctella</i> Larvalarının Beslenmesi Sonucu Paketlerde Meydana Gelen Hasarlar.....	10
Şekil 2.2 Erişkin Kuru Meyve Güvesi, Erkek ve Dişi Dış Genital Yapıları Arasında Kolayca Ayırt Edilebilen Farklılıklar Gösterir.....	16
Şekil 2.3 <i>Plodia interpunctella</i> 'ya ait Yumurta.....	20
Şekil 2.4 <i>P. interpunctella</i> 'ya Ait Larva ve Pupa.....	20
Şekil 2.5 <i>P. interpunctella</i> Erginleri.....	21
Şekil 2.6 <i>P. interpunctella</i> 'nın besin Üzerindeki Zararı.....	24
Şekil 3.1 <i>Plodia interpunctella</i> toplanan Bölgeler.....	36
Şekil 3.2 Makroskobik İncelemeler Sonucu Bakteriyal (a) ve Fungal (b) Enfeksiyonlardan Şüphelenilen Larvalar.....	38
Şekil 3.3 Işık Mikroskobu Çalışmaları İçin Yapılan Hazırlıklar.....	39
Şekil 3.4 Böceklerden Bakteri ve Fungusların Saflaştırılması.....	43
Şekil 3.5 Techne TC-Plus Markalı Thermal Cycle Cihazı.....	47
Şekil 3.6 Genomik DNA ve PZR Ürünlerinin Elektroforetik İncelemelerinin Yapıldığı Elektroforez Cihazı.....	49
Şekil 3.7 UV Görüntüleme Sistemi.....	49
Şekil 3.8 Temsili Alan Denemeleri İçin Oluşturulan Deney Düzenneği.....	52
Şekil 3.9 Deney Düzenneği İçine Yerleştirilmiş Fındık Tabetleri.....	53
Şekil 4.1 Bakterilerden Elden Edilmiş Olan DNA'lardan Yapılan PCR Çalışması Sonucunda Alınmış Olan Çoklu Bant Görüntüleri.....	55
Şekil 4.2 İzolatların 16S rDNA Nükleotid Dizilemelerine Ait Kromatogram Görüntülerinden Bir Kesit.....	55
Şekil 4.3 16S SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konaklardan İzole Edilen Entomopatojen Bakteri Türleri Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ok ile Gösterilen İzolate 1 olarak isimlendirilmiş Bakteri <i>Bacillus licheniformis</i> olarak Tespit Edilmiştir. Ağaç, Kimura 2 parametre Mesafesi Kullanılarak Maximum Likelihood Method İle Oluşturulmuş ve MEGA.10 programı İle 1000 bootstrap İle Değerlendirilmiştir. Analizde Dış Grup Olarak <i>Beauveria bassiana</i> kullanılmıştır.....	57
Şekil 4.4 16S SSU SSU rRNA'ya dayalı Olarak Farklı Konaklardan İzole Edilen Entomopatojen Bakteri Türleri Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ok İle Gösterilen İzolate 2 Olarak İsimlendirilmiş Bakteri <i>Methylobacterium sp</i> olarak Tespit Edilmiştir. Ağaç, Kimura 2 Parametre Mesafesi Kullanılarak Maximum Likelihood Method İle Oluşturulmuş ve MEGA.10 programı İle 1000 bootstrap İle Değerlendirilmiştir. Analizde Dış Grup Olarak <i>Beauveria bassiana</i> Kullanılmıştır.....	60
Şekil 4.5 16S SSU rRNA'ya dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen <i>Bacillus</i> türleri Arasındaki ve <i>Bacillus firmus</i> arasındaki Filogenetik	

- İlişkiler. Ok ile Gösterilen İzolate 2 Olarak İsimlendirilmiş Bakteri *Bacillus firmus* Olarak Tespit Edilmiştir Ağaç, Kimura 2 parametre kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. *Beauveria bassiana* analizde Dış Grup Olarak Kullanıldı. Dış Grup Olarak *Bauveria bassiana* Seçilmiştir.....62
- Şekil 4.6** 16S SSU rRNA'ya dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen *Bacillus* Türleri Arasındaki ve *Bacillus stratosphericus* Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ok ile gösterilen İzolate 4 olarak İsimlendirilmiş Bakteri *Bacillus stratosphericus* Olarak Tespit Edilmiştir. Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. Dış grup olarak *Bauveria bassiana* seçilmiştir.....64
- Şekil 4.7** 16S SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen *Bacillus* Türleri Arasındaki ve *Bacillus pumilus* Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ok ile Gösterilen İzolate 7 olarak İsimlendirilmiş Bakteri *Bacillus pumilus* Olarak Tespit Edilmiştir Ağaç, Kimura 2 parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. Dış Grup Olarak *Bauveria bassiana* Seçilmiştir.....66
- Şekil 4.8** 16S SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen *Bacillus* Türleri Arasındaki ve *Bacillus zhangzhouensis* Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ok ile Gösterilen İzolate 8 Olarak İsimlendirilmiş Bakteri *Bacillus zhangzhouensis* Olarak Tespit Edilmiştir Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. Dış grup olarak *Bauveria bassiana* seçilmiştir.....68
- Şekil 4.9** 16S SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen *Bacillus* Türleri Arasındaki ve İzolate 9 Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ok ile Gösterilen İzolate 8 Olarak İsimlendirilmiş Bakteri *Bacillus spp.* Olarak Tespit Edilmiştir Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. Dış Grup Olarak *Bauveria bassiana* Seçilmiştir.....70
- Şekil 4.10** 16S SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen *Bacillus* Türleri Arasındaki ve İzolate 12 Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ok ile Gösterilen İzolate 8 Olarak İsimlendirilmiş Bakteri *Bacillus spp.* Olarak Tespit Edilmiştir Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. Dış Grup Olarak *Bauveria bassiana* Seçilmiştir.....72
- Şekil 4.11** 16S SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen *Bacillus* Türleri Arasındaki ve *Bacillus pumilus* Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. Dış Grup Olarak *Bauveria bassiana* Seçilmiştir.....74

Şekil 4.12	16S SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen <i>Bacillus</i> Türleri Arasındaki ve <i>Bacillus cereus</i> Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. Dış Grup Olarak <i>Bauveria bassiana</i> Seçilmiştir.....	76
Şekil 4.13	Funguslardan Elden Edilmiş Olan DNA'lardan Yapılan PCR Çalışması Sonucunda Alınmış Olan Çoklu Bant Görüntüleri.....	77
Şekil 4.14	ITS Gen Bölgesine Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen Entomoaptojenik Fungus Türleri Arasındaki ve <i>Actinomucor elegans</i> Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ağaç, Kimura 2 parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. <i>Escherichia coli</i> Analizde Dış Grup Olarak Kullanıldı.....	79
Şekil 4.15	ITS Gen Bölgesine Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen Entomoaptojenik Fungus Türleri Arasındaki ve <i>Aspergillus flavus</i> Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. <i>Escherichia coli</i> Analizde Dış Grup Olarak Kullanıldı.....	80
Şekil 4.16	ITS Gen Bölgesine Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen Entomoaptojenik Fungus Türleri Arasındaki ve <i>Aspergillus nidulans</i> Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. <i>Escherichia coli</i> Analizde Dış Grup Olarak Kullanıldı.....	82
Şekil 4.17	ITS Gen Bölgesine Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen Entomoaptojenik Fungus Türleri Arasındaki ve <i>Aspergillus sp.</i> Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. <i>Escherichia coli</i> Analizde Dış Grup Olarak Kullanıldı.....	84
Şekil 4.18	Bakteriler İçin Hazırlanan Bioassay Deney Düzeneği.....	85
Şekil 4.19	Bakteri Enfeksiyonu Sonucu Ölen Larvalardaki Renk Değişimleri.....	96
Şekil 4.20	PZR Sonucu Tespit Edilen Fungusların Jel Görüntüleri.....	97
Şekil 4.21	Mega 10 Programı Yardımıyla 1000 Bootstrap ve GTR+G Evrim Modeli Kullanılarak Yapılan Maximum Likelihood Analizi sonuçlarına Göre, Fungus İçin Analiz Edilen Tüm Verilerin Tek Ana grup (<i>Aspergillus</i> grubu) altında Toplandığı Görülmektedir. Gen Dizisi Benzerliği Sonucuna Göre de En Yakın Tür <i>Aspergillus fumigatus</i> olduğu Bulunmuştur. Filogeni Verilerine Göre, Ordu'dan tespit Edilen Fungus'nin <i>Aspergillus</i> cinsine Ait Olduğu Belirlenmiş ve <i>Aspergillus flavus</i> Olarak Tanımlanmıştır.....	99
Şekil 4.22	Temsili Depoya Asılan Fındık Tabletler.....	104
Şekil 4.23	Hazırlanan Temsili Depo Şartları.....	105
Şekil 4.24	Fındık Tableti Üzerine Yumurta Bırakan Dişi Bireyler.....	106
Şekil 4.25	Kontrol Grubundaki Sağlıklı Gelişim.....	107
Şekil 4.26	Bakterilerin Ölüm Oranlarını Gösteren Grafik.....	114

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 3.1 <i>P. interpunctella</i> Popülasyonlarının Örneklem Yerleri Ve Tarihleri....	37
Çizelge 3.2 Entomopatojenlerin rDNA Amplifikasyonunda Kullanılan Primerler...	45
Çizelge 3.3 PZR İçin Hazırlanan Karışım İçeriği.....	47
Çizelge 3.4 PZR Koşullarını Gösteren Tablo	47
Çizelge 4.1 İzole Edilen Bakteri ve Fungusların Morfolojik Özellikleri	54
Çizelge 4.2 Ordu'dan Tespit Edilen Patojen Bakterinin (İzolat 1) Filogenetik Analizinde Kullanılan SSU rRNA Dizileri ve GenBank Erişim Numaraları.....	56
Çizelge 4.3 Ordu'dan Tespit Edilen Patojen Bakterinin (İzolat 2) Filogenetik Analizinde Kullanılan SSU rRNA Dizileri ve GenBank Erişim Numaraları	58
Çizelge 4.4 İzolat 3 (<i>Bacillus firmus</i>)'un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları	61
Çizelge 4.5 İzolat 4 (<i>Bacillus stratosphericus</i>)'un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları	63
Çizelge 4.6 İzolat 7 (<i>Bacillus pumilus</i>)'un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları	65
Çizelge 4.7 İzolat 8 (<i>Bacillus zhangzhouensis</i>)'un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları	67
Çizelge 4.8 İzolat 9 (<i>Bacillus spp</i>)'un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları	69
Çizelge 4.9 İzolat 12 (<i>Bacillus spp</i>)'un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları	71
Çizelge 4.10 İzolat 13 (<i>Bacillus pumilus</i>)'un filogenetik analizinde kullanılan GenBank erişim numaraları	73
Çizelge 4.11 İzolat 14 (<i>Bacillus cereus</i>)'un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları	75
Çizelge 4.12 İzolat A (<i>Actinomucor elegans</i>)'un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları	78
Çizelge 4.13 İzolat B (<i>Aspergillus flavus</i>)'un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları	80
Çizelge 4.14 İzolat C (<i>Aspergillus nidulans</i>)'un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları	81
Çizelge 4.15 İzolat D (<i>Aspergillus sp.</i>)'un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları	83
Çizelge 4.16 <i>Bacillus licheniformis</i> Biyoassay Sonuçları	86
Çizelge 4.17 <i>Bacillus pumilus</i> Biyoassay Sonuçları.....	87
Çizelge 4.18 <i>Bacillus cereus</i> Biyoassay Sonuçları	88
Çizelge 4.19 <i>Bacillus firmus</i> Biyoassay Sonuçları	89
Çizelge 4.20 <i>Bacillus zhanjiangensis</i> Biyoassay Sonuçları.....	90
Çizelge 4.21 <i>Bacillus stratosphericus</i> Biyoassay Sonuçları.....	91
Çizelge 4.22 <i>Bacillus spp.</i> (5 nolu bakteri) Biyoassay Sonuçları.....	92
Çizelge 4.23 <i>Bacillus spp.</i> (6 nolu bakteri) Biyoassay Sonuçları.....	93
Çizelge 4.24 <i>Methylobacterium sp.</i> Biyoassay Sonuçları.....	94

Çizelge 4.25 Ordu'dan Tespit Edilen Patojen Fungusun Filogenetik Analizinde Kullanılan ITS Dizileri ve GenBank Erişim Numaraları.....	98
Çizelge 4.26 <i>Aspergillus flavus</i> Biyoassay Sonuçları.....	100
Çizelge 4.27 <i>Aspergillus nidulans</i> Biyoassay Sonuçları.....	101
Çizelge 4.28 <i>Aspergillus sp.</i> Biyoassay Sonuçları.....	102
Çizelge 4.29 <i>Actinomucor elegans</i> Biyoassay Sonuçları.....	103
Çizelge 4.30 İzole Edilen Bakterilerin İnstarlarına Göre Ayrı Ayrı Hesaplanmış LD50 ve LD90 Değerleri.....	109
Çizelge 4.31 İzole Edilen Bakterilerin İnstarlarına Göre Ayrı Ayrı Hesaplanmış LD50 ve LD90 Değerleri.....	110
Çizelge 4.32 <i>B. cereus</i> Anova Test Sonuçları.....	110
Çizelge 4.33 <i>B. firmus</i> Anova Test Sonuçları.....	110
Çizelge 4.34 <i>B. licheniformis</i> Anova Test Sonuçları.....	111
Çizelge 4.35 <i>B. pumilus</i> Anova Test Sonuçları	111
Çizelge 4.36 <i>B. stratosphericus</i> Anova Test Sonuçları	111
Çizelge 4.37 <i>B. zanghouensis</i> Anova Test Sonuçları	111
Çizelge 4.38 <i>Bacillus spp.</i> (5nolu bakteri) Anova Test Sonuçları.....	111
Çizelge 4.39 <i>Bacillus spp.</i> (6nolu bakteri) Anova Test Sonuçları.....	112
Çizelge 4.40 <i>Bacillus spp.</i> (6nolu bakteri) Anova Test Sonuçları.....	112
Çizelge 4.41 Biyoassay denemelerinde En Etkili Olan Dozların İnstarlar Üzerindeki Ölüm Oranlar.....	114

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

%	: Yüzde
'	: Dakika
>	: Büyük
≥	: Büyük Eşit
±	: Standart Sapma Değeri
°C	: Celsius Cinsinden Sıcaklık Derecesi
‰	: Binde
BIC	: Bayesian Information Criterion
bp	: Baz Çifti
CI	: Consistency Index (Tutarlılık İndeksi)
cm	: Santimetre
ddH₂O	: Double Distile Su
DHA	: Dokosaheksaenoik Asit
DIC	: Diferansiyel İnterferans Kontrast
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: DNA Nükleotid Bazlar
EPA	: Eikosapentaenoik Asit
g	: Gram
G	: Gamma Shape Değeri
g	: Santrifüj Rotor Hızı
HI	: Homoplasy Index (Homoplazi İndeksi)
KCl	: Potasyum Klorür
kg	: Kilogram
km	: Kilometre
L	: Litre
M	: Molar
mg	: Miligram
MgCl₂	: Magnezyum Klorür
ml	: Mililitre
ML	: Maximum Likelihood
mm	: Milimetre
n	: Tekrar Sayısı
N	: Örnek Sayısı
NCBI	: National Center Biotechnology Information
nm	: Nanometre
nmol	: Nanomol
pH	: Asitlik veya Bazlık Derecesini Tarif Eden Ölçü Birimi
pM	: Pikomol
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rDNA	: Ribozomal Deoksiribonükleik Asit
rpm	: Santrifüj Dönme/Dakika Sayısı
S	: Svedberg Birimi, Sedimentasyon (Çökelme) Katsayısı
sn	: Saniye

sp.	: Taksonomide Türü İfade Eden Bir Kısaltma
spp.	: Taksonomide Bir Cinse Ait Tüm Türleri İfade Eden Bir Kısaltma
TBE	: Tris Borat Edta
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
U	: Ünite (Birim)
UV	: Ultra Viole
V	: Volt
v	: Program Versiyonu
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre (Mikron)

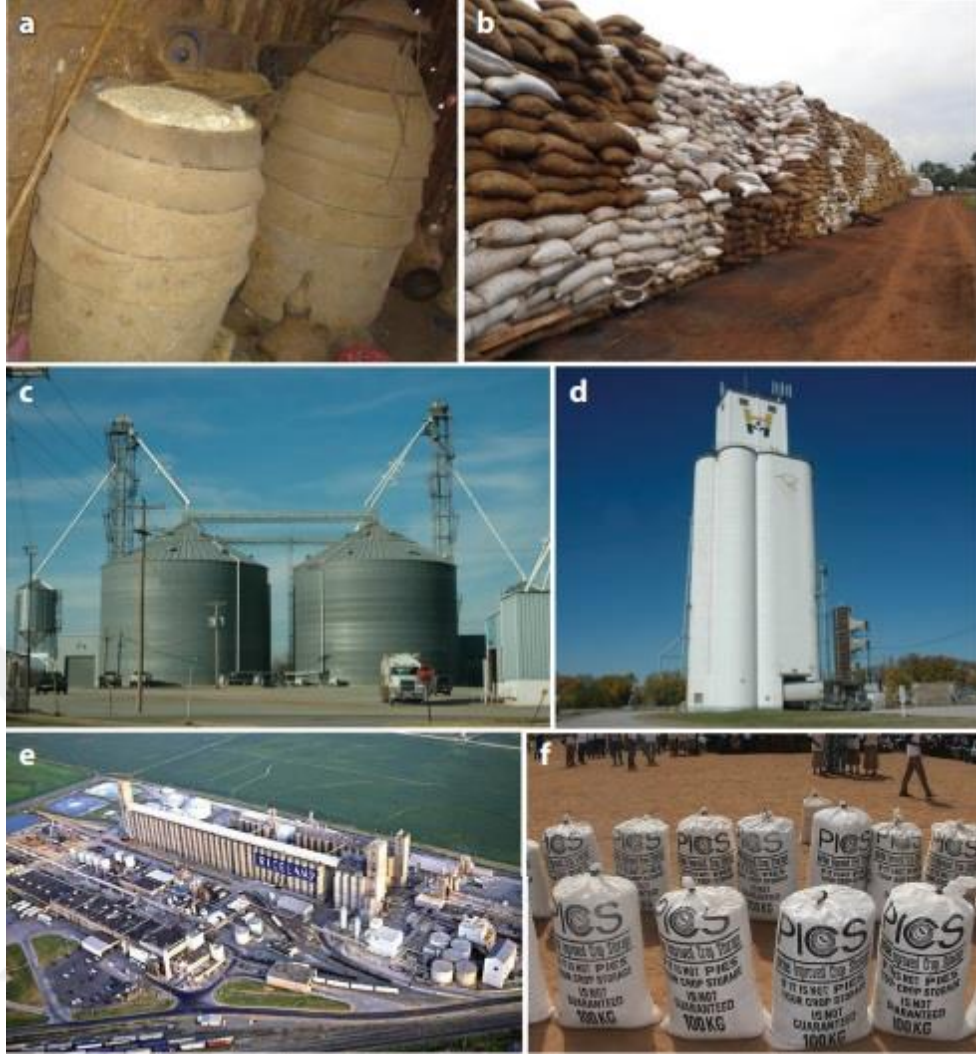


1. GİRİŞ

Son 10.000 yılda insan uygarlığının sürekli gelişmesiyle birlikte, yiyecek ve diğer malzemeleri üretme ve bunları gelecekte kullanmak üzere saklama yöntemleri muazzam bir şekilde gelişmiştir. Ayrıca, artan yaşam beklentisi ve sanayileşme ile birlikte son birkaç yüzyıldaki önemli nüfus artışı, konut, sanayi ve ulaşım ağına yer açmak için ekilebilir arazilerin kademeli olarak yok edilmesine sebep olmuştur. Dünyanın artan nüfusunu beslemek için gıda güvenliği, dünya genelinde hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkeler için en önemli önceliklerden biri haline gelmiştir. Gıda güvenliği kavramı, özellikle az gelişmiş ülkelerdeki yoksulları etkileyen küresel gıda krizinin derinleşmesi nedeniyle ancak 1970-1990'larda ortaya çıkmıştır. 1996 Dünya Gıda Zirvesi'nde, kıtlık, açlık ve gıda krizi konuları kapsamlı bir şekilde incelenmiş ve ilk odak noktasının gıda hacmi ve istikrarı olduğu kritik bir nokta olarak belirtilmiştir. 1996 Dünya Gıda Zirvesi'nde (FAO, 1996) gıda güvenliği: "Gıda tüketiminin istikrarlı bir şekilde genişlemesini sürdürmek ve üretim ve fiyatlardaki dalgalanmaları dengelemek için temel gıda maddelerinin yeterli dünya gıda arzının her zaman mevcudiyeti" olarak tanımlamıştır ve artık evrensel anlayış, daha fazla gıda üretmeyi hedeflemenin yanı sıra, ürettiğimizi korumamız gerektiği şeklinde gelişmiştir (Nayak ve Daglish, 2018).

Ülkemizin kullanılabilir tarım alanları nüfus artışına paralel olarak artmamakta, aksine her geçen gün azalmaktadır. Bu nedenle birim alandan elde edilen ürün miktarının arttırılması birinci derecede öne çıkmakla birlikte; üretimden tüketime kadar ürünün uygun bir şekilde korunması da çok büyük önem arz etmektedir (Ferizli ve Emekçi 2014). Dünyada ve Türkiye’de özellikle nem içeriği düşük gıda ürünleri beslenme, tohumluk ve ihtiyaç fazlası gibi değişik amaçlarla kısa veya uzun süreli olarak depolanmakta ve tüm yıl boyunca gerek iç ve gerekse dış pazarda piyasaya sunulmaktadır. Ülkemiz hububat, bakliyat, yağlı tohum ve mamülleri, fındık ve mamülleri ve kuru meyve ve mamülleri gibi ürünlerin dünya üretim ve ihracatında önemli bir yere sahiptir. İç tüketim ve dış satımda son derece önemli olan bu ürünler T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Gıda Koruma Genel Müdürlüğü onayı ile özel olarak kurulmuş tesis ve işletmelerde depolanmaktadır. Kuru meyve güvesi, *Plodia interpunctella* (Hübner), depolanan (Şekil 1.1) ürünlerde önemli bir ekonomik böcek zararlısıdır ve Antarktika hariç her kıtada bulunur (Rees, 2004). *P.*

interpunctella'nın kıtasal mesafeler boyunca göç edebileceğini veya dağılabileceğini gösteren hiçbir kayıt yoktur. Bununla birlikte, *P. interpunctella*, ticari deniz taşımacılığı gönderilerinde (Schulten ve Roorda, 1984) istila edilmiş mallarda ve Avrupa'ya ithal edilen gıda ürünlerinde bulunmuştur. Afrika'dan Birleşik Krallık'da *P. interpunctella*'nın ilk kapsamlı bilimsel çalışmalarından biri Hamlin ve arkadaşları (1931), tarafından yapılmıştır. Kuru meyve güvesi tahıl, tahıl bazlı ürünler ve 20'den fazla farklı kabuklu yemiş, meyve ve şeker zararlısı olarak kategorize edilmiştir. Ayrıca, istila edilmiş ürünlerin iade edilmesi yoluyla istilaların ekonomik sonuçlarını da açıklamışlardır. *P. interpunctella* tarafından istila edildiği bildirilen ürünler veya ürün grupları çeşitli yayınlarda listelenmiştir (Cox, 1979; Johnson ve ark., 1992, 1995; Sedlacek ve ark., 1996; Nansen ve Phillips, 2003, 2004; Nansen ve ark., 2004a).



Şekil 1.1 Çeşitli Depolama Sistemleri. (a) Afrikalı Küçük Toprak Sahipleri Tarafından Kullanılan ve "gota" Olarak Adlandırılan Kerpiç Kaplar; (b) Dış Mekan Çuval İstifleri; (c) Havalandırılmalı ve Fumigant Devridaimli Çelik Depolar; (d) Beton Elevatör (Asansör); (e) İşleme ve Nakliye ile Birlikte Büyük Beton Asansör Sistemi; ve (f) Hermetik (Hava Geçirmez) Küçük Torba Saklama Yöntemi (Hagstrum ve Phillips, 2017)

Plodia interpunctella harici bir besleyicidir. Larvalar, yiyecek yüzeyinin hem içinde hem de üstünde sürekli olarak ipeksi bir ağ örür ve ağ içinde beslenir. Ağ, larva dışkısı (frass) ve exuvia (döküm deriler) içerir ve istila edilmiş mala hoş olmayan bir koku verir. İstila edilmiş malın yüzeyi bazen kalın bir ipeksi dokumayla kaplanır. *P. interpunctella* istilasısı, doğrudan ürün kaybına ve haşere kontrol maliyetleri, kalite kayıpları ve tüketici şikayetleri yoluyla dolaylı ekonomik maliyetlere neden olabilir (Phillips ve ark., 2000a). *P. interpunctella* ve diğer depolanmış ürün böceklerin yönetimi için önemli sonuçlara sahiptir. (Arthur, 1996). Montreal Protokolü'ne

(Anonim, 2004) uyum nedeniyle fumigant metil bromürün yaklaşan kaybı, şüphesiz *P. interpunctella* için yönetim programlarını daha fazla etkileyerek yeni kontrol stratejilerine olan talebi hızlandıracaktır (Phillips ve ark., 2000a, b). Bu gözden geçirmenin amaçları şunlardır: (1) biyoloji ve kontrol ile ilgili bilgileri bir gözden geçirme formatında özetlemek ve sentezlemek ve (2) *P. interpunctella*'nın yönetimi ve kontrolüne ilişkin potansiyel yeni araştırma alanlarını tartışmaktır.

Kuru meyve güvesi (*P. interpunctella*, (Lepidoptera; Pyralidae)), hem kuru meyve zararlılarının ve hem de depolanmış hububat ve mamüllerinin en önemli zararlılarından biridir. Gerek *P. interpunctella* ve gerekse diğer depolanmış ürün zararlıları bulaştıkları gıda ürünlerine doğrudan ya da dolaylı bir şekilde zarar vermektedirler. Bunun sonucu olarak da ürünlerde ağırlık kayıplarına, tohumluluk özelliklerinin düşmesine, kalite ve besin değerlerinde olumsuz değişimlere yol açarak ticari değerlerinin azalmasına neden olmaktadır (Boxall, 2001). *P. interpunctella*, depolanmış ürünlerin dünya çapında ekonomik açıdan önemli bir zararlısıdır (Kıvan ve Karsavuran 1991; Turanlı, 2003; Fasulo ve Knox, 2014). Ayrıca, bulaşma görülen gıda ürünlerinin insanlar tarafından tüketilmesinin de sağlık yönünden sakıncalar taşıdığı saptanmıştır. Bu tür gıda ürünlerinin yenilmesi ile solunum yolları alerjisi, kaşıntı, astım, iştahsızlık, gelişim bozukluğu gibi belirtiler ve bakteriyel enfeksiyonlar ortaya çıkmaktadır. Yine, bu böceklerin kemik hastalıkları, şerit ve veba gibi hastalık etmenlerini de taşıdıkları belirlenmiştir (URL-2 2014). Ülkemizde ise bu zararlı *P. interpunctella*'nın birinci derecede tercih ettiği besin kaynakları incir, üzüm, erik, kayısı ve hurma gibi kuru meyvelerdir. Bunların yanı sıra kestane, ceviz, iç fındık, antep fıstığı, yer fıstığı, badem, susam ve ayçiçeği gibi yağlı tohumlar; pirinç, mercimek ve fasülye gibi hububat mamülleri; un ve mamülleri, çikolata, kakao, süt tozu ve baharat gibi ürünler de tercih edilen diğer besin kaynaklarıdır (TAGEM, 2008). Görüldüğü gibi *P. interpunctella* besin seçiciliği sergilememektedir. Bu durum pek çok gıda ürününde kuru meyve güvesi istilalarını kaçınılmaz kılmaktadır. Dünyada ve ülkemizde depolanmış ürün zararlıları ile yaygın olarak kimyasal mücadele yöntemi tercih edilmekte olup fumigasyon uygulamaları yapılmaktadır. Gıda ürünlerinde zararlı olan organizmaların zehirli gaz kullanımı yoluyla öldürülmesi anlamına gelen fumigasyon uygulamalarında sıklıkla tercih edilen fumigantlar metil bromit (MeBr) ve fosfin (PH₃)'dir. Türkiye'de ilk defa 1987 yılında ruhsatlandırılan metil bromidin, aynı yıl 160 ülkenin katılımı ile imzalanan ve ülkemizin de 1991 yılında taraf olduğu

Montreal Protokolü gereğince, ozon tabakasını inceltici özelliğe sahip olması ve ürünlerde brom (Br) kalıntısı nedeniyle zirai karantina ve taşıma öncesi kullanımlar dışında, kullanımının ve ithalatının kademeli olarak azaltılması kararı benimsenmiştir (T.C. Resmî Gazete, 2004). Mevcut uygulamaya ülkemizde 2004 yılında başlanmıştır (Ferizli ve Emekçi 2014). Metil bromidin, hali hazırda gelişmiş ülkelerde 2005 ve gelişmekte olan ülkelerde ise 2015 yılına kadar kullanımdan kaldırılması planlanmıştır (UNEP, 1995). Ancak *P. interpunctella*'nın zarar yaptığı ürünlerin hemen hemen hepsi insanlar tarafından tüketilen gıdalar olması açısından zararlıının bulunduğu ortama kimyasal insektisit uygulanması ya da çevresel yan etkilerden dolayı fumigasyon oldukça zor ve sınırlıdır. Ayrıca kuru meyve güvesinin insektisitlere direnç gösterdiği de kanıtlanmıştır (Attia, 1977). Bu nedenle bu tür zararlılar için çevreye ve hedef dışı organizmalara yan etkisi olmayan mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi kaçınılmaz olmuştur. Bu amaç doğrultusunda zararlıının neden olduğu ekonomik kaybı azaltmak ve popülasyonundaki artışı aşağıya çekmek için birçok alternatif mücadele yöntemi denenmiştir (Malone ve Canning, 1982; Tunç ve ark., 2000; Ayvaz ve ark., 2008, 2010).

Kuru meyve güvesi ile mücadele amaçlı en ümit vaadedici sonuçlar bu zararlıının doğal düşmanlarının kullanıldığı çalışmalardan elde edilmiştir (Schöller ve Filinn, 2000; Grieshop, 2005; Shojaaddini ve ark., 2012). Zararlıının doğal düşmanları arasında hem konak seçiciliği ve hem de etki mekanizması açısından öne çıkan organizmalar biyolojik mücadele kullanılan entomopatojenler gelmektedir. Böceklerin hastalanmasına ve ölümüne neden olan bu organizmalara genel olarak entomopatojenler denir. Virüsler, bakteriler, protistler, mantarlar ve nematodlar biyolojik mücadelede kullanılan entomopatojenleri teşkil etmektedirler (Yaman, 2012). Böceklerde hastalıklara neden olan entomopatojenler özelleşmiş doğal düşmanlar olarak kabul edilir. Entomopatojenler zararlı böceğin beslenme ve büyüme oranını azaltabilir, üremelerini yavaşlatabilir veya engelleyebilir ya da onları öldürebilirler. Bu organizmaların neden olduğu hastalıklar, belirli koşullar altında, özellikle böcek yoğunluğu yüksek olduğunda, böcek popülasyonunda doğal bir şekilde çoğalabilir ve yayılabilirler. Entomopatojenlerin neden olduğu tabii hastalık olayları böcek popülasyonlarında temel ölüm faktörü olduğu halde önemsiz gözüken böcek hastalıklarının araştırılmasına ve etkilerinin arttırılmasına yönelik pratik uygulamaların teşvik edilmesinde ve zararlıların kontrolü için tabii olarak gerçekleşen

infeksiyonlardan faydalanmada çok az gelişmeler sağlanmıştır. Zararlıların kontrolü için entomopatojenlerin en pratik kullanımı, onların zararlının kendisinden izole edilmeleri ve suni ortamlarda kültürlerinin hazırlanmasını ve daha sonra uygun bir yerde ve zamanda çevreye dengeli miktarlarda sunulmasını içerir (Yaman, 2012). Kullanılan mikroorganizmalar zararlıya özgü olduğu için yalnızca o canlıyı etkiler. Ancak belirli bir zararlıyla mücadelede uygun entomopajenin seçiminde, organizmanın zararlının doğal popülasyonlarında hastalık oluşturması ve doğrudan zararlıdan izole edilerek geliştirilmesi, uygulama aşamasında entomopatojen-zararlı konak ilişkisi açısından önem arzeder. Kuru meyve güvesinin doğal popülasyonlarından entomopatojen tespitine ve bu zararlıya karşı kullanımına yönelik çalışmalar protistler içerisinde yer alan mikrosporidialar ile sınırlı kalmıştır (Malone ve Canning, 1982). Yapılan bazı entomopatojenik çalışmalar ise laboratuvar denemeleri şeklinde kalmıştır (Johnson ve ark., 1990; Herrero ve ark., 2004; Büda ve Peculyte 2008). Bütün bu nedenlerden dolayı kuru meyve güvesi üzerinde test edilmiş bilinen entomopajenik preparatlardan farklı, zararlının doğal popülasyonlarına ait ve ülkemizin yerel zenginliği olabilecek entomopatojenlerin araştırılması, en etkili mücadele etmenini bulma açısından büyük önem arz etmektedir. Yaman ve ark., (2016) proje ön çalışmalarında bu zararlıya ait ülkemiz için ilk protist patojeni olan bir mikrosporidyum tespit etmişlerdir. Yine Yaman ve ark., (2015) ülkemizde yaygın bulunan diğer bir depo zararlısı *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)'dan dünya için yeni ve ilk baculovirüs tanımlamışlardır. Baculovirüsler zararlı böcekler ile biyolojik mücadelede en yaygın kullanılan ve en seçici konak hassasiyetine sahip, etkisi en yüksek biyolojik pestisitler olarak üretilmekte ve ticari olarak satılmaktadır. Depo zararlıları üzerine bu iki çalışma ülkemizde bu zararlılardan farklı gruplara ait orijini bakteri, virus, fungus ve protist olan ve insektisidal etkileri yüksek yerli izolatların ya da yeni türlerin bulunabileceğini göstermektedir. Bu nedenle ülkemizde bu tür çalışmalara hız kazandırılmalı, yerli, yüksek insektisidal etki gösteren türlerin bulunması, bulunanların ise literatür bilgisi şeklinde kalmadan pratik kullanıma kazandırılması gerekmektedir.

Bu tez çalışmasında , proje ön çalışması ile bir türün varlığı tespit edilen entomopatojenlerin farklı bilinen yada yeni türlerinin, bu zararlının farklı popülasyonlarındaki dağılımlarının ve çeşitliliğinin belirlenmesi, karakterizasyonlarının yapılması, yeni ekolojik pestisitlerin geliştirilmesi, hem tespit

edilen entomopatojenlerin hem de geliştirilebilecek ekolojik pestisitlerin zararlı üzerindeki insektisidal etkilerinin hem ayrı ayrı hem de birlikte farklı kombinasyonlarının laboratuvar ve depo uygulamaları şeklinde belirlenmesi, etkili olan entomopatojenleri içeren pratikte kullanılabilecek prototip bir mücadele aracının geliştirilerek patent yada faydalı ürün modeli elde edilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Ülkemizde son yıllarda büyük ilgi gören ve çalışmaların yoğunlaştığı entomopatojenlere yönelik çalışmalar belli bir seviyeye ulaşmakla birlikte ağırlıklı olarak belirlenen patojenlerin tür tespitlerinin yapılarak biyolojik zenginliğimize katılması şeklinde sınırlı bir katkıya sahiptir. Gelişmiş ülkelerde 100 yıldan fazladır kullanılan bu çevreci yöntem için, ülkemizde de pratik kullanıma yönelik ürün geliştirme çalışmaları hız kazanmalıdır. İzole edilen ve tanımlanan entomopatojen ne kadar yeni tür olursa olsun, zararlılar ile mücadelede pratik kullanıma sunulmadığı müddetçe önem arzetmeyecek, yaygın etkisi olmayacaktır. Bu projenin bu bölümünde hem beş farklı lokalitede tespit edilecek etkili entomopatojenlerin hemde laboratuvar stoklarımızda mevcut ve etkinliği kanıtlanmış entomopatojenlerin kuru meyve zararlısı ile pratikte kullanımına imkân verecek bir prototip modelin geliştirilmesi planlanmaktadır. *P. interpunctella* hem kuru meyvelerin ve hem de depolanmış hububat ve mamüllerinin en önemli zararlılarından biridir. Gerek *P. interpunctella* ve gerekse diğer depolanmış ürün zararlıları bulaştıkları gıda ürünlerine doğrudan ya da dolaylı bir şekilde zarar vermektedirler. Zarar yaptığı ürünlerin hemen hemen hepsi insanlar tarafından tüketilen gıdalar olması açısından zararının bulunduğu ortama kimyasal insektisit uygulanması oldukça zor ve sınırlıdır. Bu durum bilim insanlarını farklı sorulara ve çözüm yollarına yöneltmektedir. Dünyada ve ülkemizde depolanmış ürün zararlıları ile yaygın olarak kimyasal mücadele yöntemi tercih edilmekte olup fumigasyon uygulamaları yapılmaktadır. Gıda ürünlerinde zararlı olan organizmaların zehirli gaz kullanımı yoluyla öldürülmesi anlamına gelen fumigasyon uygulamalarında sıklıkla tercih edilen fumigantlar metil bromit (MeBr) ve fosfin (PH₃)'dir. Türkiye'de ilk defa 1987 yılında ruhsatlandırılan metil bromidin, aynı yıl 160 ülkenin katılımı ile imzalanan ve ülkemizin de 1991 yılında taraf olduğu Montreal Protokolü gereğince, ozon tabakasını inceltici özelliğe sahip olması ve ürünlerde brom (Br) kalıntısı nedeniyle zirai karantina ve taşıma öncesi kullanımlar dışında,

kullanımının ve ithalatının kademeli olarak azaltılması kararı benimsenmiştir (T.C. Resmî Gazete 2000, 2004). Mevcut uygulamaya ülkemizde 2004 yılında başlanmıştır (Ferizli ve Emekçi 2014). Metil bromidin, hali hazırda gelişmiş ülkelerde 2005 ve gelişmekte olan ülkelerde ise 2015 yılına kadar kullanımdan kaldırılması planlanmıştır (UNEP, 1995). Fumigasyonun, bulaşık ürüne doğrudan uygulanabilmesi, ürünün her yerinde ve zararlıların tüm yaşam aşamalarında etkili olması, kısa sürede kesin sonuç ve geniş çaplı uygulamalara olanak vermesi ve diğer mücadele yöntemlerine göre daha az girdi ve iş gücü gerektirmesi ilk bakışta avantaj gibi görünmektedir. Fakat kullanılan fumigantların zamanla zararlıların direnç mekanizmalarını geliştirmeleri ve daha önce belirtildiği üzere ozon tabakasını inceltme potansiyeline sahip olmaları, besinlerde kalıntı oluşturabilmeleri ve insan sağlığı açısından da önemli riskler taşımaları birçok bilim adamı ve devlet çalışanını diğer alternatif mücadele yöntemleri üzerinde yoğunlaştırmaktadır. Söz konusu mücadele yöntemlerinin insan sağlığı, argoekosistem, çevre ve biyolojik dengenin korunarak sürdürülmesini desteklemeleri bir zorunluluktur. Bu amaçla son yıllarda biyolojik mücadele yöntemleri önem kazanmıştır. Biyolojik mücadele yöntemlerinde zararlı böcek üzerinde doğal hastalık oluşturan etmenler ilgi odağı olmuştur. *P. interpunctella*'nın yönetimi *P. interpunctella* ve diğer depolanan ürün zararlılarının yönetimi, insektisit bazlı bir sistemden daha entegre bir yaklaşıma doğru hızlı bir değişimden geçmektedir (Arthur ve Phillips, 2003; White, 1992; White ve Leesch, 1996). Federal İnsektisit, Fungisit ve Rodentisit Yasasında (FIFRA) yapılan değişiklikler.

1996'da Gıda Kalitesini Koruma Yasası'nın (FQPA) kabul edilmesi, ABD Çevre Koruma Ajansı'nı şu anda kayıtlı olan tüm pestisitleri yeniden değerlendirmekle görevlendirdi. Bazı organofosfat ve karbamat insektisitler hasat sonrası piyasadan kaldırılırken bazıları da kaldırılma tehdidi altındadır. Ayrıca, *P. interpunctella*, organofosfat malation'a ve diğer bazı organofosfatlara karşı direnç geliştirmiştir (Attia, 1977, 1981; Zettler ve ark., 1973, 1989; Zettler, 1982; Arthur ve ark., 1988; Sumner ve ark., 1988; Schaafsma, 1990; Subramanyam ve Hagstrum, 1996; Arthur ve Phillips, 2003). *P. interpunctella* da gelişmiştir. Laboratuvar seçim çalışmalarında mikrobiyal insektisit *Bacillus thuringiensis* Berliner'e direnç, (Johnson ve ark., 1990; Van-Rie ve ark., 1990; McGaughey ve Johnson, 1992; Subramanyam ve Hagstrum, 1996; Herrero ve ark., 2001), ancak alan direncine dair doğrudan bir kanıt yoktur. Fumigasyon önemli bir yönetim seçeneğidir ve tahıl silolarında, asansörlerde, ambarlarda ve diğer

toplu tahıl depolama yapılarında *P. interpunctella*'nın tüm aşamalarını kontrol edin. Bazı *P. interpunctella* türleri, fosfine karşı düşük seviyelerde direnç geliştirmiştir (Chaudhry, 1997; Zettler, 1982; Zettler ve ark., 1989), ancak bu düşük direnç seviyelerinin kontrol başarısızlıkları üzerindeki etkisi bilinmemektedir. Muhtemelen genel olarak depolanmış ürün entomolojisindeki araştırmacıların devam eden düşüşünden ve kullanılabilecek sınırlı sayıda insektisit olduğunda direnç araştırmalarının çok az pratik uygulamaya sahip olabileceği görüşünden dolayı. Depolanmış ürün haşere yönetiminde yaygın olarak kullanılan diğer bir fumigant olan metil bromür, uluslararası bir anlaşma olan Montreal Protokolü'nün bir sonucu olarak çoğu gelişmiş ülkede kullanımdan kaldırılmaktadır (Anonim, 2004). Toplu depolama ve öğütme ve işleme tesislerinde (Alternatif veya entegre kontrol yöntemleri, fumigantların ikamesi veya takviyesi olarak savunulmaktadır (Arthur, 1996; Dunkel ve Sears, 1998; Kawakami, 1999; Toshiyuki ve ark., 1999; Mbata ve Phillips, 2001; Mueller, 2001; Arthur ve Phillips, 2003). Sanitasyon, iyileştirilmiş izleme ve gözetim, yüzey böcek öldürücü işlemler, çatlak ve yarık tedavileri, inert tozlar, değiştirilmiş atmosferler ve ısıt işlemlerin tümü, *P. interpunctella* ve diğer depolanmış ürün böcekler için kontrol olarak belirtilmektedir (Arthur ve Phillips, 2003). Sanitasyon, depolanan ürün ortamlarında böcek popülasyonunun büyümesi üzerinde bir etkiye sahip olarak algılanmaktadır (Loschiavo ve Okumura, 1979; Platt ve ark., 1998) ve artık böcek ilaçlarının etkinliğini artırabilir (Arthur ve Phillips, 2003). *P. interpunctella* larvaları paketlenmiş gıdaları istila edebilir (Tsuji, 1998, 2000) ve böceklere dayanıklı paketlenme, larva evrelerinin girişini ve yetişkinlerin yumurtlamasını önleyebilir (şekil 2.1) (Mullen, 1994; Mullen ve Mowery, 2003; Sato ve ark., 2003).



Şekil 2.1 *Plodia interpunctella* Larvalarının Beslenmesi Sonucu Paketlerde Meydana Gelen Hasarlar

Larvalar, değiştirilmiş atmosferlerin kullanımı nedeniyle düşük oksijen koşullarına karşı hassastır, ancak bu koşullar altında 6 güne kadar hayatta kalır (Locatelli ve ark., 2002). Düzenleme uzun yıllardır önemli bir seçenek olmuştur (Phillips, 1997; Jones, 1998; Phillips ve ark, 2000b; Cox, 2004). Semiokimyasallar genellikle depolanan ürün zararlılarını izlemek için seks feromon yemleri şeklinde kullanılır, ancak böcek popülasyonlarını kontrol etmek için daha geniş bir potansiyele sahiptirler. Semiokimyasallar kütle için kullanılabilir yakalama, çekme ve öldürme, çiftleşmeyi engelleme, kovucu olarak ve belirli davranışsal uyarıcılar veya caydırıcılar olarak (Cox, 2004). Kimyasal cezbediciler (Toth ve ark., 2002), iticiler (Khan, 1981, 1983), çiftleşmeyi engelleyenler ve cinsiyet uyarıcılar (Brady ve ark., 1971; Ryne ve ark, 2001; Fadamiro ve Baker, 2002; Nansen ve Phillips, 2003, 2004) için *P. interpunctella* araştırma çalışmalarında değerlendirilmiştir ancak yaygın ticari kullanım almamaktadır. Biyolojik kontrol, dökme tahılda ve öğütme ve işleme tesislerinde *P. interpunctella*'nın kontrolü için başka bir olasılıktır (Brower ve ark, 1996; Schöller ve ark, 1997; Schöller ve Flinn, 2000). Yırtıcı böcekler ve hymenopteran ile laboratuvar ve saha denemeleri yapılmıştır. (Schöller ve Flinn, 2000). Habrabracon (Bracon) hebetor (Say) ile *P. interpunctella* ve diğer piralid

güvelerinin etkili saha kontrolü sağlanmıştır (Cline ve Press, 1990; Cline ve ark, 1984; Press ve ark, 1982). Varlığını ve bolluğunu gösteren birçok çalışma vardır depolama tesislerinde ve çevresinde *P. interpunctella* parazitleri ve yırtıcıları (Johnson ve ark, 2000). Pek çok lepidopteran haşerenin yumurta parazitleri olan *Trichogramma* cinsinin yaban arıları da *P. interpunctella*'nın kontrolü için değerlendirilmiştir (Brower, 1990; Schöller ve Flinn, 2000; Grieshop, 2005). Düşük sıcaklıkta depolama ve depolama tesislerinin ısıtılması, *P. interpunctella*'yı kontrol etme potansiyeline sahiptir (Fields, 1992). 10 °C'de yetişkin güveler üzerinde bir stres oluşur ve yetişkin ölümlerinde artışa neden olur; hayatta kalan yetişkinlerde yumurta üretimi azaldı ve yumurtlanan yumurtalar daha düşük yaşayabilirlik (Johnson ve ark, 1997). Bir günlük *P. interpunctella* yumurtaları, ısıtılma (42–48 °C) karşı 2 veya 3 günlük yumurtalara göre daha toleranslıdır, oysa düşük sıcaklıklarda (0–10,5 °C) daha yaşlı yumurtalar daha dayanıklıdır ve ölmek daha uzun sürdü (Lewthwaite ve ark, 1998). Bir pilot yem fabrikasında ısıtılma işlemi, farklı depolanmış ürün böcek popülasyonlarını ortadan kaldırdı, ancak *P. interpunctella* popülasyonu birkaç hafta sonra kademeli olarak arttı (Roesli ve ark, 2003). *P. interpunctella* sayılarındaki bu kademeli artış, *P. interpunctella*'nın dışarıdan göç etmesinden kaynaklanmış olabilir (Doud ve Phillips, 2000). Isı ve soğuk işlemler (Johnson ve Wofford, 1991; Johnson ve ark, 1997) diğer kontrollerle kombinasyon halinde kullanılabilir, değiştirilmiş atmosferler veya bir granüloz virüsünün uygulanması gibi yöntemler (Johnson ve ark, 2002). Depolanan ürün zararlılarının yönetimi, sürekli kontrolün sağlanması için uzaysal-zamansal dağılımlarının izlenmesine dayalı olarak yaygın şekilde tavsiye edilir. Bu tür yönetim uygulamaları, direncin yavaşlatılmasına da yardımcı olabilir. Şu anda test edilmekte olan çeşitli yeni kimyasallara *P. interpunctella* tarafından geliştirme (Arbogast ve ark, 2002; Trematerra ve Sciarretta, 2004). *P. interpunctella*'nın mekansal dağılımına ilişkin çalışmaların çoğu, feromon yemli tuzak avlarına dayanmaktadır. Bu tür çalışmalarda, gerçek kaynaklar dan çok uzağa yerleştirilmiş olsalar bile, tuzakların yüksek sayıda yetişkin kaydetme şansı vardır.

Beşinci dönemlerin bir pupa yeri aramak için gezinme davranışından ve ayrıca yetişkin güvelerin dağılıma davranışlarından dolayı istila. Ayrıca, belirli bir süre boyunca *P. interpunctella* sayılarındaki değişim, kullanılan örnekleme yönteminin türü ile ilgilidir (Hagstrum, 2000). Bu durumlarda, yönetim uygulamaları tamamen bu tür mekansal dağılım verilerine dayandığında, istenen sonuçları vermeyebilirler.

Bununla birlikte, ilgili tuzak yakalama sayıları veya gösterge niteliğindeki tuzak sayıları, yönetim kararlarının verilmesinde bir rehber olarak kullanılabilir (Arbogast ve Mankin, 1999; Arbogast ve ark, 2000). Gıda yemi tuzakları bazen belirlemek için feromon yemli tuzaklarla birlikte kullanılır. *P. interpunctella*'nın dağılımı (Cox, 2004; Trematerra ve Sciarretta, 2004). *P. interpunctella* da dahil olmak üzere çeşitli depolanmış ürün böceklerini kontrol etmek için doğal ürünlerin kullanılması, kimyasal işlemlere ve fümigasyona bir alternatiftir (Arthur, 1996). Doğal bir inert toz olan iki atomlu toprak (DE) ve doğal olarak türetilmiş bir insektisit olan Spinosad, *P. interpunctella* üzerindeki çeşitli kontrol yöntemlerinin etkilerinin kantitatif testlerini yapmak ve bunların etkilerini değerlendirmek için iki tanelidir etkililik emek yoğun ve zaman alıcı olabilir. Bununla birlikte, *P. interpunctella*'nın bu tür yönetim uygulamaları nedeniyle ölüm oranı, gelişme süresinin uzaması ve yavru üretiminin azalması gibi bazı temel bilgiler elde edildiğinde, *P. interpunctella*'nın popülasyon dinamiğinin simülasyon modellemesi sağlama potansiyeline sahiptir. Bu yönetim yöntemlerinin çoğu için tek başına veya kombinasyon halinde güçlü test platformu birbirleriyle (Throne, 1996).

Literatüre bakıldığında görülecektir ki, kuru meyve güvesi üzerine entomopatojenik çalışmalar sınırlı olup, mevcut çalışmalar zararlıya ait tek bir popülasyonda tek bir patojenin izolasyonu ve karakterizasyonu ya da ticari bir preperatın laboratuvar koşullarında denenmesi şeklindedir. Proje önerisi, önemli bir depo zararlısı olan kuru meyve güvesinin, Türkiye gibi geniş ve farklı iklim koşullarına sahip bir coğrafyada birbirinden farklı coğrafik özelliklere sahip beş bölgeden yapılacak örneklemeler ile bakteri, virüs, fungus ve protist orjinli dört farklı entomopatojen grubuna ait organizmaların izolasyonunu ve karakterizasyonunu içermektedir. Bu nedenle elde edilebilecek hem entomopatojen tür sayısı ve çeşitliliği hemde yüksek inzektisidal etki gösteren yerli coğrafik izolatların ya da yeni türlerin tespit edilme imkânı oldukça yüksektir. Karakterize edilen her bir organizma sadece ülkemiz için değil dünya literatürü için yeni bilgiler olacaktır. Tez çalışması, kuru meyve güvesinin farklı popülasyonlarda mevcut entomopatojenlerin üç yıllık bir sürede, popülasyonlardaki varlığı, dağılımı, enfeksiyon oranları ve çeşitliliğini belirleyerek, zararlının doğal koşullarındaki popülasyonlarının doğal baskılayıcı faktörü olan entomopatojenlerin belirleneceği ilk çalışma olacaktır. Dünya

literatüründe bu tür bir çalışma sadece kuru meyve güvesi için değil, diğer depo zararlıları içinde henüz yapılmamıştır, bu nedenle ilk ve yeni bulgular sunulabilmektedir.

Ülkemizde kuru meyve güvesinin yaygın olarak bulunduğu bölgelerdeki entomopatojenik organizmalarının bir dökümü yapılarak liste oluşturulabilmektedir. Elde edilecek entomopatojen dökümü tezin ana amacı olan biyolojik mücadeleye katkı sağlaması yanında, deneysel ya da parazitoid üretimi amaçlı bu tür böcekleri kullananlar içinde katkı sağlayacaktır. Deneysel ya da parazitoid üretimi için depo zararlısı güvelerin kullanımında en temel amaç sağlıklı ve çok sayıda üretim yapabilmektedir. Ancak eldeki mevcut kültürlerde bulunan entomopatojenler bu böceklerin sağlıklı bireyler içeren kütle üretimini sınırlamaktadır. Enfeksiyon taşımayan bireylerin üretimi her zaman arzulanan bir durumdur. Bu duruma en güzel örnek ise, ülkemizin büyük bir üniversitesinin böcek üretim laboratuvarlarından temin edilen *Ephestia kuehniella* larvalarında dünya için ilk ve yeni bir organizma olarak kaydedilen entomopatojenik bir bakulovirüsün bulunmasıdır (Yaman vd., 2015). Bu nedenle geniş dağılım içeren farklı popülasyonlardaki entomopatojenlerin bir dökümünün çıkartılması ayrı bir özgün değer olarak dikkate alınmalıdır. Tez çalışmasının, ülkemize ait ve zararlının kendi popülasyonlarından elde edilecek entomopatojenlerin laboratuvar koşullarında insektisidal etkilerinin belirleneceği bir çalışma olması açısından da özgün bir değere sahiptir. Bunun yanı sıra yine ülkemiz sınırları içerisinde izole edilmiş ve farklı böcekler üzerinde etkinlikleri denemiş, bakteri ve fungus orijinli entomopatojenler ilk kez bu çalışmada kuru meyve güvesine karşı denenerek, yüksek insektisidal etki gösteren türler belirlenecektir. Kuru meyve güvesinin doğrudan besinler üzerinde ya da içerisinde beslenmesinden dolayı bu zararlıya karşı kimyasal insektisit kullanımı sınırlı kalmaktadır. Hatta her ne kadar yan etkisi olmayan entomopatojenik organizmalar bile kullanılmış olsa, doğrudan gıda üzerine uygulanması, hem ambalajlanmış ürünlerde imkânsız olması hemde ambalajsız ürünlerde psikolojik ve hijyenik nedenlerden dolayı kabul edilebilir olmaması zararlıyla mücadeleyi zorlaştırmaktadır. Tez önerisinde depolanmış bir ürüne doğrudan bir uygulama içermeyen, zararlının kolaylıkla tercih edebileceği ve çevreye yan etkisi olmayan entomopatojenler içeren tuzak yem modellemesi şeklinde prototip mücadele araçlarının geliştirilmesi mümkün olabilmektedir. Bu tür bir yaklaşım, depo zararlıları üzerine dünya literatürü için ilk olma özelliğinde olup, yüksek bir özgün değere sahiptir. *P. Interpunctella* ile Nematodlar ve parazitoidler arasındaki

etkileşim, antagonistik değildir, ancak muhtemelen aditif veya sinerjistik olabilir. Parazitoidlerin salınması veya tek başına nematod uygulaması, *P. interpunctella* larvalarında %62,25 ile %71,25 arasında ölüm oranı oluştururken, ikisinin kombinasyonu %98,0-99,25 oranında ölümle sonuçlanmıştır (Mbata, ve ark., 2010).

Kuru meyve güvesi *P. interpunctella*, dünya çapında ekonomik açıdan önemli bir larval zararlıdır, parazitoit, *Habrobracon hebetor* ve *Venturia canescens*, küçük *P. interpunctella* popülasyonlarını baskılamak için laboratuvar koşullarında çalışıldı. Çeşitli sayıda *H. hebetor* ve *V. canescens* tek başına veya kombinasyon halinde, bir veya iki kez salındı, %50 ile %80 arasında önemli ölçüde farklılık göstermeyen ölüm oranlarına yol açtı. Biyolojik kontrolde uygulama için verilerimiz, kombinasyonun en az *H. hebetor*'un tek başına salınması kadar etkili olabileceğini gösterdi (CharlesAdarkwah and MatthiasSchöller, 2012)

Bu böceğe yönelik kontrol önlemleri şunları içermektedir: baş boşluğuna, duvarlara ve tahıl yüzeyine uygulanan aerosollerin ve kalıntı spreylerin kullanımı. Çoğu durumda, istila edilmiş mallar fümigasyona tabi tutulur. Her durumda, bu tür kimyasal işlemler toksik kalıntı oluşturmeyen malzemelerle sınırlandırılmalıdır. Etkili bir biyolojik kontrol ajanı geliştirilebilirse, kimyasal kalıntı sorunu ortadan kalkar. Steinhaus ve Bell (1953), orijinal olarak 1911'de Berliner tarafından Akdeniz un güvesi *Anagasta kühniella*'nın (Zell) hastalıklı bir larvasından izole edilen gram-pozitif spor oluşturan bir bakteri olan *B. thuringiensis* Berliner de dahil olmak üzere depolanmış tahıl böceklerine karşı bir dizi mikroorganizmayı test etti). Araştırılan organizmalardan *B. thuringiensis*, her ikisi de *Sitophilus granarius* (L.) ve *S. oryza* (L.) için önemli patojenite göstermiştir. Bu yazarlar, depolanmış tahıl böceklerinin, özellikle de depolanmış tahılda karşılaşılan lepidopterous böceklerin olası kontrolü için bu organizma ile daha fazla araştırma yapılmasını önerdiler. Aynı çalışmada, Angoumois tahıl güvesi (*Sitotroga grainella* (Oliv.)) *B. thuringiensis*'e duyarlılık gösterdi ve Steinhaus ve Bell'e (1953) göre Berliner (1927), bu basilin sporlarının hayvanlara dahil edilmesini önerdi. Kontrol etmek için öğütme işleminden önce tahıl Akdeniz un güvesi Steinhaus (1951) bunu buldu organizma, yıkıcı bir popülasyonu azaltma yeteneğine sahipti. Yonca tırtıllarının tarlada ekonomik olmadığı bir noktaya kadar hasar meydana geldi. Ön laboratuvar testleri, larvaların kuru meyve güvesi, *B. thuringiensis* olduğunda çok duyarlıydı. Sporlar kültür ortamına dahil edildi. Bu malzemenin nasıl bir etkiye sahip olacağını belirlemek için tasarlanmıştır.

2.1 Kuru Meyve Zararlıları

Kuru meyvelerde sorun olan bazı zararlı böcekler aşağıda verilmiştir;

Ekşilik Böcekleri	[<i>Carpophilus</i> spp.	(Coleoptera: Nitidulidae)]
Testereli Böcek	[<i>Oryzaephilus surinamensis</i> (L.)	(Coleoptera: Cucujidae)]
Kuru Meyve Akarı	[<i>Carpoglyphus lactis</i> (L.)	(Acarina: Carpoglyphidae)]
İç Fındık Güvesi	[<i>Paralipsa gularis</i> (Zell.)	(Lepidoptera: Galleridae)]
Kuru Üzüm Güvesi	[<i>Ephestia figuliella</i> (Greg.)	(Lepidoptera: Pyralidae)]
Kuru İncir Güvesi	[<i>Ephestia cautella</i> (Walk.)	(Lepidoptera: Pyralidae)]
Kuru Meyve Güvesi	[<i>Plodia interpunctella</i> (Hübner)	(Lepidoptera: Pyralidae)]

P. interpunctella (Hübner) kuru meyve zararlısı olmasının yanı sıra aynı zamanda depolanmış hububat ve mamüllerinin zararlıları listesinde de yer almaktadır (Tagem 2008).

2.2 *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae)'nın Sınıflandırılması

Kingdom Animalia (Animals)

Phylum Arthropoda (Arthropods)

Subphylum Hexapoda (Hexapods)

Class Insecta (Insects)

Order Lepidoptera (Butterflies and Moths)

Superfamily Pyraloidea (Pyralid and Crambid Snout Moths)

Family Pyralidae (Pyralid Moths)

Subfamily Phycitinae

Tribe Phycitini

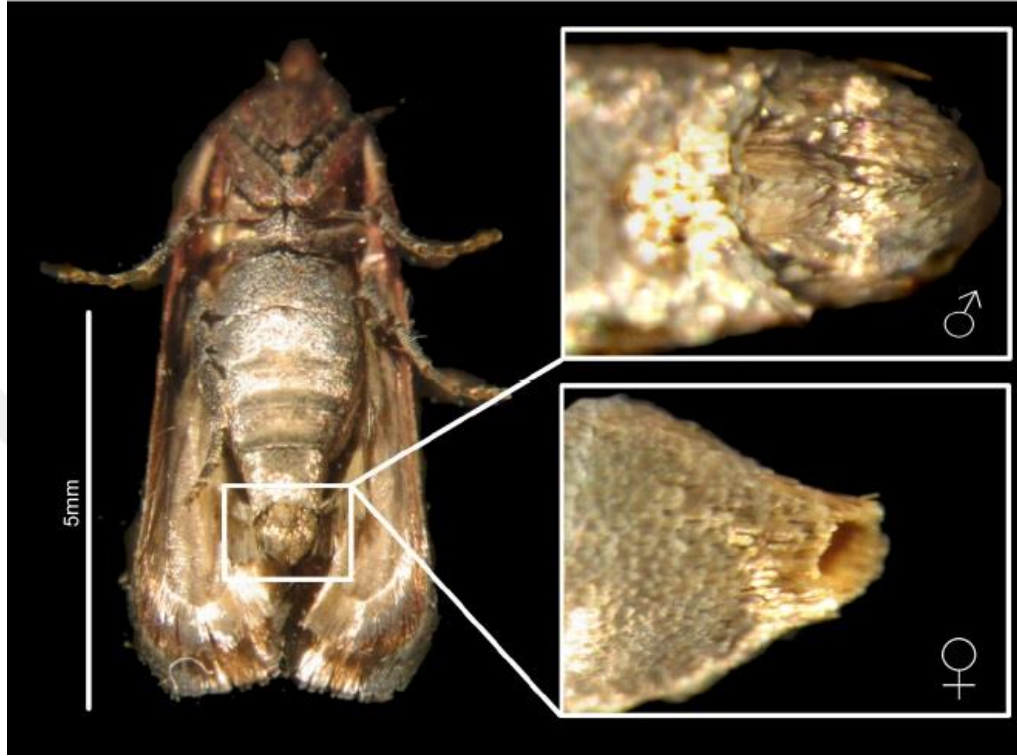
Genus *Plodia*

Species *Plodia interpunctella* (Indian Meal Moth)

2.2.1 *Plodia interpunctella*'nın Tanımı ve Biyolojisi

Plodia interpunctella, Phycitinae alt familyasından piralid bir güvedir. Depolanmış ürün böceklerle çalışan çoğu araştırmacı ve çalışan, bu incelemede yaşam evrelerinin ayrıntılı tasvirlerine ihtiyaç duyulmayacak kadar türlere yeterince aşinadır. Tüm yaşam evrelerinin genel bir açıklaması ilk olarak Hamlin ve arkadaşları

tarafından verildi. (1931) ve daha yeni birkaç özet ve açıklama var (Rees, 2004). Larvaların, pupaların ve yetişkinlerin ayrıntılı morfolojik tanımları Richards ve Thomson'da (1932) ve Hinton'da (1943) verilmiş ve Heinrich (1956) yetişkin kanat damarlarını ve cinsiyetlerin cinsel organlarını tanımlamıştır (Şekil 2.2).



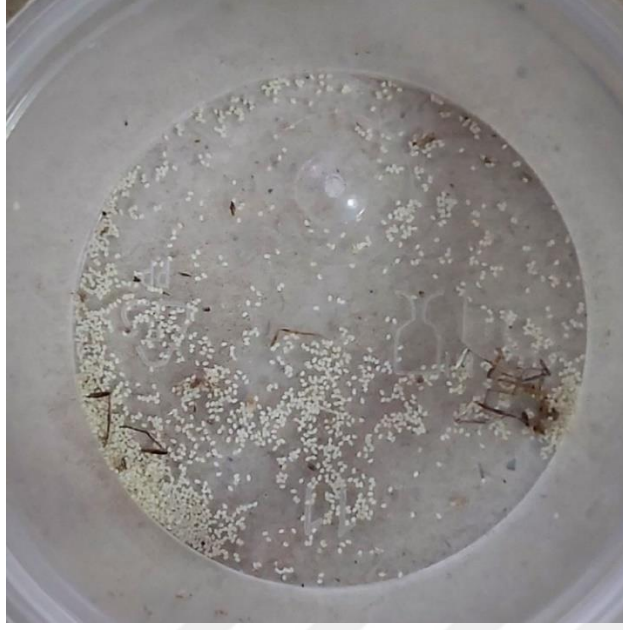
Şekil 2.2 Erişkin Kuru Meyve Güvesi, Erkek ve Dişi Dış Genital Yapıları Arasında Kolayca Ayırt Edilebilen Farklılıklar Gösterir (Baxter, 2008)

P. interpunctella'nın beş larva dönemi vardır (Allotey ve Goswami, 1990). Arbogast ve ark., 1980), *P. interpunctella*'nın yumurtalarını küçük, yuvarlak çıkıntılı ve belirgin karinalı olarak tanımlar ve yumurtaları diğer ortak depolanmış ürün böceklerin yumurtalarından ayırmak için bir anahtar vermişlerdir. *P. interpunctella*'daki yumurtlama davranışı gıda kokusundan etkilenir (Phillips ve Strand, 1994) ve yumurtalar gıda yüzeyinin üzerine veya yakınına bırakılır ve genellikle bir şekilde uzamsal olarak kümelenir (Şekil 2.3) (Mullen ve Arbogast, 1977; Arbogast ve Mullen, 1978). Deseo (1976), *P. interpunctella*'nın doğurganlığının gıda kokusu ile arttığını ve yumurtalar koku kaynağının yakınına gruplar halinde serildiğini rapor etmişlerdir. Yetişkin *P. interpunctella*'nın yumurtlama bölgelerine yönelimi, birincil konakçıdan türetilen veya ikincil türdeş-böcekten türetilen kimyasal ipuçlarına dayanabilir. Phillips ve Strand (1994), yetişkin *P. interpunctella*'nın yiyecek kokularına yöneldiğini ve yiyecek içermeyenlere göre yiyecek içeren yüzeylere daha

fazla yumurta bıraktığını ve aynı türden larva içeren tabaklara daha fazla salgılar bıraktığını bulmuşlardır. Erginler, gıdaya ambalaj veya diğer engeller nedeniyle ulaşamadığında veya gıda kokuları zayıf olduğunda, gıda yüzeyinin yakınına yumurtalarını bırakabilirler (Silhacek ve ark., 2003). Yağların varlığı ayrıca *P. interpunctella*'nın yumurtlamasında bir artışa yol açabilir (Nansen ve Phillips, 2003). *P. interpunctella*'nın doğurganlığı büyük ölçüde farklılık gösterir bir çalışmadan diğerine değişir ve yiyecek türü, dışının büyüklüğü, tedarik gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. İçme suyu ve dışının fizyolojik durumu güveler (Mbata, 1985). Diğer biyolojik parametrelerde olduğu gibi *P. interpunctella* için, aralarında önemli farklılıklar vardır. Doğurganlık ile ilgili laboratuvar çalışmaları gösteriyor ki; Mbata (1985) maksimum doğurganlığın 30 °C'de meydana geldiğini, Bell (1975) başarılı üremeyi belgeliyor, ancak maksimum değil 31°C'de doğurganlık olduğunu ve Johnson ve ark. (1992, 1995) kısmen yetiştirme diyetine bağlı olarak 31 °C 'ye kadar yumurtlama olduğunu tespit etmişlerdir. Çevresel günlük döngüler ve sirkadiyen ritimler, görünüşe göre, diğer piralid güvesi türlerinin aksine, *P. interpunctella*'da yumurtlama üzerinde çok az etkiye sahiptir (Bell, 1981). Besin kaynağı, doğurganlığı ve diğer biyolojik parametreleri belirlemek için açıkça önemli bir faktördür (Allotey ve Goswami (1990). Genç larvalar ceviz, badem ve buğday kepeği üzerinde yetiştirildiğinde sırasıyla 258, 275 ve 280 olan ortalama doğurganlıklardan çok daha düşük olan buğdayda 96.8 ve kırık mısırdaki 174.2 ortalama doğurganlık kaydetmişlerdir (Johnson ve ark, 1992). laboratuvar deneylerinde, yumurtadan çıkma yüzdesi, yetiştirme için kullanılan ürünün türüne göre de değişir; daha genç aşamalar Antep fıstığı ve bademde yumurtadan çıkma oranı sırasıyla %88 ve %96 iken (Johnson ve ark, 1992), genç evreleri farklı ürünlerle yetiştirilen yetişkinlerden çıkan yumurtaların oranı %98,6'ya kadar çıkmıştır (Allotey ve Goswami, 1990). Yumurtadan yeni çıkmış larvalar yiyecek bulmak için hızla dağılır (Sedlacek ve ark, 1996) (Şekil 2.4) ve ilk dönemler, 0.39-0.45 mm çapındaki iğne deliklerinden yiyecek içeren kutuları istila edebilir (Tsuji, 1998, 2000). Besin kaynağından uzaklaştıkça istila azalır, ancak besin kaynağı çıkış noktasından 38 cm'ye kadar yerleştirildiğinde bile larvaların büyük bir kısmı besinin içinde bulunduğu tespit edilmiştir. Sıcaklığa ek olarak (Bell, 1975), emtianın veya gıda maddesinin türü, *P. interpunctella*'nın yaşam döngüsünü tamamlaması için gereken süreyi büyük ölçüde etkilediğini (Williams, 1964; Mbata ve Osuji, 1983; Subramanyam ve Hagstrum, 1993; Johnson ve ark., 1995)

ve 20 ve 25°C'de; %70 bağıl nem, buğday yemi, maya ve kepek diyeti ile yetiştirilen bir laboratuvar suşunun yumurtalarından yetişkinlerin en yüksek çıkışı sırasıyla 60 ve 34 gün olduğunu bildirmişlerdir (Bell, 1975). Johnson ve ark. (1992), daha yüksek ve daha düşük sıcaklıklarda benzer çalışmalarla badem, antep fıstığı ve cevizde sırasıyla 31.3, 31.4 ve 38.2 güne kıyasla kepekte 28.3°C'de 22.6 günlük 30°C ve %76 bağıl nem sırasıyla kırık sorgum ve buğday üzerinde (Allotey ve Goswami, 1990) gelişme süreleri kaydetmişlerdir. Gelişim zamanlarındaki bu farklılıklar nedeniyle, farklı besinler üzerinde yetiştirilen *P. interpunctella*'nın yumurtadan ergin gelişimine kadar farklı derece-gün tahminleri gerekebilir (Şekil 2.5) (Johnson ve ark, 1995). Araştırmacılar tarafından 16 ile 20°C arasında değişen farklı alt gelişim sınırları da rapor edilmiştir (Howe, 1965; Bell, 1975; Fields, 1992; Johnson ve ark, 1995), bu aynı zamanda beslenme, yetiştirme koşullarındaki farklılıklarla ve belirli güve suşlarındaki coğrafi farklılıklar da ilgili olabilir. Bu varyasyon gelişim süresi ayrıca beş larva aşaması için bireysel aşamaya özgü gelişim süresinin tanımlanmasındaki zorluğa da katkıda bulunur. Ek olarak, çeşitli diyetlerde larva tüy dökümünü gözlemlemek zordur ve larvaların diğer tüy dökümü kanıtlarını bulmak için baş kapsüllerini ölçmek için sık sık rahatsız olması, gelişme süresini uzatabilir ve ölüm oranını artırabilir. Diapoz, beslenme durduktan sonra 5. veya son evrede meydana gelir, ancak gelişimin daha erken dönemlerinde çevresel ipuçları ortaya çıkabilir. Düşük sıcaklıklar, kısa fotoperiyotlarda olduğu gibi (Tzanakakis, 1959; Bell ve Walker, 1973) diapozu tetikleyebilir (Tzanakakis, 1959; Johnson ve ark, 1995). Bell (1976'a) tarafından yapılan bir çalışmada, *P. interpunctella* 20 ve 25°C 'de fotoperiyod 13 saatten az veya eşit olduğunda diapozu girdiğini tespit etmiştir. Diapoz, sıcaklıklardaki ani bir düşüşle de indüklenebilir. Bir çalışmada *P. interpunctella* üçüncü dönem aşamasına kadar 30 °C'de büyütüldüklerinde ve ardından 20°C 'ye yerleştirildiklerinde diapozu girdikleri rapor edilmiştir (Mbata, 1987). Sıcaklıkların kontrolsüz olduğu depolama tesislerinde, *P. interpunctella* larvaları daha soğuk aylarda diapoz dönemine girebilir. Uygun koşullar tekrar oluştuğunda, genellikle erken ilkbahar mevsiminde güve popülasyonunda ani bir artış meydana gelir (Mason, 2003). Bazı durumlarda, sıcaklıkların buna neden olacak kadar soğuk olmadığı coğrafi bölgelerde diapoz olmayabilir. (Prevett, 1971). Daha uzun fotoperiyotlar ve daha yüksek sıcaklıklar larvalarda diapozu sonlandırır. 20°C'de, 16:8'de (aydınlık: karanlık) diapozun hızlı bir şekilde sona ermesi meydana gelmektedir (Bell, 1976b). Yoğunluğun diapoz

üzerindeki etkileri ilk olarak yoğunluğa bağlı diyapoz kaydeden Tsuji (1959) tarafından tanımlanmıştır. Bell (1976'a) ayrıca belirli *P. interpunctella* popülasyonlarında yüksek yetiştirme yoğunluğunun tetiklediği diyapozda bir artış kaydetmiştir. Diyapoz indüksiyonu üzerindeki yoğunluğun etkileri kısmen sıcaklıkla belirlenebilir ve deneysel koşullar ve ayrıca türün coğrafi kökeni (Bell ve ark, 1979), belirli sıcaklıklardaki fotoperiyod ve bireysel türlerin soğuğa dayanıklılığı (Bell, 1982) gibi diğer faktörler tarafından etkilenir. *P. interpunctella*'nın bir nesli tamamlaması için gereken süre, sıcaklık, diyet ve coğrafi türün karmaşık bir etkileşimidir. *P. interpunctella* yetişkinlerinin ortaya çıkışı ve sonraki davranışların birçoğu fotoperyod ile ilgilidir. Simüle edilmiş bir depo durumunda, fotofazın sonunda ortaya çıktıktan sonra, güveler hızla yakındaki duvarlara veya depolama paletlerinin alt taraflarına hareket ederler. (Silhacek ve ark, 2003). Madrid ve Sinha (1983), dört mevsim boyunca doğal ışık/karanlık döngüleri altında yapılan bir çalışmada, yetişkin hareketinin ve yumurtlamanın ilk zirve döneminin akşamın erken saatlerinde meydana geldiğini bulmuşlardır. Erginlerin yaşı arttıkça bu hareket ve yumurtlama daha düzensiz hale gelmiş ve çiftleşme ilk 24 saat içinde gerçekleşmiştir (Silhacek ve ark., 2003).



Şekil 2.3 *Plodia interpunctella*'ya Ait Yumurta



Şekil 2.4 *Plodia interpunctella*'ya Ait Larva
ve Pupa



Şekil 2.5 *P. interpunctella* Erginleri

2.2.2 Zarar Şekli, Ekonomik Önemi ve Yayılışı

Kuru meyve güvesi *Plodia interpunctella* (Hübner), gıda saklama tesislerinin kozmopolit bir zararlısıdır ve çeşitli kabuklu yemişler, baharatlar ve gıda ürünlerini istila edebilir (Mohandass ve ark, 2007) (Şekil 2.6). Son saha çalışmaları, bu türün bol miktarda popülasyonunu göstermiştir ve öğütme ve işleme sırasında ve çevresinde depolanan diğer ürün böcekleri, gezici yetişkinler, bir tesisin içindeki veya dışındaki istila kaynaklarından kolayca dağılabilir ve istila odakları genellikle aynı mevsimde bir depolama alanı içinde değişir (Campbell ve ark, 2002). Dış popülasyonlardan göç, bir sahadaki yerleşik istilalar ve istila edilmiş ürünün tesise girmesi, istila baskısına katkıda bulunabilir (Campbell ve Arbogast, 2004). Erkek *P. interpunctella*'yı çekmek için ticari olarak temin edilebilen (Z,E)-9,12-tetradecadienyl acetate (ZETA) yemi kullanılarak feromon yakalama, popülasyon eğilimlerini izlemek, istila kaynaklarını belirlemek, bir tesis içinde bir istila dağılım modellerini incelemek ve yayılmasını belgelemek için kullanılabilir. (Zhu ve ark, 1999; Campbell ve ark, 2002; Nansen ve ark, 2008; Trematerra ve ark, 2011). Ancak tuzak performansını etkileyen çeşitli

faktörler nedeniyle güve yakalama verilerini yorumlamak bazen zordur (Arbogast ve ark, 2005; Nansen ve ark, 2008). Ticari gıda ürünlerinin binanın içine ve dışına ve tesis içindeki farklı konumlar arasında sürekli hareketi nedeniyle, yakalama verilerinin yorumlanması özellikle gıda depolarında zordur. Bu nedenle, değirmenler veya işleme tesisleri gibi daha durağan tesislere kıyasla depolardaki istila kaynaklarının tam olarak belirlenmesi daha zor olabilir. Son zamanlarda yapılan araştırmalar, ek cezbediciler (Nansen ve Phillips, 2004), tuzakların daha iyi yerleştirilmesi (Nansen ve ark, 2004a, 2004b, 2004c) ve veri yorumlamaya yönelik yeni yaklaşımlar (Nansen ve ark, 2008) yoluyla feromon tuzaklarının verimliliğini artırmaya da odaklanmıştır. Tesislerde *P. interpunctella* popülasyonlarının izlenmesi için feromon tuzakları yaygın olarak kullanılsa da kuru meyve güvesinin Ege Bölgesi'nde kuru incirin sergi döneminde %12-23, depolarda ise %39-68 oranında kayıplara neden oldukları belirlenmiştir. Yine, kuru meyve güvesi iç findık güvesi ve diğer güvelerle birlikte Karadeniz Bölgesi findık depolarında %20 dolayında bulaşmaya yol açmaktadır (TAGEM, 2008). *P. interpunctella* Antartika hariç her kıtada yayılış göstermektedir. Ancak kıtasal uzaklıkların ötesinde göç edebildiği ve yayılabildiğini ileri süren kayıtlar yoktur (Mohandass vd., 2007). Fakat, ticari gemi yükü taşımacılığı ile böceklenmiş ürünlerin içerisinde görülmüştür (Schulten ve Roorda 1984). *Plodia interpunctella* (Hubner 1813), yaygın olarak kuru meyve güvesi (Triplehorn; Johnson 2011) olarak bilinen Phycitinae alt familyası Pyralidae familyasından bir mikrolepidopteradır. *P. interpunctella* kozmopolit bir türdür ve birçok farklı depolanmış üründen kaydedilen önemli bir zararlıdır (Na; Ryoo 2000). Nansen e'ye göre Phillipis (2003), kurutulmuş meyveler ve tahıllar, yemekler ve çikolatalar gibi yağ açısından zengin gıda maddelerinin çok önemli bir ekonomik zararlısıdır. Mbata e Osuji (1983), yer fıstığı ve Johnson ve ark. (1992) badem, fıstık ve findıkta, Platt ve ark. (1998), süper marketlerdeki evcil hayvan mamalarında yoğun bir istila gözlemlemişlerdir. Na e Ryoo (2000) kurutulmuş sebzelerde, frenk soğanı, soğan, sarımsak, havuç, lahana ve biberde kuru meyve güvesini gözlemlemişlerdir. Perez-Mendonza e Aguilera-Peña'ya (2004) göre doğada ki sarımsak da bu zararlı tarafından saldırıya uğramaktadır. Barbosa ve ark. (2008), kuru meyve güvesinin Brassica türü *Crambe abyssinica*'nın tohumlarında bulunduğunu kaydetmişlerdir. *P. interpunctella*'nın saldırdığı çok çeşitli konakçılar, onu bir polifag olarak karakterize eder. 2013'te yapılan bir çalışmada *P. interpunctella*, Amazonas Eyaleti, Itacoatiara İlçesindeki Aruanã çiftliğinde

(03°00'29" güney ve 58°49'53" batı) Brezilya cevizinde kaydedildi. Cevizler, 2013 hasadından (Nisan/2013) beri jüt çuvallarda saklanmış ve paletler üzerinde partiler halinde istiflenmişti. Mayıs 2014'te depolanan toplam 47 torbadan 20 torbada yetişkinler, larvalar ve pupalar veya toplamın %42'si tespit edilmiştir (Jhonatan Bruno Silva'nın kişisel iletişimi). Mayıs 2014'te, incelenmek üzere Embrapa Amazônia Ocidental'deki (Manaus-AM) Entomoloji Laboratuvarına 62 kg'lık bir Brezilya cevizi çuvalı götürülmüş, pupalar, cevize sabitlenmiş kozalarda ve torbanın içinde gözlemlenmiştir. Bu türün ürettiği karakteristik ağ da görülmüş; torbalarda, yemişlerde ve ayrıca kabuklu tohumlarda dışkı ve exuviae ile ağ topakları oluşturmuştur. Torbanın alt üçte birinden, ortasından ve tepesinden fındık örnekleri alınıp, yemişlerin toplam %10'u örneklenmiş ve *P. interpunctella* tarafından saldırıya uğrayan yemişlerin yüzdesi değerlendirilmiştir. Zarar görmüş ve/veya larva varlığı olan yemişlere saldırılmıştır. Bu kayıt için toplanan yetişkin güveler, ön kanatların distal bölgesinin yaklaşık 2/3'ünün kırmızımsı bronz bir renge sahip olması, grimsi bir taban bölgesi ve bu iki alanı ayıran siyah bir enine şerit ile karakterize edilir. Kanat açıklığı yaklaşık 20 mm'dir ve baş pulları bir sorguç gibi görünür.

32 takımda sınıflandırılan böceklerden sadece 3'ü (Coleoptera, Lepidoptera, Psocoptera) depolanan ürünlere zarar veren böcekler içermektedir (Emekçi ve Ferizli, 2000). Bozulmamış, herhangi bir nedenle zarar görmemiş, buğday taneleri üzerinde beslenerek zarar verebilen böcek türleri birincil zararlılar olarak adlandırılır. BT zararlılardan depolanan buğdayda yaygındır. *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae), *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera: Bostrichidae), *Sitotroga grainella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae) ve *Trogoderma granarium* (Everts) (Coleoptera: Dermestidae) (Emekçi ve Ferizli, 2000) bunlardan bazılarıdır. Diğer tüm haşere türleri birincil zararlılardır veya farklı faktörlerle kırılmış, çatlamış veya yenen tahıllar ve tozları ile beslenirler. İkincil zararlılar da bu tür zararlılar olarak tanımlanır. Başka bir depo zararlısı tipi doğrudan buğday tanesi üzerindedir. Metabolik aktivitesi nedeniyle çevre, sıcaklık ve nemi artırarak mantar gelişimini neden olur ve depolarda ürünün bozulmasını teşvik eder. Bu türlerden en önemlileri *Ahasverus advena* (Waltl) (Coleoptera: Silvanidae), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Laemophloeidae) ve *Liposcelis spp.* (Motschulsky) (Psocoptera: Liposcelidae)'dir.



Şekil 2.6 *Plodia interpunctella*'nın Besin Üzerindeki Zararı

2.2.3 Mücadele Yöntemleri

Böcekler, çiftlikteki bitkilere beslenme sürecinde doğrudan zarar verilmesini içerebilecek pek çok nedenden dolayı zararlı olarak kabul edilir. Zararlı böcekler, dünya çapında insanlara, çiftlik hayvanlarına, bitkilere ve mülkiyete zarar veren böcek türleridir. Bu böcekler birçok yönden kategorize edilir, bazıları konakçıya saldıran doğrudan zararlılar olabilir, bitki veya hayvan olabilir; bitkinin özsuyunu veya hayvanın kanını veya dokusunu emerek beslenen dolaylı zararlılar olabilir; hayvan veya bitkinin yaşamını bozan hastalık taşıyan patojen veya parazitlerin bulaşmasından sorumlu olanlardır. Zarar vermede bazen konukçuya zarar veren yetişkin böcek olabileceği gibi bazen de larva (tırtıl, kurtçuk vb.) olabilir. Diğer durumlarda, hasara hem larva hem de yetişkin böcek neden olabilir ve bunu birlikte veya ayrı ayrı yapabilirler.

P. interpunctella ile savaşım için kimyasal, fiziksel, biyoteknik ve biyolojik mücadele yöntemleri ayrı ayrı veya birlikte uygulanmaktadır.

2.2.3.1 Kimyasal Mücadele

Kimyasal kontrol, zararlı böcekleri yok etmenin en yaygın yollarından biri gibi görünmektedir. Kimyasalların kullanımı, haşereleri öldürmek veya beslenmelerini, çiftleşmelerini veya diğer temel davranışlarını engellemek için kimyasalların

uygulama alanına sokulmasını içerir. Burada kullanılan kimyasallar doğal ürünler, doğal ürünlerin sentetik taklitleri veya tamamen sentetik kimyasallar olabilir. Bazı kimyasallar böcekler için toksik değildir ancak normal davranışlarına müdahale ederek zarar vermelerini engeller.

Entegre Zararlı Yönetimi (IPM) şekli, tüm haşere yok etme yöntemlerinin bir arada harmanlanmasını ve uygulanmasını içerir. Bu yöntemi kullananlar, tüm haşereleri yok etmenin neredeyse imkânsız olduğunu anlarlar; ancak haşere kontrolü ekonomik olarak zarar verici seviyelerin altında yönetilebilir. IPM yöntemi dinamikdir ve bitkinin, deponun ya da uygulama alanının ve haşerenin doğasına göre değişir, ancak; belirli bir zararlıyı yok etmek veya kontrol etmek için kullanılacak uygun yöntemi bilirler.

Son yıllarda kimyasal mücadele yöntemine alternatif yöntemlerin geliştirilmesinde, zararlı popülasyonların tarla ve depo koşullarında yayılışlarının ve uçuşlarının izlenmesinde, böceklerin popülasyon yoğunluğunun düşürülerek kimyasal mücadelenin minimuma indirilmesinde, kimyasal mücadele zamanının saptanması ve etkinliğinin kontrol edilmesinde feromon tuzakların kullanılması yaygınlaşmıştır. Özellikle depolarda zararlı lepidopter türleri için feromonların kullanılması önerilmektedir (Göktay ve Kısmalı, 1989). Yurtdışında, *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae)'nın sentetik eşeysel feromonunu içeren tuzaklar, çeşitli depolanmış ürünlerde ve un fabrikalarında zarar yapan lepidopter türlerinin belirlenmesi, uçuşlarının izlenmesi ve bu zararlılara karşı yapılacak mücadeleye yardımcı olarak kullanılmaktadır (Cogan, 1983; Şifner ve ark., 1995; Johnson ve ark., 2000). Bununla birlikte ülkemizde bu konuda sadece Özar ve ark., (1985) tarafından Ege Bölgesi incirlerinde incir kurtlarının bulaşmalarının eşeysel feromon tuzakları ile engellenmesi üzerinde bir çalışma bulunmaktadır. Dünyada ve ülkemizde *P. interpunctella* popülasyonlarını kontrol altında tutmak için sıklıkla kimyasal kullanımı ve yaygın olarak fumigasyon uygulamaları tercih edilmektedir. Fumigasyon uygulamalarında ise öncelikle metil bromit ve fosfin kullanılmaktadır. Metil bromit depolanmış ürün ilaçlamalarında kullanılan tek mevcut geniş spektrumlu bir fumigant olmasına karşın ozon tabakasını inceltme potansiyeline de sahiptir. Montreal Protokolüne göre; ozon tabakasını inceltme potansiyeline sahip tüm kimyasal materyallerin kullanımı çevre güvenliği açısından kademeli olarak durdurulmalıdır (Özyardımcı ve ark., 2006). Yapılan çalışmalar *P. interpunctella* nesillerinin

organofosfat melatonin ve diğer birkaç organofosfata direnç geliştirdiğini göstermiştir (Attia 1977,1981; Zettler ve ark., 1973, 1989; Zettler 1982; Arthur ve ark., 1988; Sumner ve ark., 1988; Schaafsma 1990; Arthur ve Phillips 2003). İlaveten, organofosfat klorpirifos-metil ve piretroit siflutrinli çalışmalar gezgin dönemdeki larvaları öldürmek için gerekli olan insektisit miktarının kırmızı un kurdu *Tribolium castaneum*'u öldürmek için gerekli olan miktardan 10-20 kat daha fazla olacağını göstermektedir (Arthur 1989b, 1994, 1995). Ayrıca, bazı *P. interpunctella* nesilleri fosfin içerikli fumigantlara da düşük seviyeli direnç geliştirmiştir (Zettler 1982; Zettler ve ark., 1989; Chaudhry 1997).

Ülkemizde depolanmış ürün zararlıları ile mücadelede dünyada olduğu gibi metil bromit ve fosfin gazı kullanılmaktadır ancak Birleşmiş Milletler Montreal protokolüne göre metilbromit gelişmiş ülkelerde 2005; gelişmekte olan ülkelerde 2015 yılında kullanımdan kaldırılması planlanmıştır. Ülkemizde ise metil bromit 2008 yılı itibari ile (karantina ve yükleme öncesi uygulamalar hariç) kullanımdan kaldırılmış bir fumigantır. Dolayısıyla elde kalan yegâne fumigant 1930'lu yıllardan beri kullanılan alüminyum veya magnezyum fosfit içerikli formülasyon olarak ruhsatlı fosfindir.

Fosfin, depolanan dökme tahıllardaki böcekleri kontrol etmek için dünya çapında kullanılan baskın fumiganttır, ancak elektrik kabloları üzerindeki aşındırıcı etkilerden dolayı değirmencilik ve işleme endüstrilerinde yapısal bir arıtma olarak yaygın olarak kullanılmaması gerektiği vurgulanmıştır (Bond, 1984).

2.2.3.2 Fiziksel Mücadele

Fiziksel mücadele kapsamında sıcaklık manipülasyonları, modifiye atmosfer (Adler, 2001) ve radyoaktivite uygulamaları yer almaktadır. Bilindiği üzere *P. interpunctella*'nın gelişimi sıcaklıktan etkilenmektedir. Optimal sıcaklık düzeyinde gelişim hızlanmakta, bu düzeyin altındaki sıcaklıklarda ise yavaşlamaktadır. Bu nedenle depolama tesislerinin düşük ve yüksek sıcaklık uygulamaları mevcut zararlının kontrolü için bir potansiyeldir. Kuru meyve güvesinin mücadelesinde çoğunlukla düşük sıcaklıklar (0-10,5°C) tercih edilmektedir. Bu sıcaklıklar ergin güve üzerinde bir stres faktörü oluşturmakta ve ergin ölüm oranı artmaktadır. Bunun yanı sıra, hayatta kalan erginler düşük yumurta üretimi sergilemekte ve bu yumurtalar daha düşük yaşama yeteneğine sahip olmaktadır (Johnson ve ark., 1997). Ayrıca, düşük sıcaklıklarda *P. interpunctella*'nın 2-3 günlük yumurtaları 1 günlük yumurtalarına

göre ölüme daha fazla direnç gösterirken, yüksek sıcaklıklarda (42-48°C) 1 günlük yumurtalarının 2-3 günlük yumurtalarına göre daha toleranslı olduğu görülmüştür (Lewthwaite ve ark., 1998).

Roesli ve ark., (2003) ise yüksek sıcaklığın pilot bir yem değirmeninde farklı depo ürünü böcekleri yok ettiğini, fakat birkaç hafta sonra *P. interpunctella* popülasyonunun giderek arttığını belirlemiştir. Son yıllarda, düşük enerjili elektron ve gamma radyasyon uygulamalarını içeren radyoaktivite çalışmaları ile de *P. interpunctella* popülasyonlarını kontrol altında tutma çabaları olumlu sonuçlar vermiştir (Hayashi ve ark., 2004; Özyardımcı ve ark., 2006). İrradyasyonun, metil bromidin ihraç ürünü olarak kullanımını ve kimyasal kalıntı problemini ortadan kaldıracak önemli ve cazip bir alternatif olarak önerilebildiği bildirilmiştir (Ahmed, 1991; Marcotte, 1993). Besin irradyasyonunun ticari uygulamasının ekonomisi kapsamlı bir şekilde çalışılmaktadır. Bu teknoloji daha düşük radyasyon dozu kullanılırsa ekonomik açıdan çok daha uygundur (Borsa ve Iverson 1993; Kunstadt ve Steeves 1993; Hargitai ve ark., 1993). Uluslararası Gıda Standartları Komisyonu tüm besin ve zirai ürünlerin ilaçlaması için 1 kGy (Kilogray=kGy İyonlaştırıcı radyasyonun maddenin birim kütleğinde soğurduğu enerji miktarı) dozu tavsiye etmektedir (Codex Alimentarius, 1984). İrradyasyon ilaçlamaları düşük dozlarda başarı gösteriyor olsa da radyasyon duyarlılığının farklı böcek takımlarında ve hatta aynı böceğin farklı gelişim evrelerinde bile değişiklik gösterebileceği unutulmamalıdır (Ahmed 2001). Son zamanlarda, Washington Eyalet Üniversitesi'nde bir ısıtma bloğu sistemi geliştirildi. (WSU), Pullman WA, ısıtılmış su kullanılmadan hasat sonrası böceklerin termal ölüm kinetiklerini incelemek için (Wang ve ark. 2002a,b). Bu sistem, maruz kalan böcekleri doğrudan ısıttı ve 1 ila 20°C/dak arasında farklı ısıtma hızlarını doğru bir şekilde simüle etti, çoğu pratik ısıtma oranlarına uygundur. Hızlı ısıtma hızları için tedavi sıcaklıklarını ve maruziyetlerini tahmin etmek için özellikle yararlıdır. radyo frekansı tedavileri. Elma güvesinin (Ikediala ve ark., 2000, Wang ve ark. 2002a) ve göbek portakal kurdu (Wang ve ark. 2002b), test olarak 5. dönem larvaları kullanılarak haşarat. Göbek portakal kurdu ile ilgili ön veriler, 5. dönemin ısıya en dayanıklı olduğunu gösteriyor stadyum. Bazı çalışmalarda kullanılan Termal belirlemek için WSU ısıtma bloğu sistemi Beşinci dönem kuru meyve güvesi larvalarının ölüm kinetiği 18°C/dak'lık bir ısıtma hızı ve göreceli değerlerini karşılaştıran önceki hedef türlere ısı toleransı. Diyapoz halindeki larvalar

genellikle stadyum olarak bulunduğundan, en çok gibi hasat sonrası işlemlere toleranslı (Bell, 1997) fümigasyon, soğuk depolama ve kontrollü atmosferler, ayrıca diyapoz yapan ve diyapoz yapmayan kuru meyve güvesi larvalarının bağıl ısı toleransını da karşılaştırdık.

2.2.3.3 Biyoteknik Mücadele

Böcekler, gezegenimizdeki en çeşitli ve en büyük hayvan grubu olup, neredeyse tüm karasal ve tatlı su biyotalarını işgal eder ve tüm canlı türlerinin yarısından fazlasını oluşturur (Misof ve ark. 2014). Dahası, böcekler eski bir eklembacaklı grubunu temsil eder: Bilinen en eski böcek fosili Rhyniognatha hirsti, yaklaşık 400 milyon yıl önce Devoniyen döneminde ortaya çıktı ve muhtemelen Dünya'nın ilk karasal ekosistemleriyle birlikte ortaya çıktı (Engel ve Grimaldi, 2004). Bu dikkate değer çeşitlilik ve uzun süreli birliktelik sayesinde, inanılmaz bir simbiyotik mikroorganizma çeşitliliği konakçı olarak birçok ilişkiye katılan böceklere özel olarak adapte olmuştur (Chen ve ark. 2016, 2018) Böcek mikrobiosimbiyozları hem yararlı hem de zararlı etkileşimler dahil olmak üzere böcek soylarının ve mikrobiyal ortakların çeşitliliğini kapsar. Böcek ortakyaşamları da yüksek biyoteknoloji potansiyeline sahip doğal ürünlerin önemli kaynakları olarak giderek daha fazla tanınmaktadır. Biyoteknolojide böcek ortakyaşamlarının çoklu uygulamalarına ilişkin son araştırmaların bir incelemesini sağlar. Yeni ilaç adayları bulmak için belirli böcekler hedeflenmiştir, ancak belirli biyoaktif moleküllerin mikrobiyal simbiyontların metabolitleri olduğu kanıtlanmıştır. Yakın zamanda yapılan çalışmalar, böcek karşılıklı simbiyotik bakterilerinin, plastik imha etme olasılığı için büyük bir potansiyele sahip olduğunu da göstermiştir. Bununla birlikte, parazitik simbiyoz, haşere problemlerini çözmek ve çeşitli insan hastalıklarını bulaştıran böcek vektörlerinin popülasyonunu kontrol etmek için büyük bir potansiyele sahiptir. Pratik uygulamadaki ana engeller, mikrobiyal hedeflerin yetiştirilmesinde ve ayrıştırılmasında belirli zorlukların olmasıdır. Resmen endosimbiyontlar veya simbiyotik ilişkide yer alan bazı biyoaktif bileşiklerin yalnızca in vivo olarak üretildiğini veya biyoaktif bileşiklerin aksenik kültürlerde üretilmeyeceği. Organizmaların kodlayıcı genlerle genetik dönüşümü gibi modern genetik tekniklerin uygulanması, bu engellerin üstesinden gelebilir ve endüstriyel üretim için ölçeklendirilebilir. Simbiyont temelli hastalık/zararlı kontrol yönetiminin önemli bir darboğazı, yalnızca enfekte olmuş böceklerin salınması için böcek zararlılarının ve

hastalık vektörlerinin etkili bir cinsiyet ayrımını kullanma gerekliliğidir. Bu mini incelemede, yalnızca sınırlı sayıda örnek aktarabildik, ancak özellikle biyoteknolojik bir bakış açısıyla böcek simbiyozu araştırmasını hızlandıran ve ilerleten yeni bilgiler sağlamayı umuyoruz. Daha fazla araştırma yoluyla, mevcut sorunları çözmek için böcek-mikrop simbiyotik ilişkilerini manipüle etmek mümkündür.

Biyoteknik mücadele yönteminin hedefi zararlıları doğrudan öldürmek yerine, onların doğal davranışları, fizyolojileri ve biyolojileri üzerine etkili olan bazı yarı kimyasal maddeler kullanarak popülasyonlarını azaltmaktır. Depolanmış ürün zararlıları için yarı kimyasal maddelerin kullanımı önemli bir alternatif olmuştur (Jones 1998; Phillips ve ark., 2000b; Cox 2004). Yarı kimyasal olarak daha çok attraktantlar (cezbediciler) ve feromonlar tercih edilmektedir. Buna karşın, böcek büyüme regülatörü hidroprenin de *P. interpunctella*'nın yumurta bırakma ve larva gelişimini sınırlandırdığı bilinmektedir (Arbogast ve ark., 2002; Mohandass ve ark., 2006a,b). İlaveten, yarı kimyasal maddeler, besin tesislerinin içerisinde ve çevresinde *P. interpunctella* ve diğer depolanmış ürün zararlı popülasyonlarının erken dönemde belirlenmesi ve izlenmesi için yaygın olarak feromon tuzaklarında kullanılmaktadır (Nansen ve Phillips 2004). *P. interpunctella* dişi feromonunun temel bileşeni Brady ve ark., (1971) ve Kuwahara ve ark., (1971) tarafından tespit edilmiş ve ZETA [(Z,E)-9,12-tetradecadienyl asetat (Z9,E12-14:Oac)] olarak adlandırılmıştır. Daha sonra *P. interpunctella* dişi feromonunun üç ilave bileşeni kaydedilmiştir (Kuwahara ve Casida 1973; Sower ve ark., 1974; Soderstrom ve ark., 1980; Teal ve ark., 1995; Zhu ve ark., 1999). Fakat ticari *P. interpunctella* tuzaklarının çoğu sadece ZETA içermektedir (Nansen ve Phillips 2004).

Nansen ve Phillips (2004) tarafından yapılan bir çalışmada yarı kimyasal bir attraktant ve ZETA'ya maruz kalan *P. interpunctella* erginleri üzerine toksite analizi yapılmış ve attraktant verilen ergin erkeklerin dişilerin yumurtlama potansiyellerine önemli bir etki yaptığı, ZETA verilen ergin erkeklerin ise böyle bir etki göstermediği bulunmuştur. Ayrıca, Slovenya'da gerçekleştirilen bir çalışmada *P. interpunctella*'nın da dahil olduğu üç depolanmış ürün zararlısına karşı feromon tuzağı kullanımında olumlu sonuç elde edilmiştir (Trdan ve ark.,2010).

2.2.3.4 Biyolojik Mücadele

Dünyada depolanan tahılın haşere yönetimi için mikrobiyal pestisitlerin ve bir böcek parazitoitinin birleştirilmesinin uygunluğu laboratuvar analizleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu amaçla, *Bacillus thuringiensis* (Bt), Bt-intoksik konak larvaları ve parazitoid *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) arasındaki etkileşimler, *Plodia interpunctella* Hubner (Lepidoptera: Pyralidae) 'ya karşı test edilmiştir. Tek başına Bt veya *H. hebetor*, sırasıyla %41.67 ve %35.35 *P. interpunctella* larva ölümlerine neden olmuştur. Bt-parazitoid kombine tedavisi, *P. interpunctella*'nın mortalitesini (%86) önemli ölçüde artırdı. *H. hebetor*'un döl gelişimi, Bt'ye duyarlılığına bağlıydı. Bt-parazitoid kombine tedavisinden, Bt olmayan tedavilere göre daha az parazitoit ortaya koyulmuştur. Bununla birlikte, Bt parazitoid gelişimini engellemediği için, Bt ve parazitoit salınımı ile kombine bir tedavi, *P. interpunctella*'ya karşı her iki tedavinin tek başına kullanılmasına göre daha iyi koruma sağlayabilir, çünkü öldürücü etkileri birbirine eklenir. Bu haşere, ham veya işlenmiş tahıl ve baklagiller, kuru meyveler, hayvan yemi dahil olmak üzere çok çeşitli malları istila eder. (Cox ve Bell, 1991), fındık (Madrid ve Sinha, 1982) ve sarımsak (Perez-Mendoza ve Aguilera-Pena, 2004) Koşullar uygun olduğunda kuru meyve güvesi hızla çoğalabilir. Erken larval aşamalar, beslenme faaliyetleri sırasında istila edilmiş malları aktif olarak yutar. Bu besleme davranış ve geç dönemlerin oluşturduğu ağlar, gıdayı tüketiciler için kabul edilemez hale getirir. Her yerde bulunan Gram pozitif, spor oluşturan bir bakteri olan *Bacillus thuringiensis* (Bt), ticari tarım, orman yönetimi ve sivrisinek kontrolünde kullanılan önde gelen biyopestisitir. *B. thuringiensis* ayrıca bitkilerde haşere direnci sağlamak için transgenik ifade için anahtar bir gen kaynağıdır (Meadows, 1993). Bt'nin insektisidal özelliği genellikle böceğin orta bağırsağını kaplayan epitel hücrelerinde toksin gözeneklerinin oluşumuna atfedilir. *B. thuringiensis*, büyüme döngüsünün durağan fazı sırasında kristalli bir endotoksin oluşturur. Bakteriler vücuda alındığında Hassas böceklerin larvalarını besleyen kristaller, bir toksin oluşturmak için orta bağırsakta çözünür. Lepidoptera, Diptera ve Coleoptera dahil olmak üzere birçok böcek takımı Bt'ye duyarlıdır (Crickmore ve ark, 1998). Ancak bu mikrobiyal patojen, yalnızca hedef zararlıların beslenme aşamalarına karşı etki edebilir. Bu nedenle, böcek ekolojisi ve davranışının karmaşıklığı, Bt'nin etkinliğini ciddi şekilde bozabilir. Örneğin, *P. interpunctella*'da genellikle beş larva aşaması vardır: en aktif aşamalar, mallara daha

fazla zararın verildiği 2. ve 3. dönemlerdir. Geç evreler (4. ila 5.) aktif besleyiciler değildir, ancak pupa olmak için uygun yerler arayan besin kütesinin yüzeyinde gezinirler (Mbata ve Osuji, 1983). Bu nedenle, beslenme aşamalarında Bt dozundan kaçan veya hayatta kalan böcekler kolayca yetişkin aşamasına gelişebilir. Bt ve doğal bir düşmanın kombinasyonunu içeren entegre bir haşere yönetimi, parazitoid üzerinde belirgin olumsuz etkiler olmaksızın haşere popülasyonlarını azaltmıştır. Gelişimi veya ortaya çıkışı. Toplu halde yaşayan parazitoid *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae), *P. interpunctella* (Milonas, 2005; Darwish ve ark, 2003) ve *Galleria mellonella* L. (Awadallah ve ark, 1985). Yetişkin dişiler felç olur ve konakçılarının vücut yüzeylerine yumurta bırakır. Konak dokusuyla beslenen ortaya çıkan larvalar, pupadan önce yaklaşık üç evre aşamasından geçer. Uygun konukçu varlığında ve $25 \pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklık, $70 \pm 10\%$ bağıl nem, 14 : 10 h L : D fotofaz, yaşam döngüsü yaklaşık 10 günde tamamlanır (Magro ve ark, 2006). Başarılı olmasına rağmen, Bt-parazitoid kombine tedavisi aynı zamanda şu gibi bazı problemlerle de karşı karşıyadır: prematür konak ölümü nedeniyle daha düşük parazitoid hayatta kalma oranları ve daha düşük parazitoid çıkış oranları (Atwood ve ark., 1997). Ayrıca parazitoid larva gelişim sürelerinin artmasına (Ahmad ve ark, 1978) veya azalmasına ve parazitoid cinsiyet oranlarının değişmesine (Wallner ve ark, 1983) yol açabilir. Bir böcek zararlısına karşı Bt ve bir parazitoidi birleştirme çalışmalarına rağmen, Bt'nin hedef böceklerin parazitoidleri gibi diğer trofik seviyeler üzerindeki etkileri hala tam olarak anlaşılamamıştır (Atwood ve ark, 1997). Bu çalışma, Bt ile işlenmiş larva diyetinin, *H. hebetor*'un ve Bt ile *H. hebetor* kombinasyonunun *P. interpunctella*'nın ölüm oranı üzerindeki etkilerini araştırdı. Bt ile muamele edilmiş diyetle maruz bırakılan *P. interpunctella* larvalarında gelişen *H. hebetor*'un yaşam öyküsü parametreleri de değerlendirilmiştir.

P. interpunctella'yı da içeren pek çok depolanmış ürün zararlısı böceği kontrol altında tutmak amacıyla doğal ürünlerin kullanımı diğer mücadele yöntemlerine ve özellikle de kimyasal uygulamalara ve fumigasyona karşı bir alternatif olarak görülmektedir (Arthur, 1996). Çevreye ve insanlara olan zararlı etkisinin minimum olmasının yanı sıra maliyetinin de düşük olması biyolojik mücadele yöntemlerini çok daha tercih edilir duruma getirmektedir. *P. interpunctella*'nın birçok doğal düşmanı mevcuttur. Kuru meyve güvesinin parazit ve predatör türleri arasında *Habrobracon hebetor* (Say, 1836, Hymenoptera: Braconidae) Oluwafemi ve ark., 2009; Mbata ve

İlan 2010), *Xylocoris flavipes* (Reuter, Hemiptera: Anthocoridae, Press ve ark., 1974; Kraszpulski ve Davis (1988), *Venturia canescens* (Gravenhorst, Hymenoptera: Ichneumonidae, Harvey ve Thompson 1995), *Tricogramma deion* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *T. ostrinia* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *T. pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae, Grieshop ve ark., 2006, 2008), *Nemeritis canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae, Waage 1978; Yıldırım ve ark., 2001), *Bracon hebetor* (Say, 1836) (Hymenoptera: Braconidae), *Diadegma chrysosticta* (Hymenoptera: Ichneumonidae), *D. Ohryacetieta* (Hymenoptera: Ichneumonidae), *Leucopis puncticornis* (Diptera: Chamaemyiidae), *Pachycrepoideus vindemiae* (Hymenoptera: Pteromalidae) (Yıldırım ve ark., 2001) yer almaktadır. Bunlara ilaveten, entomopatojenik nematodlar *Heterorhabditis indica* (Nematoda, Rhabditia) (Mbata ve İlan 2010) ve *Steinernema riobrave* (Nematoda, Rhabditia) (Rodríguez ve ark., 2007); entomopatojenik mantarlar *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium (Verticillium) lecanii*, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* ve *Paecilomyces farinosus* (Büda ve Pečiulytė 2008), bakteri *Bacillus thuringiensis* (Alaoğlu 1989; Oluwafemi ve ark., 2009) ve granülovirüsler (Vail v ve ark., 1991; Vail ve Tebbets 1993; Boots ve Begon 1995; Saejeng ve ark., 2010) kuru meyve güvesine karşı kullanılmıştır. Görüldüğü gibi söz konusu zararlının mücadelesinde biyolojik mücadele ajanlarının kullanımı kaçınılmazdır.

Ancak, yapılan çalışmalar *P. interpunctella*'nın bakteri *B. thuringiensis*'e de direnç geliştirebileceğini göstermiştir (Johnson ve ark., 1990; Van-Rie ve ark., 1990; McGaughey ve Johnson 1992; Subramanyam ve Hagstrum 1996; Herrero ve ark., 2001). Bu bilgiler ışığında *P. interpunctella*'nın farklı doğal patojen ve parazitlerinin tespiti ve popülasyonun kontrol altına alınması zararlı ile mücadelede en başarılı sonucu vermesi kaçınılmazdır.

Kuru meyve güvesi ile mücadele amaçlı en ümit vaadedici sonuçlar bu zararlının doğal düşmanlarının kullanıldığı çalışmalardan elde edilmiştir (Schöller ve Filinn 2000; Grieshop 2005; Shojaaddini ve ark., 2012). Zararlının doğal düşmanları arasında hem konak seçiciliği ve hemde etki mekanizması açısından öne çıkan organizmalar biyolojik mücadele kullanılan entomopatojenler gelmektedir. Böceklerin hastalanmasına ve ölümüne neden olan bu organizmalara genel olarak entomopatojenler denir. Virüsler, bakteriler, protistler, mantarlar ve nematodlar biyolojik mücadelede kullanılan entomopatojenleri teşkil etmektedirler (Yaman,

2012). Böceklerde hastalıklara neden olan entomopatojenler özelleşmiş doğal düşmanlar olarak kabul edilir. Entomopatojenler zararlı böceğin beslenme ve büyüme oranını azaltabilir, üremelerini yavaşlatabilir veya engelleyebilir ya da onları öldürebilirler. Bu organizmaların neden olduğu hastalıklar, belirli koşullar altında, özellikle böcek yoğunluğu yüksek olduğunda, böcek popülasyonunda doğal bir şekilde çoğalabilir ve yayılabilirler. Entomopatojenlerin neden olduğu tabii hastalık olayları böcek popülasyonlarında temel ölüm faktörü olduğu halde önemsiz gözükken böcek hastalıklarının araştırılmasına ve etkilerinin arttırılmasına yönelik pratik uygulamaların teşvik edilmesinde ve zararlıların kontrolü için tabii olarak gerçekleşen infeksiyonlardan faydalanmada çok az gelişmeler sağlanmıştır. Zararlıların kontrolü için entomopatojenlerin en pratik kullanımı, onların zararlının kendisinden izole edilmeleri ve suni ortamlarda kültürlerinin hazırlanmasını ve daha sonra uygun bir yerde ve zamanda çevreye dengeli miktarlarda sunulmasını içerir (Yaman, 2012). Kullanılan mikroorganizmalar zararlıya özgü olduğu için yalnızca o canlıyı etkiler. Ancak belirli bir zararlıyla mücadelede uygun entomopajenin seçiminde, organizmanın zararlının doğal popülasyonlarında hastalık oluşturmaması ve doğrudan zararlıdan izole edilerek geliştirilmesi, uygulama aşamasında entomopatojen-zararlı konak ilişkisi açısından önem arzeder. Kuru meyve güvesinin doğal popülasyonlarından entomopatojen tespitine ve bu zararlıya karşı kullanımına yönelik çalışmalar protistler içerisinde yer alan mikrosporidialar ile sınırlı kalmıştır (Malone ve Canning, 1982). Yapılan bazı entomopatojenik çalışmalar ise laboratuvar denemeleri şeklinde kalmıştır (Johnson ve ark., 1990; Herrero ve ark., 2004; Büda ve Peciulyte 2008).

Bütün bu nedenlerden dolayı kuru meyve güvesi üzerinde test edilmiş bilinen entomopajenik preparatlardan farklı, zararlının doğal popülasyonlarına ait ve ülkemizin yerel zenginliği olabilecek entomopatojenlerin araştırılması, en etkili mücadele etmenini bulma açısından büyük önem arz etmektedir. Yaman ve ark., (2016) proje ön çalışmalarında bu zararlıya ait ülkemiz için ilk protist patojeni olan bir mikrosporidyum tespit etmişlerdir. Yine Yaman vd., (2015) ülkemizde yaygın bulunan diğer bir depo zararlısı *E. kuehniella*'dan dünya için yeni ve ilk baculovirüs tanımlamışlardır. Baculovirüsler zararlı böcekler ile biyolojik mücadelede en yaygın kullanılan ve en seçici konak hassasiyetine sahip, etkisi en yüksek biyolojik pestisitler olarak üretilmekte ve ticari olarak satılmaktadır. Depo zararlıları üzerine bu iki çalışma

Ülkemizde bu zararlılardan farklı gruplara ait orijini bakteri, virus, fungus ve protist olan ve insektisidal etkileri yüksek yerli izolatların ya da yeni türlerin bulunabileceğini göstermektedir. Bu nedenle ülkemizde bu tür çalışmalara hız kazandırılmalı, yerli, yüksek insektisidal etki gösteren türlerin bulunması, bulunanların ise literatür bilgisi şeklinde kalmadan pratik kullanıma kazandırılması gerekmektedir.

Bu tez çalışmasında, tez n çalışması ile bir türün varlığı tespit edilen entomopatojenlerin farklı bilinen ya da yeni türlerinin, bu zararlının farklı popülasyonlarındaki dağılımlarının ve çeşitliliğinin belirlenmesi, karakterizasyonlarının yapılması, yeni ekolojik pestisitlerin geliştirilmesi, hem tespit edilen entomopatojenlerin hemde geliştirilebilecek ekolojik pestisitlerin zararlı üzerindeki insektisidal etkilerinin hem ayrı ayrı hem de birlikte farklı kombinasyonlarının laboratuvar ve depo uygulamaları şeklinde belirlenmesi, etkili olan entomopatojenleri içeren pratikte kullanılabilecek prototip bir mücadele aracının geliştirilerek patent yada faydalı ürün modeli elde edilmesi amaçlanmıştır.

Tez konusu zararlı böcekler ile biyolojik mücadele kullanılan hedef dışı organizmalara yan etkisi bulunmayan entomopatojenik organizmaların bu özelliklerinden faydalanarak, ülkemizde önemli bir depo zararlısı olan kuru meyve güvesi *P. interpunctella*'ya karşı zararlının ülkemizdeki farklı coğrafik popülasyonlarında mevcut insektisidal etkisi yüksek entomopatojenlerin tespiti, izolasyonu, karakterizasyonu, popülasyonlardaki dağılımının belirlenmesi ve zararlıya karşı pratik kullanımda tercih edilebilecek bir prototip modelin geliştirilmesidir.

Biyolojik mücadelede kullanılacak entomopatojenler doğal ortamlardan ya da doğadaki hastalıklı böceklerden izole edilerek geliştirilip ticari biyolojik insektisitler olarak sunulmaktadır. Zararlı böceklerle karşı kullanılacak entomopatojenlerin böcek üzerinde göstereceği insektisidal etki, türler arasında ve aynı entomopatojenik türün farklı coğrafik bölgelerdeki izolatlar arasında bile değişkenlik gösterir. Bu nedenle gelişmiş her ülke kendi sınırları içerisindeki biyolojik zenginliğine ait entomopatojenleri bulmak için büyük çaba sarfeder. Yine entomopatojenler zararlının popülasyonu içinde bireyden bireye bulaşarak kendiliğinden yayılabilir ya da zararlının yeni jenerasyonlara ulaşabilirler. Mevcut jenerasyon içinde hastalık nedeniyle ölmüş bcekteki bir entomopatojen bir sonraki yeni jenerasyondaki bireylerde farklı şekilde ulaşarak hastalık oluşturabilir ve popülasyon içerisindeki varlığını yıllar boyu sürdürebilir.

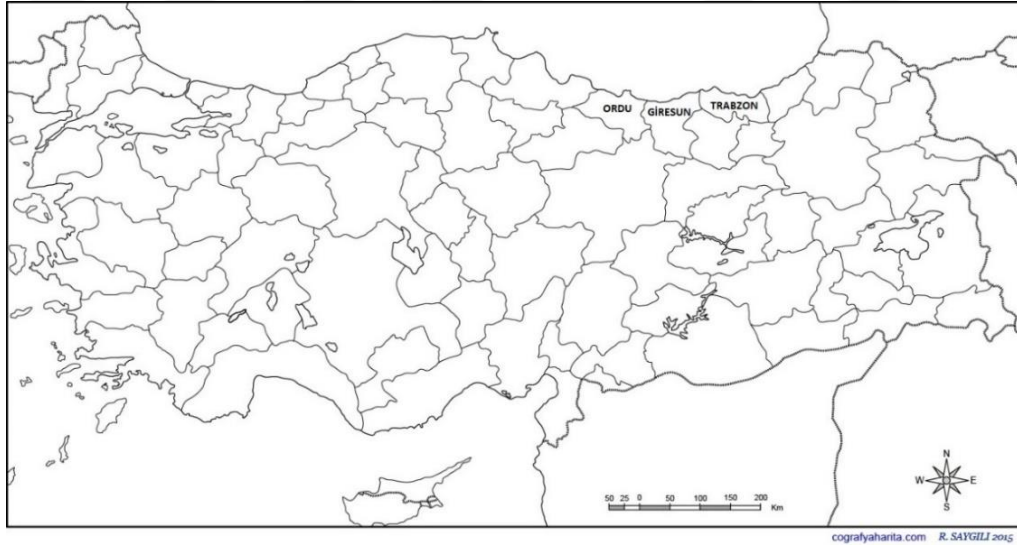
Ülkemizde zararlılarla mücadelede kullanılan entomopajenlerin ticari versiyonları sınırlı olup, yurtdışından ithal edilmektedirler. Yabancı orjinli entomopatojenlerin uygulandığı bölgeye yerleşip uzun süre kalabilmeleri bu açıdan bir risk olarak görülmektedir. İthal kökenli canlı entomopatojenik organizmaların kullanımı, uygulama bölgesindeki daha yüksek insektisidal etkiye sahip yerli türleri baskılayabilir. Bu durumda ülkemize özgü yüksek insektisidal etkiye sahip entomopatojenlerin bulunduğu bir ortama dışarıdan gelen bir ticari türün uygulanması durumunda, kendi biyolojik zenginliğimize ait daha etkili izolatımız baskılanarak ortaya çıkamayacaktır.



3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Böceklerin elde edilmesi

Mevcut çalışmanın konusunu oluşturan *P. interpunctella*'nın larva ve erginleri, çalışma boyunca Ordu, Giresun ve Trabzon illerinden depo, fındık fabrikaları ve evlerden *P. interpunctella* pupa, larva ve erginleri toplanmıştır (Şekil 3.1). Geniş bir *P. interpunctella* sayısına sahip olmak için ve neredeyse tüm Türkiye'yi kapsayacak şekilde örnekleme sağlama amacıyla pandemi koşullarının getirdiği kısıtlamalara rağmen, arazi çalışmaları planlanandan daha farklı lokaliteleri içerecek şekilde geniş bir alana yayılmış, ilave arazi çalışmaları yapılarak daha çok böcek toplanmaya çalışılmıştır. Arazi çalışmaları boyunca depo, dükkân ve evlerden *P. interpunctella*'ya ait pupa, larva ve erginleri dikkatli bir şekilde steril kaplara toplanmıştır. Enfeksiyon dağılım oranını etkilememek ve olası kontaminasyonu önlemek için her besin kaynağının larva ve erginleri ayrı ayrı yetiştirme kaplarında muhafaza edilmiş, besin kaynağı ve tarih bilgileri etiketlenmiştir. Toplanan böcekler en kısa sürede laboratuvara getirilerek ve dikkatlice çalışmalara başlanmıştır. Laboratuvar ortamında steril yetiştirme kaplarında muhafaza edilen böcekler oda sıcaklığında bulundurulmuşlardır.



Şekil 3.1 *Plodia interpunctella* Toplanan Bölgeler

Tez süresince yapılan arazi çalışmaları esnasında zararlının toplanabildiği lokalite ve tarihler çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1 *P. interpunctella* Popülasyonlarının Örneklemeye Yerleri ve Tarihleri

Örneklerin Toplandığı Yerler	Örneklerin Toplandığı Tarihler
Ordu	05.06.2021 14.07.2021 10.07.2022 01.08.2022
Giresun	04.07.2021 01.08.2022
Trabzon	04.07.2021 13.07.2022

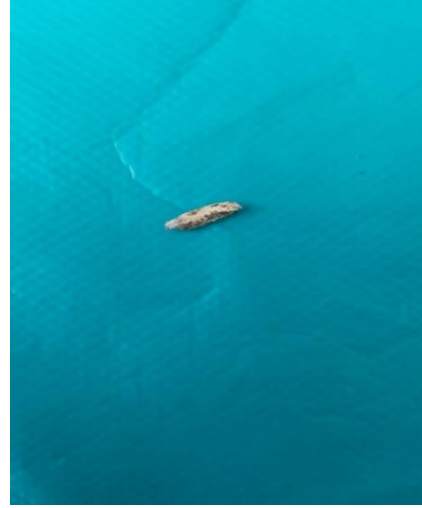
3.2 Makroskobik çalışmalar

Böcek dokularında meydana gelmiş, özellikle larvalarda deri üzerindeki renk değişiklikleri ve deforme olmuş dokular gibi gözlemlenebilen bazı makroskobik semptomlar bir entomopatojenik enfeksiyonu düşündürülebilir. Bu nedenle toplanan örnekler herhangi bir entomopatojene ait dış semptom için makroskobik olarak incelendi. Hastalık semptomu gösterenler ileri deneyler ve fotoğraflanma işlemi için ayrılmıştır (Şekil 3.2).

Tüm örnekler makroskobik incelemeden geçirilmiş ve hastalık semptomu gösterenler ileri incelemeler için ayrılmıştır.

3.3 Mikroskobik çalışmalar

P. interpunctella’nın larva ve erginlerinde enfeksiyon tespit edilen protist patojenlerin morfolojik, anatomik ve histopatolojik özelliklerini açığa kavuşturmak ve tür tespitini yapmak için bir seri ışık ve binoküler mikroskobu çalışmaları ile moleküler çalışmalar yapılmıştır.



Şekil 3.2 Makroskobik İncelemeler Sonucu Bakteriyal (a) ve Fungal (b) Enfeksiyonlardan Şüphelenilen Larvalar

3.3.1 Işık mikroskobu çalışmaları

Laboratuvar çalışmaları sonucunda elde edilen larva, pupa ve erginler hazırlanan Ringer solüsyonu içerisinde disekte edilmiştir. 8,0 g Sodyum klorür (NaCl), 0,25 g Kalsiyum klorür (CaCl_2), 0,25 g Potasyum klorür (KCl) ve 0,25 g Sodyum bikarbonat (NaHCO_3)'ın 1000 ml saf su içerisinde çözülmesiyle elde edilen Ringer solüsyonu böcek dokuları için en ideal izotonik ortamı oluşturması açısından diseksiyon işlemlerinde kullanılmaktadır. Diseksiyon; ergin böcekte abdomenin böceğin vücudundan ayrılması ile, larvada ise abdomenin son segmentinden açılan bir kesi ile gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan taze preparatlar ışık mikroskobu altında 40x'ten 1000x'e kadar olan büyütmelemlerle incelenmiştir. Enfeksiyon görülen preparatlar ışık mikroskobu kullanılarak yeniden incelenmiş, patojenlerin ve enfekte ettiği dokuların fotoğrafları çekilmiş ve karakterizasyonu için gerekli ölçümler yapılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Işık Mikroskobu Çalışmaları İçin Yapılan Hazırlıklar

3.4 Hastalık Etmenlerinin Tespit Edilmesi

3.4.1 Entomopatojenik bakterilerin tespiti

Farklı lokalitelerden toplanmış *P. interpunctella*'ya ait larva ve ergin örneklerden ölü ve sağlıklı olmayanlardan entomopatojenik bakteri izole etmek için ayrı ayrı seçilip steril tüplere konulmuştur. Tüplere konulan örneklerin yüzey sterilizasyonu %70'lik alkolle yapılmıştır (Poinar ve Thomas 1978). Bu işlemden sonra aseptik şartlarda örnekler iki kez steril saf suyla yıkanmıştır. Küçük hacimli böcekler tüplere steril saf su ilave homojen hale gelene kadar ezilmiştir. Bu işlem bittikten sonra Nutrient Agar (Merck) üzerine 100 µL ilave edilerek yayma plaka ekimi yapılmıştır. Steril tüp içerisinde kalan homojen karışım *Bacillus* türleri izole etmek için 80°C'de bir saat bekletilmiş ve Nutrient Agar üzerine 100 µL ilave edilerek yayma plaka ekimi yapıldıktan sonra 37°C'de 1-2 gün inkübasyona bırakılmıştır.

Büyük hacimli böceklerin hemosölüne steril ince uçlu enjektör ile girilerek yeterince sıvı alınarak Nutrient Agar (Merck) üzerine ilave edilerek yayma plaka ekimi yapıldıktan sonra 37°C'de 1-2 gün inkübasyona bırakılmıştır.

3.4.1.1 Saf Kùltürlerin hazırlanması

İnkübasyon sonunda Nutrient Agar (Merck) üzerinde oluşan koloniler tek tek tespit edilmiştir. Bunlar arasında koloni morfolojisine ve rengine göre birbirinden farklı olanlar belirlenmiştir ve bu koloniler alınarak çizgi ekim yöntemi ile Nutrient Agar (Merck) üzerine ekim yapılarak saf kùltürler hazırlanmıştır. Birbirlerinden morfolojik olarak farklı olan örneklere çeşitli boyama yöntemleri uygulanmıştır. Boyama sonucunda bakteri şekil ve renklerine göre ayrılan örnekler deney materyali olarak seçilmiştir. Saf kùltürleri elde edilen izolatlara laboratuvar kodu verilmiştir.

3.4.1.2 Saf kùltürlerin stoklanması

Yapılacak olan testlerde ana stok olarak kullanmak için izolatların stokları yapılmıştır. Stok için %20'lik gliserol stok hazırlanmıştır. Nutrient Broth'la hazırlanan %20'lik gliserol stoklar eppendorf tüplerine 1.50 mL koyularak 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır. Bu işlemten sonra Nutrient Agar'daki taze saf kùltürler steril öze yardımıyla tüplere inoküle edilerek -20°C'de saklanmıştır.

3.4.1.3 Bakteriyel izolatların morfolojik özelliklerinin belirlenmesi

3.4.1.4 Koloni morfolojisinin belirlenmesi

Saflaştırılan izolatlar Nutrient Agar üzerine çizgi ekim yöntemiyle ekilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sonuçlar koloni rengine ve kenar morfolojisine göre değerlendirilmiştir (Saygılı ve ark., 2006).

3.4.1.5 Basit boyama

Elde edilen izolatların hücre şekillerinin belirlenmesi amacı ile ilk olarak basit boyamalar yapılmıştır. Bu amaçla her bir izolat Nutrient Agar (Merck) besiyerine ekilerek 24 saat 37°C'ye ayarlı etüvde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra kùltürlerden bakteriyel smear hazırlanarak ve alevden geçirilmek sureti ile tespit edilmiştir. Daha sonra Kristal Viyole boya solüsyonu ilave edilip 1-2 dakika sonra, ddH₂O ile yıkanıp mikroskop altında incelenmiştir (Benson, 1985). İnceleme sonucunda izolatların hücre şekilleri belirlenmiştir.

3.4.1.6 Gram boyama

Gram boyama için her bir izolat Nutrient Agar besiyerine ekilmiş ve 37°C'ye ayarlı etüvde 16-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bakteriyel smear hazırlanmış ve alevden geçirilerek tespit edilmiştir. Gram Boyama için Merck marka gram boyama

kiti kullanılmıştır. Hazırlanan smear 1 dakika Kristal Viyole ile muamele edilerek ddH₂O ile yıkanmıştır. Kuruması beklenmeden 3 dakika Lügol ile muamele edilmiş ve alkolle yıkanmıştır. Daha sonra renk kaybını durdurmak için hemen ddH₂O ile yıkanmıştır. 30-60 saniye safranin ile muamele edilerek ve tekrar ddH₂O ile yıkanmıştır. Açık havada kurutulduktan sonra mikroskop altında incelenmeye alınmıştır. Pembe renge boyanan hücreler Gram negatif, mor renge boyanan hücreler ise Gram pozitif olarak kaydedilmiştir (Cappuccino ve Sherman 1992).

3.4.1.7 Endospor boyama

İzolatların endospor oluşturup oluşturmadığını ve varsa endosporun hücre içersindeki pozisyonunu belirlemek amacıyla, her bir izolat Nutrient Agar besiyerine ekilmiştir ve 48-72 saat 37°C'ye ayarlı etüvde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından bakteriyel smear hazırlanmış alevden geçirilerek tespit edilmiştir. Hazırlanan smearlar filtre kâğıdı ile kapatılarak, Malaşit Yeşili ile 5 dakika boyunca su buharı üzerinde boyanmış ve ddH₂O ile yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra 30-60 saniye boyunca safranin ile muamele edilip tekrar ddH₂O ile yıkanarak açık havada kurutulmuş ve mikroskop altında incelenmiştir (Cappucino ve Sherman 1992).

3.4.1.8 Kristal boyama

İzolatların *B. thuringiensis* bakterisinde bulunan kristal protein içerip içermediğini belirlemek amacıyla kristal boyama tekniği kullanılmıştır. Bu yöntem için Coomassie Brilliant Blue (%50 etanol ve %7 asetik asit solusyonu içinde %25 oranında CBB) boyası kullanılmıştır. İzolatlar Nutrient Agar besiyerine ekilmiş, 24 saat 37°C'ye ayarlı etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Smearları hazırlanan bakteriler, CBB ile boyanıp 3 dakika beklendikten sonra musluk suyu ile yıkanmıştır. Sonuçlar ışık mikroskobu ile incelenmiş, kristal proteinlerin varlığı araştırılmıştır (Fadel ve ark., 1988).

Benzer koloni ve renk morfolojisine sahip izolatlar gruplandırılmıştır ve benzerlik gösteren izolatlardan gerekli ön seçimler yapıldıktan sonra kalan tüm izolatların kesin tür teşhisleri filogenetik çalışmalar ile yapılmıştır.

3.5 Entomopatojenik fungusların tespiti

Farklı lokalitelerden toplanmış *P. interpunctella*'ya ait larva ve ergin örneklerden ölü ve sağlıklı olmayanlardan entomopatojenik fungusları izole etmek için ayrı ayrı seçilip steril tüplere konulmuştur. Tüplere konulan örneklerin yüzey sterilizasyonu %70'lik alkolle yapılmıştır Poinar ve Thomas (1978). Bu işlemden sonra aseptik şartlarda örnekler iki kez steril saf suyla yıkanmıştır. Küçük hacimli böcekler tüplere steril saf su ilave homojen hale gelene kadar ezilmiştir. Bu işlem bittikten sonra Potato Dextrose Agar (PDA) üzerine 100 µL ilave edilerek yayma plaka ekimi yapılmıştır ve fungal kültürler 25°C'de 15 gün inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen kültürlerden renk ve koloni morfolojisine bakılarak saf kültürler hazırlanmıştır (Rosovitz ve ark., 1998; Humber, 1999; Yaman, 2012).

3.5.1 Saf kültürlerin hazırlanması

İnkübasyon sonunda PDA üzerinde oluşan koloniler tek tek tespit edilerek, bunlar arasında koloni morfolojisine ve rengine göre birbirinden farklı olanlar belirlenip, bu koloniler alınarak çizgi ekim yöntemi ile PDA besiyeri üzerine ekim yapılmıştır ve saf kültürler elde edilmiştir.

Benzer koloni ve renk morfolojisine sahip izolatlar gruplandırılmıştır ve benzerlik gösteren izolatlardan gerekli ön seçimler yapıldıktan sonra kalan tüm izolatların kesin tür teşhisleri filogenetik çalışmalar ile yapılmıştır.



Şekil 3.4 Böceklerden Bakteri ve Fungusların Saflaştırılması

3.6 Bakteriyel ve Fungal İzolatların İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi

Böceklerden izole edilen mikroorganizmaların, izole edildikleri böcek üzerinde patojenik bir etkiye sahip olup olmadıkları virulans testleriyle belirlenir.

Bu testler için böceğin biyolojisi göz önünde tutularak yaşayabilecekleri uygun ortamlar hazırlanır ve sağlıklı böcekler kullanılır. In vitro şartlarda üretilen mikroorganizmaların saf kültürleri hazırlanır ve uygulanır. In vitro olarak üretilmeyen virüsler, protozoalar ve diğer mikroorganizmaların enfeksiyon numunesi, ölü ve hastalıklı böceklerden elde edilir. Böceklerin enfeksiyonu için birçok metot bilinmektedir. Bu metodlar; besin içinde enfeksiyon, kütikula içine enfeksiyon, ağız ve çevresi içine enfeksiyon, mikroorganizmaları oral ve anal açıklıklar üzerine yerleştirmek, mikrobeseleme ve mikroinfeksiyon şeklinde sıralanabilir (Lipa, 1975).

Virülans testleri (biyoassay) süresi, uygulanan mikroorganizmaya göre değişiklik göstermektedir. Bakteriler ve virüsler gibi mikroorganizmaların virulans testleri genelde 5-10 gün sürdürülürken, böceklerde kronik enfeksiyonlar oluşturan protozoaların virülans testleri birkaç ay sürdürülebilir. Virulans testleri sırasında, diğer ölüm nedenlerinin sonuçlarından, mikroorganizmaların neden olduğu ölümleri ayırmak için, ölü böceklerin diseksiyonu yapılmalı ve gerçek ölüm nedeni araştırılmalıdır (Lipa, 1975; Lacey, 1997).

Bu tez çalışmasında elde edilen entomopatojenlere ait izolatların ergin böcekler üzerine etkisini belirlemek amacıyla her bir izolat için 20 sağlıklı böcek seçilerek deney grubu oluşturulmuştur. Böceklerin aynı instarlarda olmasına dikkat edilmiştir. Çünkü aynı tür böceğin, farklı instarlardaki dönemlerde biyolojik ajanlardan etkilenme oranları da farklı olmaktadır (Çökmüş ve Younsten, 1994).

Test, uygulanan patojen türü, ölü ve hayatta kalan böceklerin varlığına dikkat edilerek 7 ila 21 gün sonunda bitirilmiştir (Kampfner, 1995). Test süresince oluşturulan deney grupları günlük olarak kontrol edilmiştir. Kontrol süresi boyunca ölen böcekler kaplardan pens yardımıyla çıkarılmıştır (Ombui ve ark., 1996). Her gün ölen böcek sayısı tespit edilerek ortalama ölüm oranları belirlenmiştir. Bu uygulama her bir izolat için üç kez tekrarlanmıştır. Yapılan uygulama için kontrol grupları da kullanılmıştır. Ölüm oranının hesaplanması için Abbott (1925) formülü kullanılmıştır.

Bioassay düzeneklerinde *P. interpunctella* larvaları fındık tabletlerle beslenmiştir. Bu fındık tabletlerin hazırlanmasında iki yöntem uygulanmıştır.

1.yöntem: %90 oranında öğütülmüş fındık ve %10 oranında buğday unu karıştırıldıktan sonra Evans ve Shapiro (1997) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek besin içerisine laboratuvar denemelerinde en yüksek insektisidal etki gösteren entomopatojenlerin süspansiyonu daha önce istatistiksel olarak belirlenmiş etkili dozajlarını içerecek şekilde 1/10 oranında katılarak blender ile homojen oluncaya kadar karıştırılmıştır. Bu karışımdan 2 x 2 mm ebatlarında besin tabletleri (=fındık tabletler) üretilmiştir.

2.yöntem: yine %90 oranında öğütülmüş fındık ve % 10 oranında buğday unu su ile karıştırıldıktan sonra 2x2 mm ebatlarında besin tabletleri (=fındık tabletler) üretilmiştir. Bu tabletler bakteri ve fungus için; sıvı besiyerine ekim yapılmış ve büyümesi sağlanmış patojen süspansiyonuna 1-2 dk daldırılıp kuruması beklenilerek, bakteri ve fungus patojenleri için ise uygun konsatrasyona ayarlanan patojen süspansiyonuna daldırılıp kuruması sağlanarak besin tabletleri (=fındık tabletler) üretilmiştir.

Bioassay düzeneklerinde larvaların instarlarına göre ayrılıp hazırlanması ilgili literatür taranarak yapılmıştır (Barrera-Illanes ve ark., 2017).

3.7 Tez Çalışmasında Elde Edilen Bakteri ve Fungusların Moleküler Çalışmaları

Moleküler çalışmalar, tespit edilen entomopatojen türüne bağlı olarak takip edilen prosedürlere göre gerçekleştirilmiştir. Öncelikle tespit edilen patojenlerden DNA izolasyonu gerçekleştirilerek hastalık etmenleri konak böcekten izole edilerek saflaştırılmıştır. Bakteriyal ve fungal hastalık entomopatojenlerden DNA izolasyonu için bu patojenlere ait agar üzerindeki saf kültürler kullanılmıştır.

3.7.1 DNA İzolasyonu

Bakteriyal ve fungal hastalık etmeni entomopatojenlerden DNA izolasyonu için bu patojenlere ait agar üzerindeki saf kültürler kullanılmıştır. Ticari DNA izolasyon kiti (QIAGEN, No: 69504) kullanılarak kit içerisinde direktiflere uygun şekilde DNA'lar izole edilmiştir.

3.7.1.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (rDNA amplifikasyonu)

Işık mikroskobu incelemeleri tamamlanan entomopatojenlerin filogenetik açıdan incelenebilmesi için önceden saflaştırılmış hücre ve spor gibi yapılarından DNA izolasyonu ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) metodu kullanılarak rDNA amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir.

DNA izolasyonu tamamlanan patojenler PZR tekniği kullanılarak türe özgü spesifik gen bölgelerinin amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. PZR çalışmalarında hastalık etmenlerinin türüne göre farklı primer setleri kullanılmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 Entomopatojenlerin rDNA Amplifikasyonunda Kullanılan Primerler

Primer	Baz dizisi 5' – 3'	Kaynak
27F	ATTCTAGAGTTTGATCATGGCTCA	Evrensel bakteri
1492R	ATGGTACCGTGTGACGGGCGGTGTGTA	Evrensel bakteri
ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	White ve diğ.
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	White ve diğ.

PZR reaksiyonları, QiagenMultiplex PCR Kit (No: 206143) kullanılarak üretici talimatlarına uygun şekilde toplam hacim 50 µl olacak şekilde ayarlanarak gerçekleştirilmiştir. Yine ticari kitin (QIAGEN Multiplex PCR Kit, No: 206143) kullanım kılavuzunda belirtildiği gibi PZR amplifikasyonları; 95°C' de 15 dakika, her

biri 45 döngü olacak şekilde 94°C’ de 30 saniye, 61°C’ de 90 saniye, 72°C’ de 90 saniye ve son döngüyü takiben son uzama reaksiyonu 72 °C’ de 10 dakika olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PZR ürünü %0.9’luk, etidyum bromür (EtBr) ilaveli agaroz jelde yürütülerek UV transilluminatörde varlığı belirlenmiştir. Varlığı belirlenen PZR ürünü, baz dizin analizine tabi tutularak ve baz dizin analiz analizine (=sekans analizi) sonuçları, NCBI (National Center for Biotechnology Information) BLAST (The Basic Local Alignment Search Tool) internet ara yüzü kullanılarak GenBank’ taki verilerle karşılaştırılarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

3.7.1.3 Bakteriyal ve Fungal Solüsyonların 16S rDNA Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Yükseltgenmesi

Bakterilerin 16S rDNA bölgesinin PZR ile yükseltgenmesi için iki farklı primer kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan primerler, gen bölgeleri ve baz dizimleri Çizelge 3.2’de verilmiştir. PZR analizinde kullanılacak primerler üretici firma tarafından verilen prosedüre uygun olarak nmol değerinin 10 katı distile su ile sulandırılarak 100 pM/µl’lik stok primer elde edilmiştir. Hazırlanan stok primerlerden PZR’da kullanmak için 10 pM/µl’lik primerler oluşturulmuştur.

Yükseltgenme işlemi için öncelikle 0.2 ml’lik PZR tüpleri örneklerle göre adlandırılmıştır. Örneklerle ek olarak olası bir kontaminasyon durumları için bir negatif (-) kontrol, PZR işlemi sırasında oluşabilecek hatalar için de bir pozitif (+) kontrol oluşturulmuştur. Bakteriler için 23x şeklinde funguslar için 15x şeklinde karışım hazırlanmıştır Çizelge. Bu karışım daha sonra elimizdeki DNA sayısı, bir negatif (-) kontrol, bir pozitif (+) kontrol ve hata payı olacak şekilde PZR tüplerine bölüştürülmüştür. Daha sonra örneklerin üzerine 10’ar ml DNA, negatif ve pozitif kontrolün üzerine 10 ml ddH₂O (ultra saf steril su) eklenerek kısa vorteksin ardından çok kısa santrifüj edilip içlerinde hava kabarcığı kalmayacak şekilde kontrol edilip Techne TC-Plus markalı Thermal Cycle cihazına (şekil 3.12) yerleştirilmiştir.



Şekil 3.5 Techne TC-Plus markalı Thermal Cycle cihazı

Çizelge 3.3 PZR için Hazırlanan Karışım İçeriği

İçerik	Bakteri		Fungus
	1X (µl)	23X (µl)	15X
Mastermix	20	40	30
Primer Forward	4	92	60
Primer Reverse	4	92	60
ddH ₂ O	2	46	30
Kalıp DNA	10	-	-
TOPLAM	40	-	-

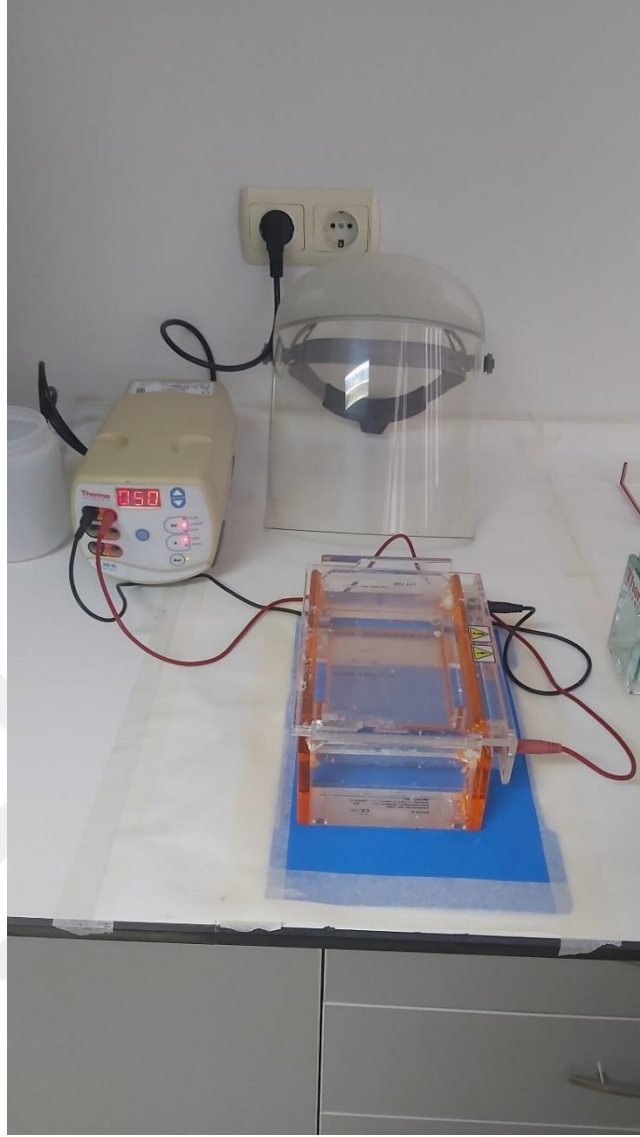
PZR tüplerine konan bakteri ve fungus örnekleri aşağıda verilen tabloya göre planlanmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4 PZR Koşullarını Gösteren Tablo

Aşamalar	Sıcaklık	Süre	Döngü
İlk Denatürasyon	95°C	3 dk	1
Denatürasyon	95°C	45 saniye	34
Eşlenme	54°C	45 saniye	
Uzama	72°C	2 dk	
Son uzama	72°C	5 dk	1

3.7.1.4 Çoğaltılan 16S rDNA Bölgesinin AgaroZ Jel Elektrofözeziyle İncelenmesi

PZR sonucu elde ettiğimiz ürünün gözlemlenebilmesi için %0.8'lik agaroz jelde elektroföze işlemine geçilmiştir. İlk olarak hassas terazide 0.8 g agaroz (Sigma A9530-100G) tartılarak üzerine 1xTBE (Tris Borat EDTA tamponu) buffer ilave edilip ısıtılmış, homojen olarak karışması sağlanmış ve 100 ml'lik agaroz jel hazırlanmıştır. Isıtıcıdan aldığımız karışımın hafif ılımasının ardından üzerine 4µl ethidium bromide ilave edilmiş ve karışması sağlanmıştır. Daha sonra hazırlanan jel, içerisine örnek sayısına uygun olacak şekilde kuyu açıcı tarak yerleştirilen elektroföze (Thermo Scientific EC300XL2-B1) tankına (Şekil 3.6) içerisinde hava kabarcığı kalmayacak şekilde boşaltılmış ve donmaya bırakılmıştır. Donan jel, TBE ile doldurulmuş olan tank içerisine yerleştirilmiş, üzerine bir miktar daha 1xTBE buffer ilave edilerek yerleştirilen tırağın jele zarar vermeden çıkarılması sağlanmıştır. Ardından PZR'dan çıkarttığımız DNA'lardan 10 µl, 2 µl Orange Blue (Loading Dye) boyası ile güzelce karıştırılarak sırasıyla kuyucuklara yüklenmiştir. Yükleme işleminden sonra örnekler, elektroföze (Şekil 3.6) 100 voltta 60 dk yürütölmüş ve görüntölenmek üzere UV görüntöleme sistemine (Quantum-ST4 1100/26MX) (Şekil 3.6) aktarılmıştır. Jele UV ışık altında bakılmış ve oluşan bantların değeriendirilmesi yapılarak DNA'nın görüntüsünün fotoğrafı çekilip, kayıt altına alınıp, sonra termal yazıcıdan (Sony Corporation) (Şekil 3.6) çıktısı alınmıştır. Tüm uygulanan prosedürler sonucunda DNA varlığı belirlenmiş, istenilen şekilde bant veren örnekler DNA sekans analizi için ayrılarak -20°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.6 Genomik DNA ve PZR Ürünlerinin
Elektroforetik İncelemelerinin Yapıldığı
Elektroforez Cihazı



Şekil 3.7 UV Görüntüleme Sistemi

3.8 DNA Sekans Analizi

Tez çalışmamızda elde ettiğimiz PZR ürünlerinin sekans analizi Medsantek (Ankara) firmasına gönderilerek yapılmıştır. İzolatlar, PZR’de kullandığımız primer çiftleri ile iki yönlü olarak çalışılmıştır.

3.9 Filogenetik Analizler

Sekans analizi yapılan entomopatojenleri diğer entomopatojenlerle karşılaştırmak için baz dizi analizleri yapıldı. Analizler her entomopatojen için ayrı ayrı yapılmıştır. Belirlenen baz dizisindeki protist entomopatojenlerin %G+C içeriği Fast PCR programı kullanılarak tespit edilmiştir ve baz indeks sonuçları, NCBI (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi) BLAST (Temel Yerel Hizalama Arama Aracı) ara yüzündeki diğer kayıtlarla karşılaştırılmıştır.

DNA dizileme, her iki zincir üzerinde PZR yükseltgenmeleri için kullanılan primerler ile yapılmıştır. Analizler sonucu elde edilen ham diziler ABI dosya formatındaki kromotogramlara göre düzenlenmiş ve BioEdit (Hall, 1999) programı kullanılarak birleştirilmiştir. Elde edilen genotiplerin hangi bakteri ve fungus cinsine ait olduğunun belirlenmesi için BLAST (Basic Local Alignment Search Tool- <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) uygulaması kullanılmıştır.

Genotiplerin cins içerisindeki hangi türe ait olduğunun belirlenebilmesi için filogenetik analizlerden faydalanılmıştır. Filogenetik analizler için veri seti oluşturulması mevcut literatür bilgilerine göre yapılmıştır. İlgili genotipler NCBI (National Center for Biotechnology Information) veri tabanından indirilmiştir. Elde ettiğimiz yeni genotipler ile veri setindeki genotiplerin homolog bazlarını hizalamak için Clustal X (Thompson ve ark., 1997) modülü kullanılmıştır.

İzolatlar arasındaki evrimsel ilişkinin belirlenmesinde Maksimum-Likelihood (ML) algoritması kullanılmıştır. ML için Mega 10 programı kullanılarak filogenetik ağaçlar çizilmiştir.

Ağaçlardaki elde edilen filogenetik ilişkilerin güvenilirlik derecesini belirlemek için Bootstrap testleri (Efron, 1982; Felsenstein, 1985) yapılmıştır. Bu test her algoritma için 1000 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Haplotipler arası nükleotid dizi benzerlik oranını hesaplamak için Bioedit programı ve DNA Sequence Polymorphism (DnaSP) analizi kullanılmıştır.

3.10 Laboratuvar Koşullarında Etkili Olan Entomopatojenlerin Temsili Depo Koşullarında İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi

DNA izolasyonu ve filogeni çalışmaları sonucu *P. interpunctella*'da tespit edilen ve laboratuvar koşullarında etkili olan bakteriler ve funguslar temsili depo ortamında *P. interpunctella* ergin bireylerine karşı test edilmiştir. Bunun için %90 oranında öğütülmüş fındık %10 oranında buğday unu içerecek şekilde karıştırıldıktan sonra Evans ve Shapiro (1997) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek besin içerisine bakteri ve fungus izolatları uygun süspansiyonu daha önce istatistiksel olarak belirlenmiş etkili dozajlarını içerecek şekilde 1/10 oranında katılarak blender ile homojen oluncaya kadar karıştırılmıştır. Bu karışımdan 90x15 mm ebatlarında dairesel besin tabletleri üretilmiştir (Şekil 3.9). Deneyin kontrol grubu için ise distile su ile hazırlanmış fındık tabletler kullanılmıştır.

İzole edilen bakteri ve fungusların alan denemeleri yapılmıştır. Bunun için 125 metre uzunluğunda ahşap çiteler kestirilmiş ve tam kare bir yapı elde edilmiştir. Bu tam kare olan yapının etrafına *Plodia interpunctella* erginlerinin içinden geçip kaçamayacağı kadar küçük aralıklar ihtiva eden tüller ile kapatılmıştır.

İzole edilen bakteri ve fungusların alan denemeleri yapılmıştır. Bunun için 125 metre uzunluğunda ahşap çiteler kestirilmiş ve tam kare bir yapı elde edilmiştir. Bu tam kare olan yapının etrafına *Plodia interpunctella* erginlerinin içinden geçip kaçamayacağı kadar küçük aralıklar ihtiva eden tüller ile kapatılmıştır (Şekil 3.8)

Oluşturulan deney düzeneğinin içine sıfır günlük pupadan yeni çıkmış yaklaşık 250-300 adet *P. interpunctella* ergini bırakılmıştır. Besin tabletleri uygulanacak bakteri ve fungus izolatlarıyla muamele edilerek deney düzeneğinin içine numaralandırma metodu ile bırakılmıştır. Kontrol için su le muamele edilmiş tablet konulmuştur (Şekil 3.9).



Şekil 3.8 Temsili Alan Denemeleri İçin Oluşturulan Deney Düzeneği



Şekil 3.9 Deney Düzeneği İçine Yerleştirilmiş Fındık Tabetleri

3.11 İstatiksel Analiz

Türkiye’de farklı lokalitelerden elde edilen ve izole edilmiş bakteri ve mantar izolatları *Plodia interpunctella* larvaları üzerinde denenmiş ve veriler kaydedilmiştir. Ayrıca bu gruplar için kontrol grubu da oluşturulmuş ve verileri kaydedilmiştir. İzole edilmiş bakteri ve mantar izolatlarının patojenite etkilerine; dozun, izolatların ve farklı doz solüsyonu içeriğinin etkisinin olup olmadığı tek yönlü Anova testi ile araştırılmıştır. LD50 ve LD90 değerlerinin hesaplanmasında, probit analiz programı kullanılmış, bu değerlerin karşılaştırılmasında ise t testi uygulanmıştır. İzolatlar ise kendi arasında LSD testi ile karşılaştırılmış ve Tukey Hsd analizi kullanılarak yorumlar yapılmıştır

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Entomopatojenik Bakteriler

Yapılan çizgi ekim ve saflaştırma çalışmaları sonrası 9 adet bakteri ve 4 adet fungus tespit edilmiştir. Morfolojik bilgileri aşağıdaki tabloda sunulmaktadır (Çizelge 4.1).

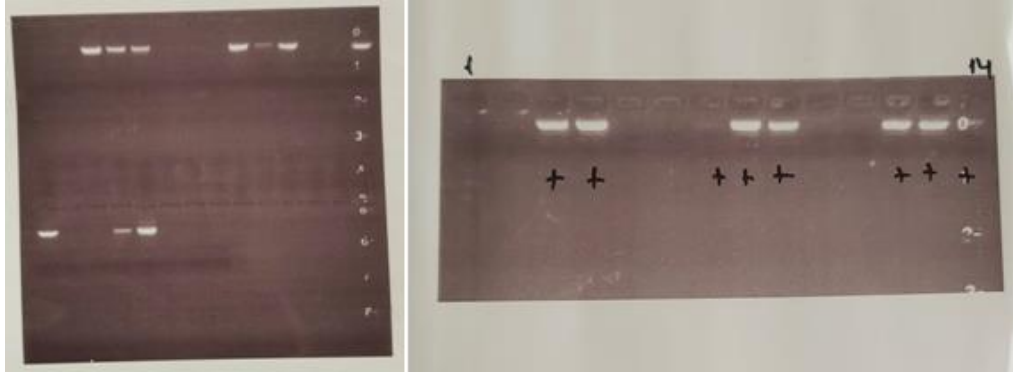
Çizelge 4.1 İzole Edilen Bakteri ve Fungusların Morfolojik Özellikleri

Mikroorganizma Adı	Lokalite	Gram	Spor	Bakteri şekli	Koloni şekli	Koloni rengi
<i>Bacillus licheniformis</i>	İç doku	+	+	Çubuk	Pürüzlü	Krem rengi
<i>Bacillus cereus</i>	İç doku	+	+	Çubuk	Düzensiz yapı	Beyaz
<i>Bacillus pumilus</i>	İç doku	+	+	Çubuk	Yuvarlak	Kirli beyaz
<i>Bacillus firmus</i>	İç doku	+	+	Çubuk	Yuvarlak	Kirli beyaz
<i>Bacillus stratosphericus</i>	İç doku	+	+	Çubuk	Düzensiz yapı	Sarımsı
<i>Bacillus zhanghouensis</i>	İç doku	+	+	Çubuk	Düzensiz yapı	Kirli beyaz
<i>Methylobacterium sp.</i>	İç doku	-	-	Çubuk		Pembe
<i>Actinomucor elegans</i>	İç doku					
<i>Aspergillus flavus</i>	İç doku					
<i>Aspergillus fumigatus</i>	İç doku					

4.1.2 Entomopatojenik Bakterilerin Karakterizasyonu

Moleküler karakterizasyonlar için, izole edilen entomopatojenlerden DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA izolasyonu tamamlandıktan sonra PZR tekniği kullanılarak türe özgü spesifik gen bölgelerinin amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir ve bakterilerin SSUrRNA gen bölgesi çoğaltılarak, sekans analizleri yapılmıştır. PZR

reaksiyonu sonucu elde edilen PZR ürünleri jelde teyit edildikten sonra (Şekil 4.1, 4.2) sekans analizine gönderilmiştir.



Şekil 4.1 Bakterilerden Elden Edilmiş Olan DNA'lardan Yapılan PCR Çalışması Sonucunda Alınmış Olan Çoklu Bant Görüntüleri



Şekil 4.2 İzolatların 16S rDNA Nükleotid Dizilemelerine Ait Kromatogram Görüntülerinden Bir Kesit

Sekans sonuçlarına göre de elde edilen bakterilerin filogenetik ilişkileri incelenmiştir.

4.1.3 Tespit Edilen Patojen Bakterilerin Filogenisi

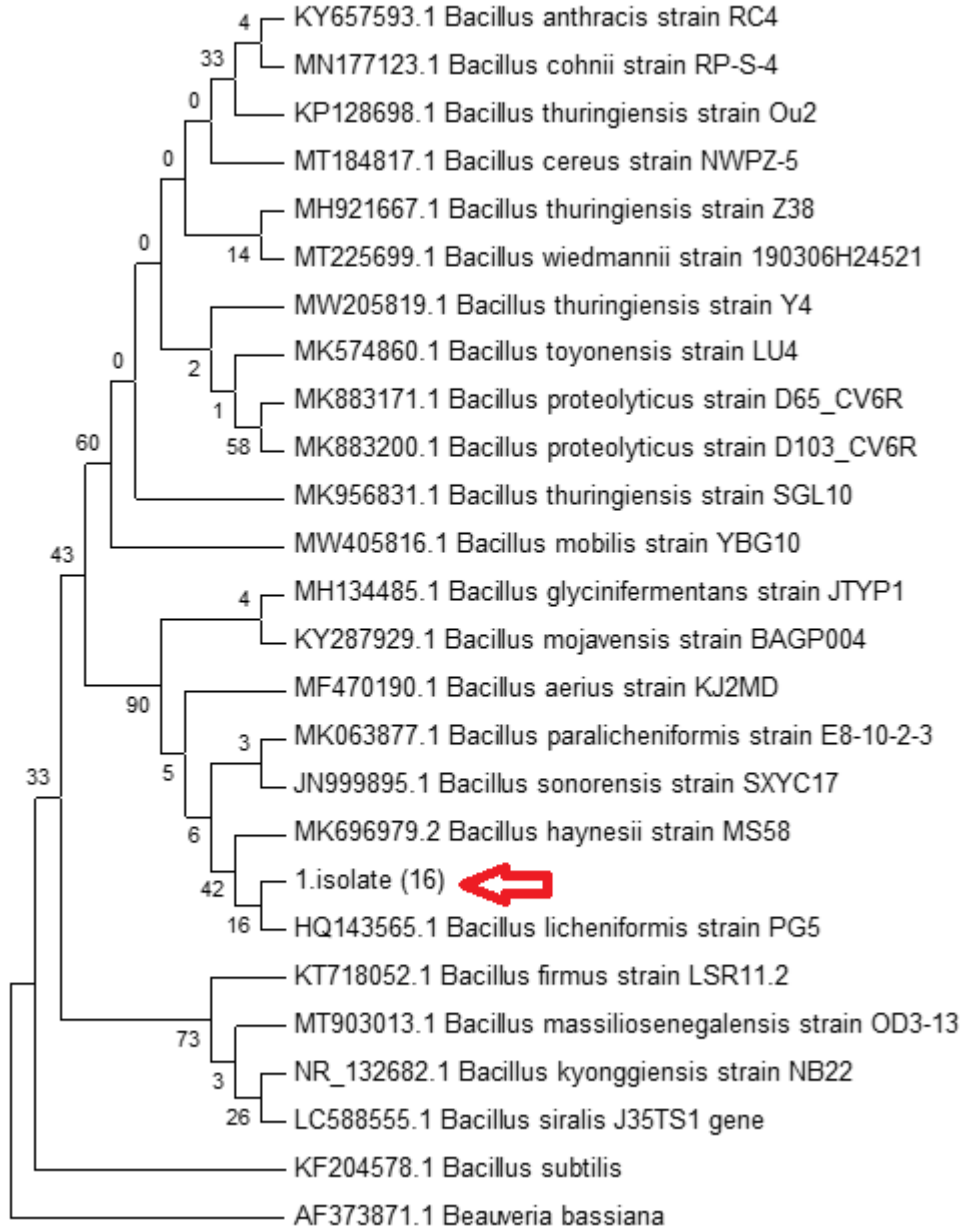
DNA izolasyonu ve sekans analizi sonuçlarına göre;

Ordu'dan 9 farklı patojen bakteri tespit edilmiştir (isolate 1-29 arasında isimlendirilmiştir). Bu bakterilere ait baz indeks sonuçları, NCBI (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi) BLAST (Temel Yerel Hizalama Arama Aracı) ara

yüzündeki diğer kayıtlarla karşılaştırılmıştır. Tüm izolatların ilgili türleri arasındaki 16S r RNA ve ITS gen bölgelerine göre nükleotid dizisi benzerlik yüzdeleri ekler kısmında verilmiştir.

Çizelge 4.2 Ordu'dan Tespit Edilen Patojen Bakterinin (İzolat 1) Filogenetik Analizinde Kullanılan SSU rRNA Dizileri ve GenBank Erişim Numaraları

Erişim No	Organizma adı
KY657593.1	<i>Bacillus anthracis</i>
MN177123.1	<i>Bacillus cohnii</i>
KP128698.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
MT184817	<i>Bacillus cereus</i>
MH921667.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
MT225699.1	<i>Bacillus wiedmannii</i>
MW205819.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
MK574860.1	<i>Bacillus toyonensis</i>
MK883171.1	<i>Bacillus proteolyticus</i>
MK883200.1	<i>Bacillus proteolyticus</i>
MK956831.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
NR_116487.1	<i>Salinarimonas rosea</i>
MW405816.1	<i>Bacillus mobilis</i>
MH134485.1	<i>Bacillus glycinifermentans</i>
KY287929.1	<i>Bacillus mojavenis</i>
MF470190.1	<i>Bacillus aerius</i>
MK063877.1	<i>Bacillus paralicheniformis</i>
JN999895.1	<i>Bacillus sonorensis</i>
MK696979.1	<i>Bacillus haynesii</i>
HQ143565.1	<i>Bacillus licheniformis</i>
KT718052.1	<i>Bacillus firmus</i>
MT903013.1	<i>Bacillus massiliosenegalensis</i>
NR_132682.1	<i>Bacillus kyonggiensis</i>
LC588555.1	<i>Bacillus siralis</i>
KF204578.1	<i>Bacillus subtilis</i>
LC466917.1	<i>Uncultured Methylobacterium sp.</i>
AF373871.1	<i>Bauveria bassiana</i>
<i>Bacillus licheniformis</i>	



Şekil 4.3 16S SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konaklardan İzole Edilen Entomopatojen Bakteri Türleri Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ok ile Gösterilen İzolate 1 Olarak İsimlendirilmiş Bakteri *Bacillus licheniformis* Olarak Tespit Edilmiştir. Ağaç, Kimura 2 parametre Mesafesi Kullanılarak Maximum Likelihood Method ile Oluşturulmuş ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap ile Değerlendirilmiştir. Analizde Dış Grup Olarak *Beauveria bassiana* Kullanılmıştır.

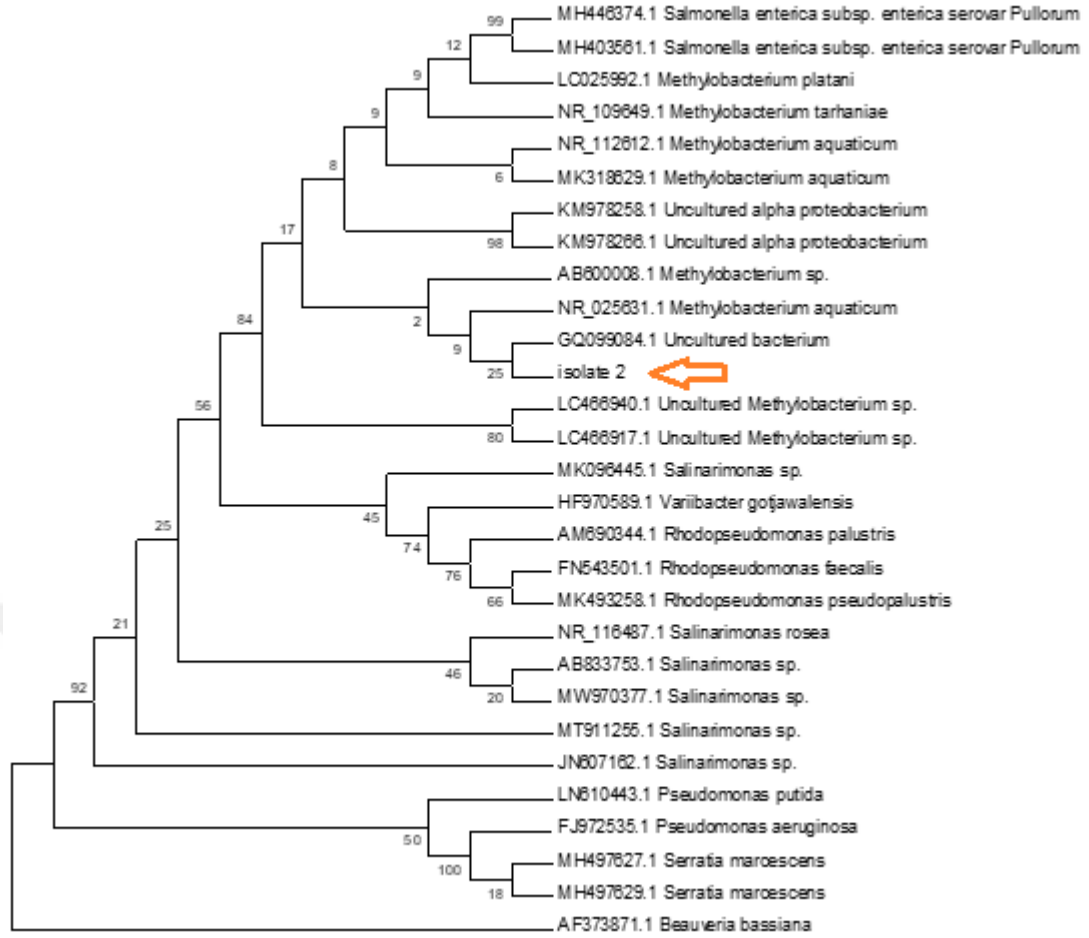
Çizelge 4.3 Ordu'dan Tespit Edilen Patojen Bakterinin (İzolat 2) Filogenetik Analizinde Kullanılan SSU rRNA Dizileri ve GenBank Erişim Numaraları

Erişim No	Organizma adı
NR_112612.1	<i>Methylobacterium aquaticum</i>
NR_025631.1	<i>Methylobacterium aquaticum</i>
MK318629.1	<i>Methylobacterium aquaticum</i>
LC025992.1	<i>Methylobacterium platani</i>
AB600008.1	<i>Methylobacterium sp.</i>
NR_109649.1	<i>Methylobacterium tarhaniae</i>
FJ972535.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
LN610443.1	<i>Pseudomonas putida</i>
FN543501.1	<i>Rhodopseudomonas faecalis</i>
AM690344.1	<i>Rhodopseudomonas palustris</i>
MK493258.1	<i>Rhodopseudomonas pseudopalustris</i>
NR_116487.1	<i>Salinarimonas rosea</i>
MK096445.1	<i>Salinarimonas sp.</i>
JN607162.1	<i>Salinarimonas sp.</i>
AB833753.1	<i>Salinarimonas sp.</i>
MT911255.1	<i>Salinarimonas sp.</i>
MW970377.1	<i>Salinarimonas sp.</i>
MH446374.1	<i>Salmonella enterica subsp. enterica</i> serovar Pullorum
MH403561.1	<i>Salmonella enterica subsp. enterica</i> serovar Pullorum
MH497627.1	<i>Serratia marcescens</i>
MH497629.1	<i>Serratia marcescens</i>
KM978258.1	Uncultured alpha proteobacterium
KM978266.1	Uncultured alpha proteobacterium
GQ099084.1	Uncultured bacterium
LC466940.1	Uncultured <i>Methylobacterium sp.</i>
LC466917.1	Uncultured <i>Methylobacterium sp.</i>
HF970589.1	<i>Variibacter gotjawalensis</i>
<i>Methylobacterium sp.</i>	

Mega 10 programı yardımıyla 1000 bootstrap ve GTR+G evrim modeli kullanılarak yapılan MaximumLikelihood analizi sonuçlarına göre, analiz edilen tüm verilerin genel olarak tek ana grup altında *Methylobacterium* sp. toplandığı görülmektedir (Şekil 4.18).

Sekans analizinden aldığımız verilere göre gen dizi benzerliği yakın olan türler *Methylobacterium* sp. ve NCBI (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi) BLAST (Temel Yerel Hizalama Arama Aracı) ara yüzündeki benzerliklerin *Methylobacterium* sp. türleri ile yüksek derecede benzer olduğu bulunmuştur (Şekil 4.18). Sonuç olarak filogenetik durum, Ordu'dan tespit edilen bakterinin *Methylobacterium* grubunun bir türü olduğunu göstermekte olup bu tür *Methylobacterium* sp. olarak tanımlanmıştır.



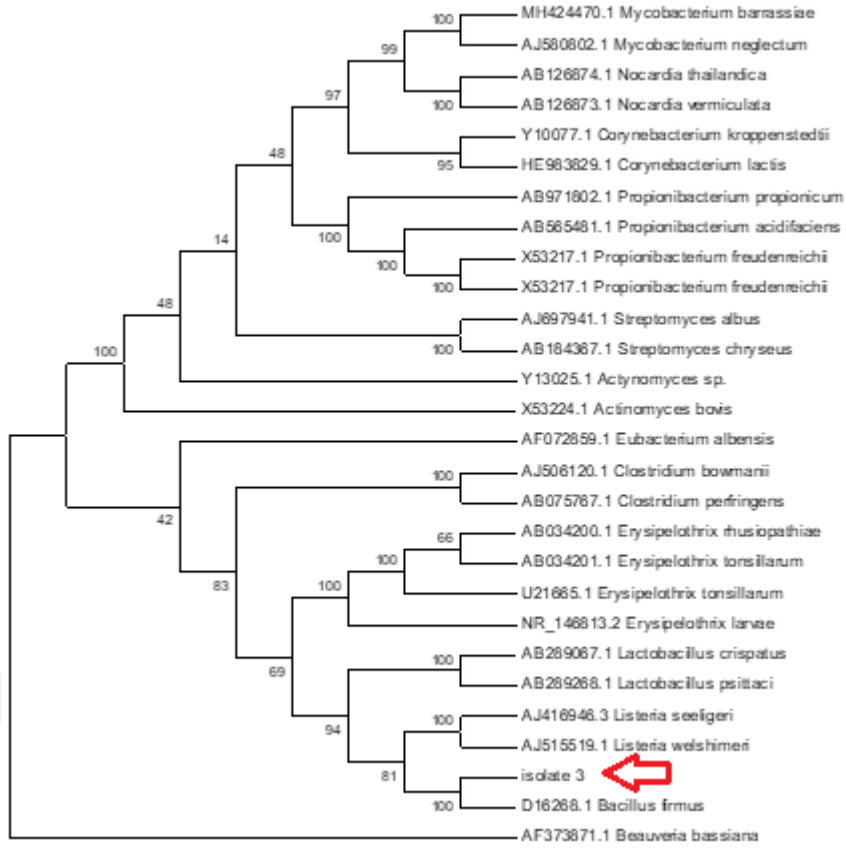


Şekil 4.4 16S SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konaklardan İzole Edilen Entomopatojen Bakteri Türleri Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ok ile Gösterilen İzolat 2 Olarak İsimlendirilmiş Bakteri *Methylobacterium* sp Olarak Tespit Edilmiştir. Ağaç, Kimura 2 Parametre Mesafesi Kullanılarak Maximum Likelihood Method ile Oluşturulmuş ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap ile Değerlendirilmiştir. Analizde Dış Grup Olarak *Beauveria bassiana* Kullanılmıştır.

Benzer çalışma Ordu'dan izole edilen izolat 3 (*Bacillus firmus*) için de yapılmıştır. İzolat 3'ün filogenetik analizinde kullanılan SSU rDNA dizileri ve GenBank erişim numaraları Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4 İzolat 3 (*Bacillus firmus*)’un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları

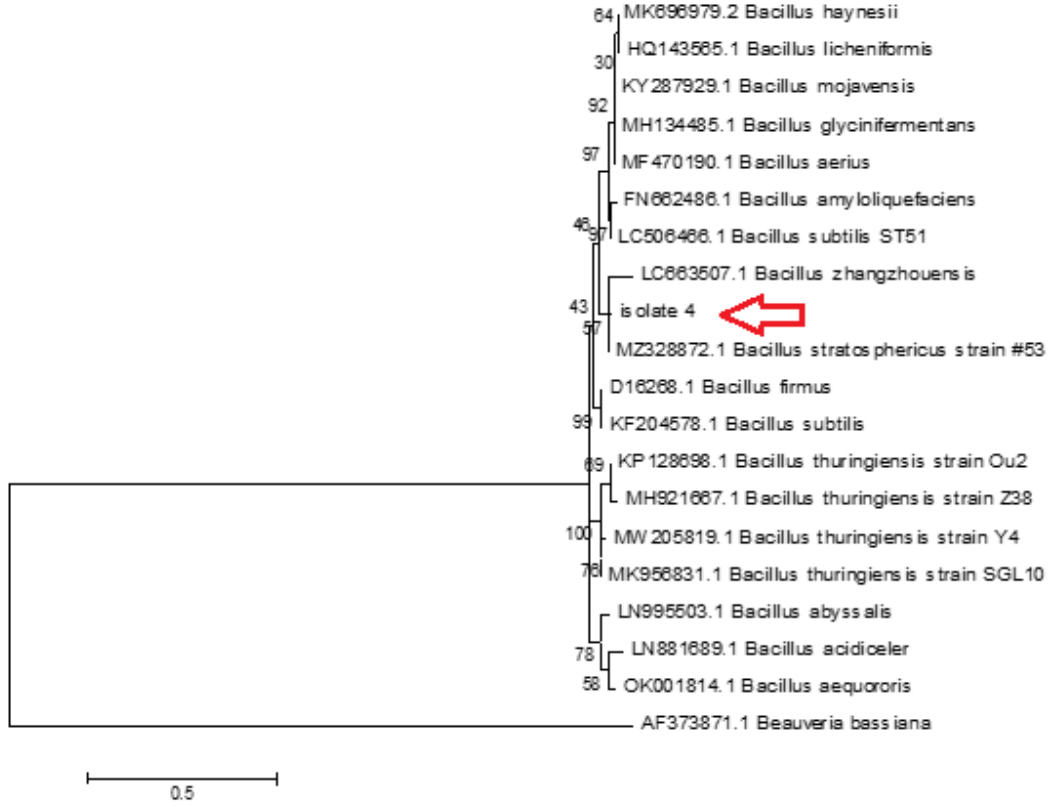
Erişim No	Organizma adı
Mh424470	<i>Mycobacterium barrasiae</i>
AJ580502	<i>Mycobacterium neglectum</i>
AB126874	<i>Nocardia thailandica</i>
AB126873	<i>Nocardia vermiculata</i>
Y10077	<i>Corynebacterium kroppenstedtii</i>
HE983829	<i>Corynebacterium lacteis</i>
AB971802	<i>Propioni bacterium propinium</i>
AB565481	<i>Propioni bacterium acidifaciens</i>
X53217	<i>Propioni bacterium freudenreichii</i>
AJ697941	<i>Streptomyces albus</i>
AB184367	<i>Streptomyces chryseus</i>
Y13025	<i>Actinomyces sp.</i>
X53224	<i>Actinomyces bovis</i>
AF072859	<i>Eubacterium albensis</i>
AJ506120	<i>Clostridium bowmanii</i>
AB075767	<i>Clostridium perfringens</i>
AB034200	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>
AB034201	<i>Erysipelothrix tonsillarum</i>
U21665	<i>Erysipelothrix tonsillarum</i>
NR_146813	<i>Erysipelothrix larvae</i>
AB289064	<i>Lactobacillus crispatus</i>
AB289268	<i>Lactobacillus prittaci</i>
AJ416946.3	<i>Listeria seeligeri</i>
AJ515519.1	<i>Listeria welshimeri</i>
D16268	<i>Bacillus firmus</i>
<i>Bacillus firmus</i>	



Şekil 4.5 16S SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen *Bacillus* Türleri Arasındaki ve *Bacillus firmus* Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ok ile gösterilen İzolate 2 olarak isimlendirilmiş bakteri *Bacillus firmus* Olarak Tespit Edilmiştir. Ağaç, Kimura 2 parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. Dış Grup Olarak *Bauveria bassiana* Seçilmiştir.

Çizelge 4.5 İzolat 4 (*Bacillus stratosphericus*)'un
Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank
Erişim Numaraları

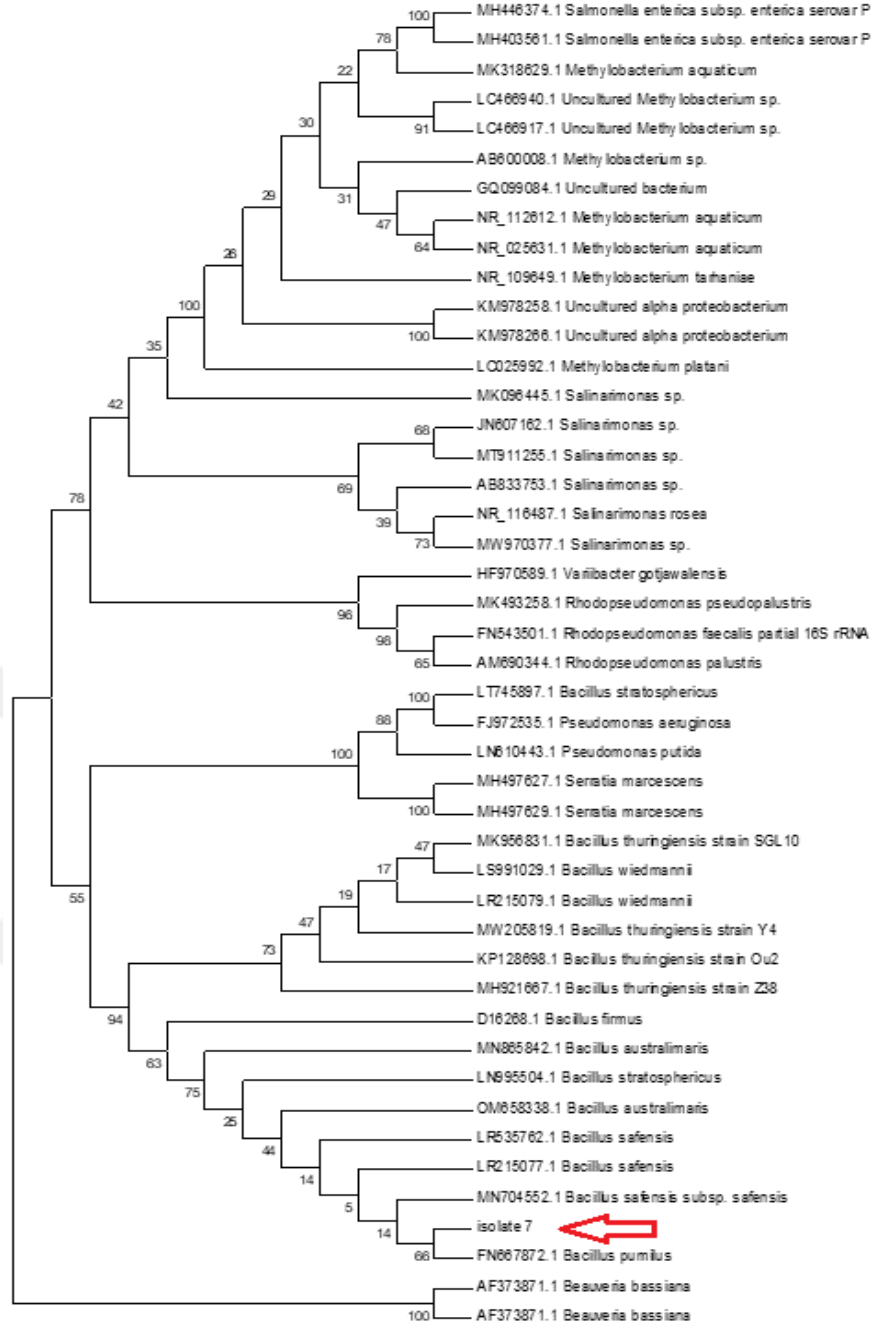
Erişim No	Organizma adı
MH134485.1	<i>Bacillus glycinifermentans</i>
MK696979.2	<i>Bacillus haynesii</i>
HQ143565.1	<i>Bacillus licheniformis</i>
KY287929.1	<i>Bacillus mojavensis</i>
FN662486.1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
MF470190.1	<i>Bacillus aerius</i>
LC663507.1	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>
AJ831841.2	<i>Bacillus stratosphericus</i>
D16268.1	<i>Bacillus firmus</i>
LC506466.1	<i>Bacillus subtilis</i>
KF204578.1	<i>Bacillus subtilis</i>
KP128698.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
MW205819.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
MH921667.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
MK956831.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
LN881689.1	<i>Bacillus acidiceler</i>
OK001814.1 x	<i>Bacillus aequororis</i>
LN995503.1	<i>Bacillus abyssalis</i>
<i>Bacillus stratosphericus</i>	



Şekil 4.6 16S SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen *Bacillus* Türleri Arasındaki ve *Bacillus stratosphericus* Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ok ile Gösterilen İzolate 4 Olarak İsimlendirilmiş Bakteri *Bacillus stratosphericus* Olarak Tespit Edilmiştir. Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. Dış Grup Olarak *Bauveria bassiana* Seçilmiştir.

Çizelge 4.6 İzolat 7 (*Bacillus pumilus*)’un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları

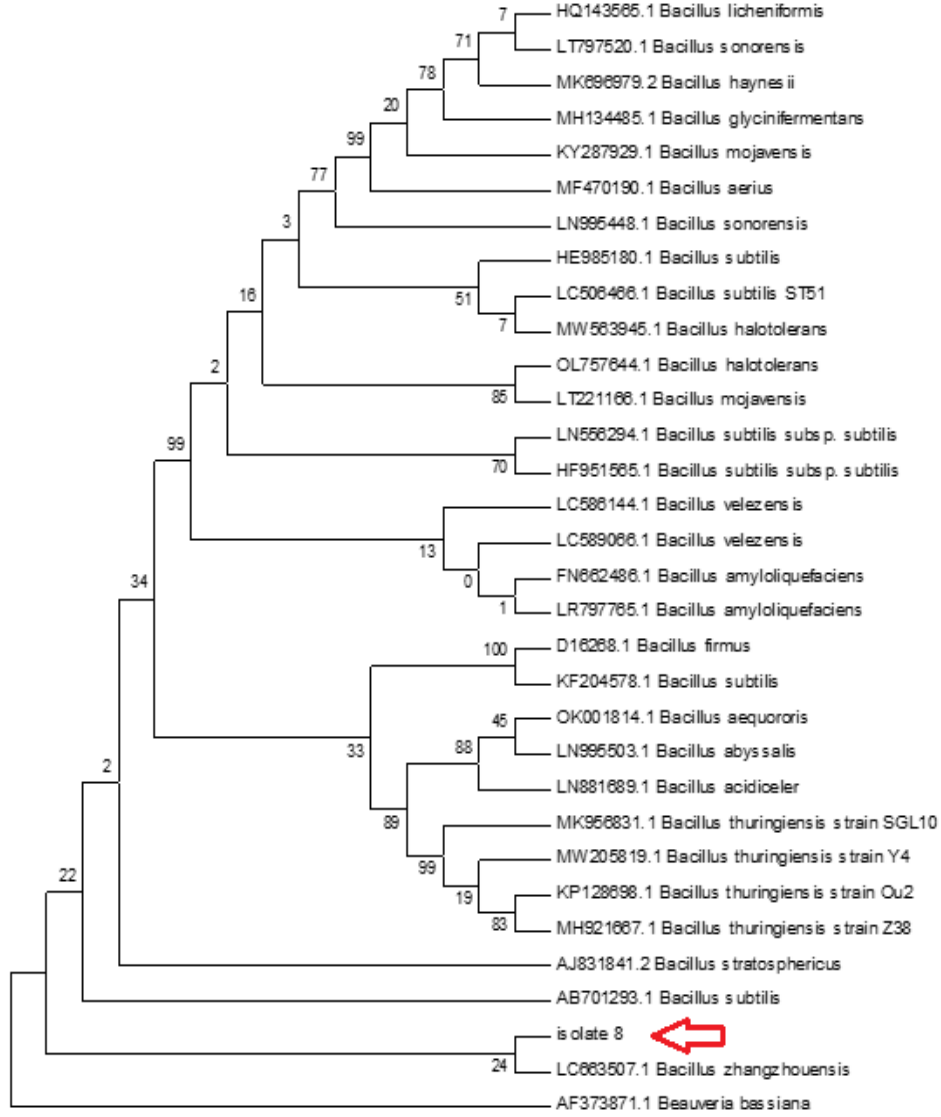
Erişim No	Organizma adı	Erişim No	Organizma adı
D16268.1	<i>Bacillus firmus</i>	MK493258.1	<i>Rhodopseudomonas pseudopalustris</i>
KP128698.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>	NR_116487.1	<i>Salinarimonas rosea</i>
MW205819.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MK096445.1	<i>Salinarimonas</i> sp.
MH921667.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>	JN607162.1	<i>Salinarimonas</i> sp.
MK956831.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>	AB833753.1	<i>Salinarimonas</i> sp.
MK956831.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MT911255.1	<i>Salinarimonas</i> sp.
OM658338.1	<i>Bacillus australimaris</i>	MW970377.1	<i>Salinarimonas</i> sp.
MN865842.1	<i>Bacillus australimaris</i>	MH446374.1	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>Pullorum</i>
FN667872.1	<i>Bacillus pumilus</i>	MH403561.1	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>Pullorum</i>
LR535762.1	<i>Bacillus safensis</i>	MH497627.1	<i>Serratia marcescens</i>
LR215077.1	<i>Bacillus safensis</i>	MH497629.1	<i>Serratia marcescens</i>
MN704552.1	<i>Bacillus safensis</i> subsp. <i>safensis</i>	KM978258.1	Uncultured alpha proteobacterium
LN995504.1	<i>Bacillus stratosphericus</i>	KM978266.1	Uncultured alpha proteobacterium
LT745897.1	<i>Bacillus stratosphericus</i>	GQ099084.1	Uncultured bacterium
LS991029.1	<i>Bacillus wiedmannii</i>	LC466940.1	Uncultured <i>Methylobacterium</i> sp.
LR215079.1	<i>Bacillus wiedmannii</i>	LC466917.1	Uncultured <i>Methylobacterium</i> sp.
NR_112612.1	<i>Methylobacterium aquaticum</i>	HF970589.1	<i>Variibacter gotjawalensis</i>
NR_025631.1	<i>Methylobacterium aquaticum</i>		
<i>Bacillus pumilus</i>			



Şekil 4.7 16S SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen *Bacillus* Türleri Arasındaki ve *Bacillus pumilus* Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ok ile Gösterilen İzolate 7 Olarak İsimlendirilmiş Bakteri *Bacillus pumilus* Olarak Tespit Edilmiştir. Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. Dış Grup Olarak *Bauveria bassiana* Seçilmiştir.

Çizelge 4.7 İzolat 8 (*Bacillus zhangzhouensis*)’un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları

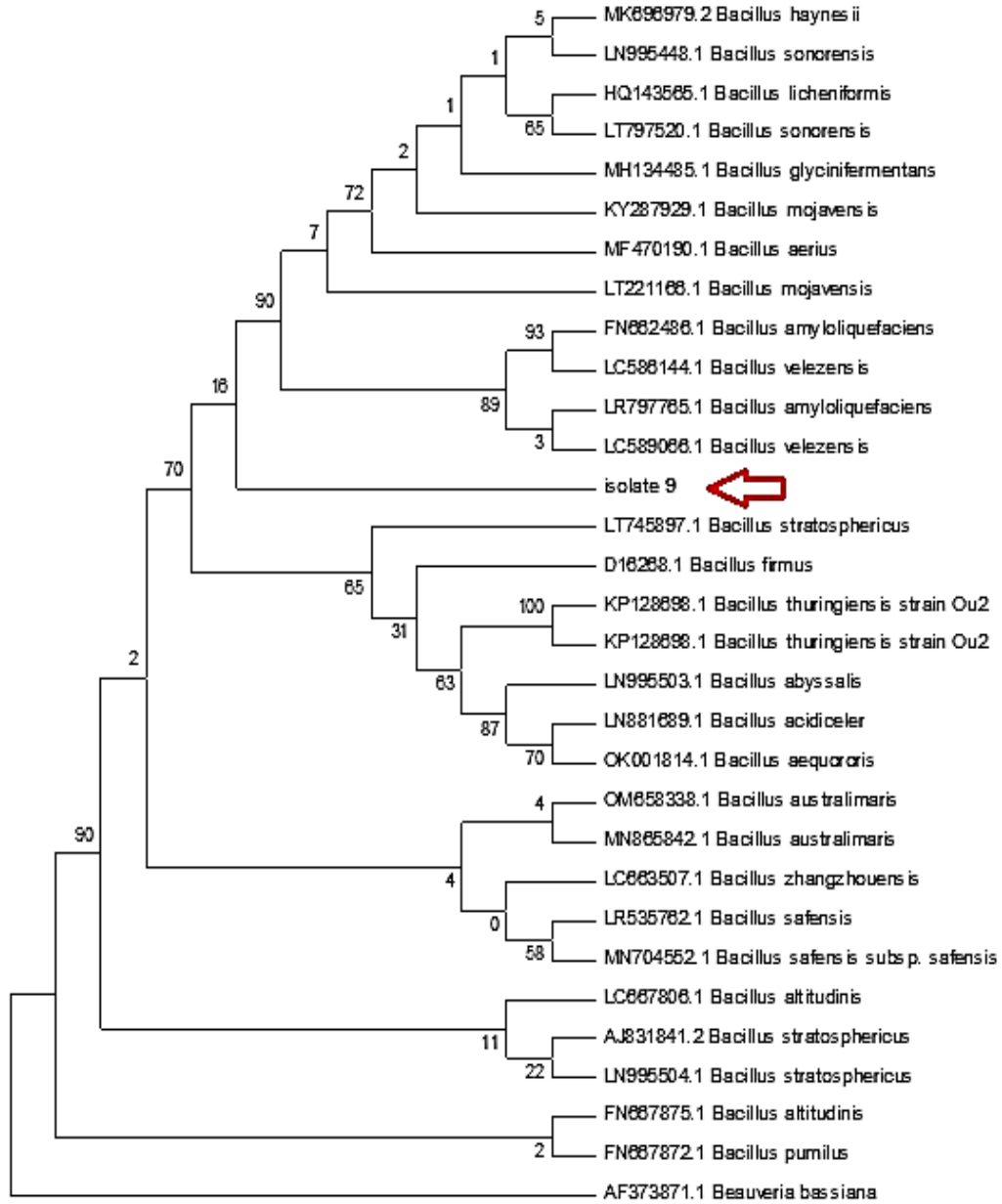
Erişim No	Organizma adı
MH134485.1	<i>Bacillus glycinifermentans</i>
MK696979.2	<i>Bacillus haynesii</i>
HQ143565.1	<i>Bacillus licheniformis</i>
KY287929.1	<i>Bacillus mojavensis</i>
FN662486.1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
MF470190.1	<i>Bacillus aerius</i>
LC663507.1	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>
AJ831841.2	<i>Bacillus stratosphericus</i>
D16268.1	<i>Bacillus firmus</i>
LR797765.1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
KF204578.1	<i>Bacillus subtilis</i>
KP128698.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
MW205819.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
MH921667.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
MK956831.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
LN881689.1	<i>Bacillus acidiceler</i>
OK001814.1	<i>Bacillus aequororis</i>
LN995503.1	<i>Bacillus abyssalis</i>
OL757644.1	<i>Bacillus halotolerans</i>
MW563945.1	<i>Bacillus halotolerans</i>
LT221166.1	<i>Bacillus mojavensis</i>
LT797520.1	<i>Bacillus sonorensis</i>
LN995448.1	<i>Bacillus sonorensis</i>
AB701293.1	<i>Bacillus subtilis</i>
HE985180.1	<i>Bacillus subtilis</i>
LN556294.1	<i>Bacillus subtilis subsp. subtilis</i>
HF951565.1	<i>Bacillus subtilis subsp. subtilis</i>
LC589066.1	<i>Bacillus velezensis</i>
LC586144.1	<i>Bacillus velezensis</i>
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	



Şekil 4.8 16S SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen *Bacillus* Türleri Arasındaki ve *Bacillus zhangzhouensis* Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ok ile Gösterilen İzolate 8 Olarak İsimlendirilmiş Bakteri *Bacillus zhangzhouensis* Olarak Tespit Edilmiştir. Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. Dış Grup Olarak *Bauveria bassiana* Seçilmiştir.

Çizelge 4.8 İzolat 9 (*Bacillus spp*)’un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları

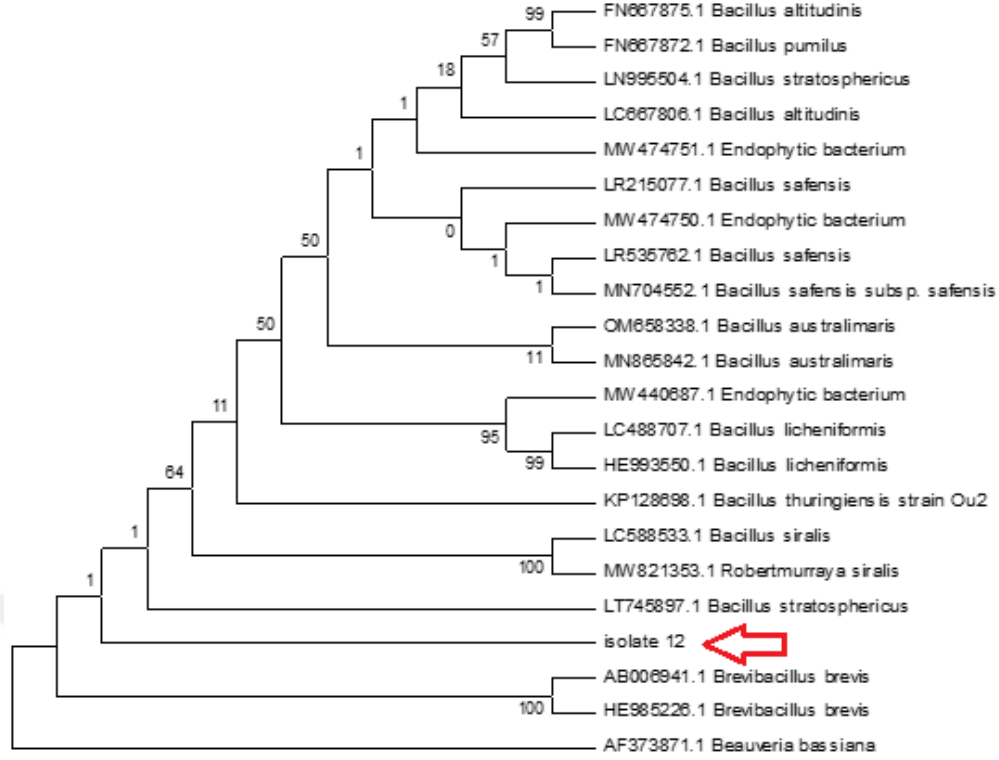
Erişim No	Organizma adı
MH134485.1	<i>Bacillus glycinifermentans</i>
MK696979.2	<i>Bacillus haynesii</i>
HQ143565.1	<i>Bacillus licheniformis</i>
KY287929.1	<i>Bacillus mojavenensis</i>
FN662486.1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
MF470190.1	<i>Bacillus aerius</i>
LC663507.1	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>
AJ831841.2	<i>Bacillus stratosphericus</i>
D16268.1	<i>Bacillus firmus</i>
LR797765.1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
OM658338.1	<i>Bacillus australimaris</i>
KP128698.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
MN865842.1	<i>Bacillus australimaris</i>
FN667872.1	<i>Bacillus pumilus</i>
LR535762.1	<i>Bacillus safensis</i>
LN881689.1	<i>Bacillus acidicer</i>
OK001814.1	<i>Bacillus aequororis</i>
LN995503.1	<i>Bacillus abyssalis</i>
LN995504.1	<i>Bacillus stratosphericus</i>
LT745897.1	<i>Bacillus stratosphericus</i>
LT221166.1	<i>Bacillus mojavenensis</i>
LT797520.1	<i>Bacillus sonorensis</i>
LN995448.1	<i>Bacillus sonorensis</i>
MN704552.1	<i>Bacillus safensis subsp. safensis</i>
LC589066.1	<i>Bacillus velezensis</i>
LC586144.1	<i>Bacillus velezensis</i>
LC667806.1	<i>Bacillus altitudinis</i>
FN667875.1	<i>Bacillus altitudinis</i>
<i>Bacillus spp.</i>	



Şekil 4.9 16S SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen *Bacillus* Türleri Arasındaki ve İzolate 9 Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ok ile Gösterilen İzolate 8 Olarak İsimlendirilmiş Bakteri *Bacillus spp.* Olarak Tespit Edilmiştir. Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. *Beauveria bassiana* analizde dış grup olarak kullanıldı. Dış Grup Olarak *Bauveria bassiana* Seçilmiştir.

Çizelge 4.9 İzolat 12 (*Bacillus spp.*)’un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları

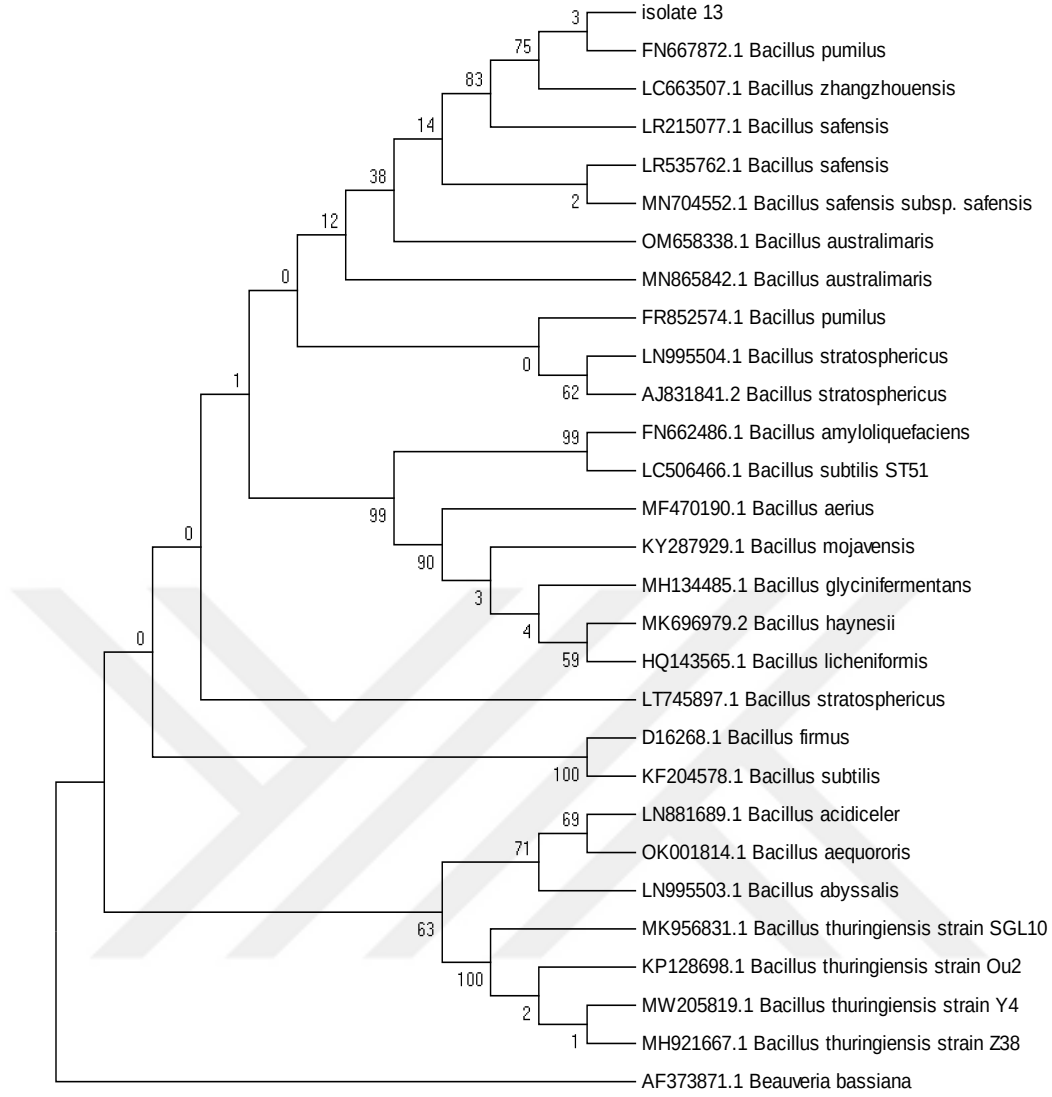
Erişim No	Organizma adı
LC667806.1	<i>Bacillus altitudinis</i>
FN667875.1	<i>Bacillus altitudinis</i>
OM658338.1	<i>Bacillus australimaris</i>
MN865842.1	<i>Bacillus australimaris</i>
LC488707.1	<i>Bacillus licheniformis</i>
FR727151.1	<i>Bacillus licheniformis</i>
HE993550.1	<i>Bacillus licheniformis</i>
FN667872.1	<i>Bacillus pumilus</i>
FR852574.1	<i>Bacillus pumilus</i>
LR535762.1	<i>Bacillus safensis</i>
LR215077.1	<i>Bacillus safensis</i>
MN704552.1	<i>Bacillus safensis subsp. safensis</i>
LC588533.1	<i>Bacillus siralis</i>
MW821353.1	<i>Robertmurraya siralis</i>
LN995504.1	<i>Bacillus stratosphericus</i>
LT745897.1	<i>Bacillus stratosphericus</i>
MW474750.1	<i>Endophytic bacterium</i>
MW474751.1	<i>Endophytic bacterium</i>
MW440687.1	<i>Endophytic bacterium</i>
KP128698.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
AB006941.1	<i>Brevibacillus brevis</i>
HE985226.1	<i>Brevibacillus brevis</i>
	<i>Bacillus spp.</i>



Şekil 4.10 16S SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen *Bacillus* Türleri Arasındaki ve İzolate 12 arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ok ile Gösterilen İzolate 8 Olarak İsimlendirilmiş Bakteri *Bacillus spp.* Olarak Tespit Edilmiştir. Ağaç, Kimura 2 -Parameter Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. Dış Grup Olarak *Bauveria bassiana* Seçilmiştir.

Çizelge 4.10 İzolat 13 (*Bacillus pumilus*)’un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları

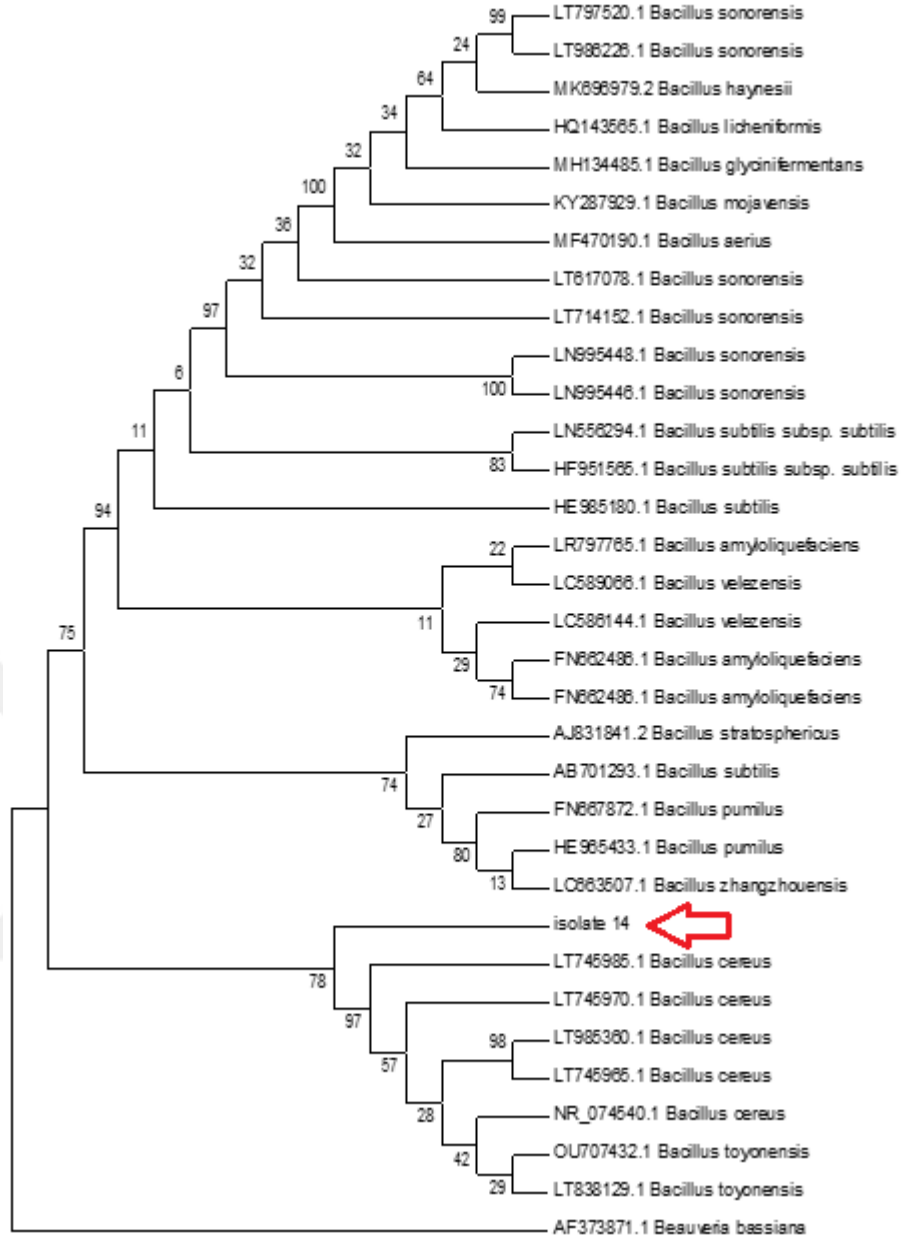
Erişim No	Organizma adı
MH134485.1	<i>Bacillus glycinifermentans</i>
MK696979.2	<i>Bacillus haynesii</i>
HQ143565.1	<i>Bacillus licheniformis</i>
KY287929.1	<i>Bacillus mojavensis</i>
FN662486.1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
MF470190.1	<i>Bacillus aerius</i>
LC663507.1	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>
AJ831841.2	<i>Bacillus stratosphericus</i>
D16268.1	<i>Bacillus firmus</i>
LC506466.1	<i>Bacillus subtilis</i>
KF204578.1	<i>Bacillus subtilis</i>
KP128698.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
MW205819.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
MH921667.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
MK956831.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>
LN881689.1	<i>Bacillus acidiceler</i>
OK001814.1 x	<i>Bacillus aequororis</i>
LN995503.1	<i>Bacillus abyssalis</i>
<i>Bacillus pumilus</i>	



Şekil 4.11 16S SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen *Bacillus* Türleri Arasındaki ve *Bacillus pumilus* Arasındaki Filogenetik ilişkiler. Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. Dış Grup Olarak *Bauveria bassiana* Seçilmiştir.

Çizelge 4.11 İzolat 14 (*Bacillus cereus*)’un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları

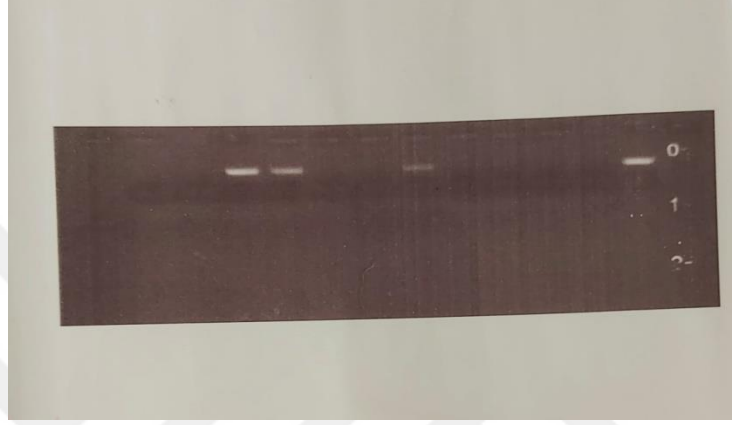
Erişim No	Organizma adı
FN662486.1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
LR797765.1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
LT797520.1	<i>Bacillus sonorensis</i>
LN995448.1	<i>Bacillus sonorensis</i>
AB701293.1	<i>Bacillus subtilis</i>
HE985180.1	<i>Bacillus subtilis</i>
LN556294.1	<i>Bacillus subtilis subsp. subtilis</i>
HF951565.1	<i>Bacillus subtilis subsp. subtilis</i>
LC589066.1	<i>Bacillus velezensis</i>
LC586144.1	<i>Bacillus velezensis</i>
NR_074540.	<i>Bacillus cereus</i>
LT985360.1	<i>Bacillus cereus</i>
LT745965.1	<i>Bacillus cereus</i>
LT745985.1	<i>Bacillus cereus</i>
LT745970.1	<i>Bacillus cereus</i>
HE965433.1	<i>Bacillus pumilus</i>
FN667872.1	<i>Bacillus pumilus</i>
LT617078.1	<i>Bacillus sonorensis</i>
LN995446.1	<i>Bacillus sonorensis</i>
LT986226.1	<i>Bacillus sonorensis</i>
LT714152.1	<i>Bacillus sonorensis</i>
OU707432.1	<i>Bacillus toyonensis</i>
MH134485.1	<i>Bacillus glycinifermentans</i>
MK696979.2	<i>Bacillus haynesii</i>
HQ143565.1	<i>Bacillus licheniformis</i>
KY287929.1	<i>Bacillus mojavensis</i>
FN662486.1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
MF470190.1	<i>Bacillus aerius</i>
LC663507.1	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>
AJ831841.2	<i>Bacillus stratosphericus</i>
LT838129.1	<i>Bacillus toyonensis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	



Şekil 4.12 16S SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen *Bacillus* Türleri Arasındaki ve *Bacillus cereus* Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. Dış Grup Olarak *Bauveria bassiana* Seçilmiştir.

3.1.4 Entomopatojenik Fungusların Karakterizasyonu

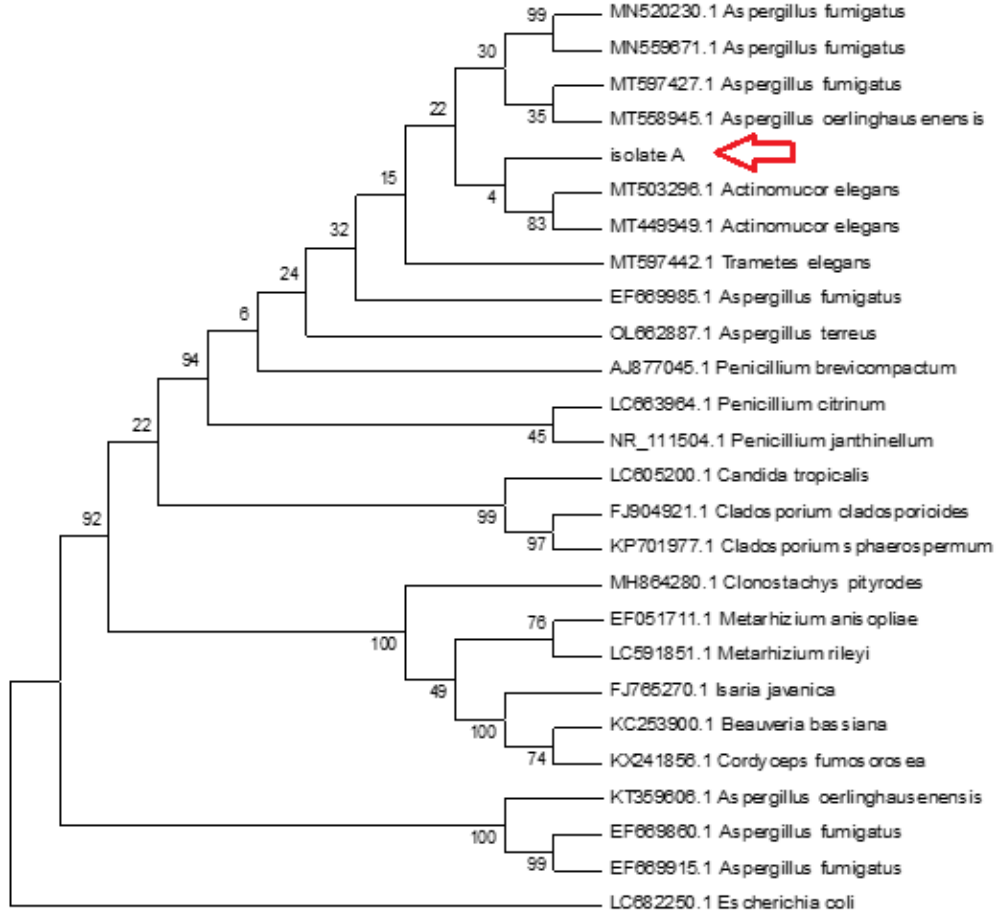
Moleküler karakterizasyonlar için, izole edilen entomopatojenlerden DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA izolasyonu tamamlandıktan sonra PZR tekniği kullanılarak türe özgü spesifik gen bölgelerinin amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir ve fungusların ITS gen bölgesi çoğaltılarak, sekans analizleri yapılmıştır. PZR reaksiyonu sonucu elde edilen PZR ürünleri jelde teyit edildikten sonra (Şekil 4.1,4.2 ve 4.13) sekans analizine gönderilmiştir.



Şekil 4.13 Funguslardan Elden Edilmiş Olan DNA'lardan Yapılan PCR Çalışması Sonucunda Alınmış Olan Çoklu Bant Görüntüleri

Çizelge 4.12 İzolat A (*Actinomucor elegans*)’un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları

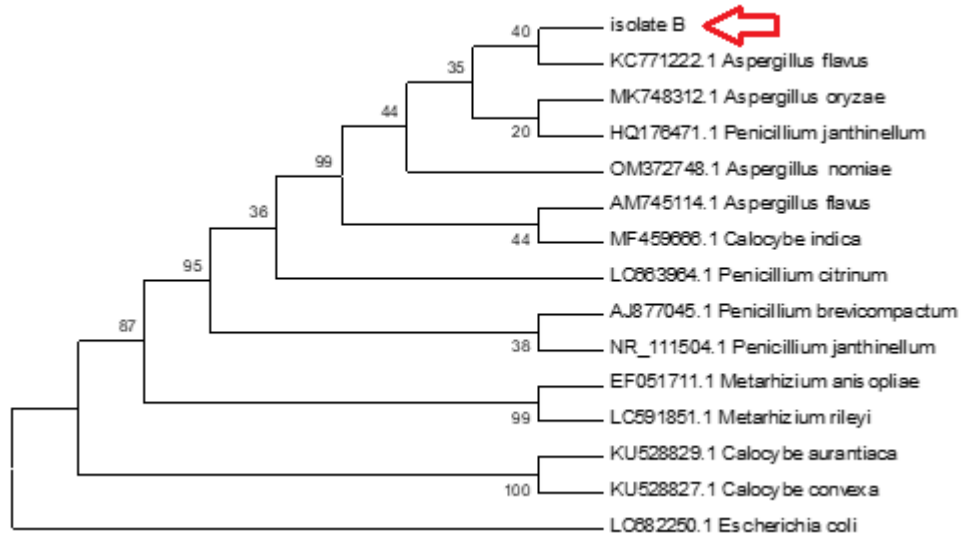
Erişim No	Organizma adı
MT503296.1	<i>Actinomucor elegans</i>
MT449949.1	<i>Actinomucor elegans</i>
KX463034.1	<i>Aspergillus flavus</i>
MN520230.1	<i>Aspergillus fumigatus</i>
MN559671.1	<i>Aspergillus fumigatus</i>
MT597427.1	<i>Aspergillus fumigatus</i>
MT558945.1	<i>Aspergillus oerlinghausenensis</i>
MZ374572.1	<i>Aspergillus sp.</i>
OL662887.1	<i>Aspergillus terreus</i>
KC253900.1	<i>Beauveria bassiana</i>
MN523511.1	<i>Beauveria pseudobassiana</i>
LC605200.1	<i>Candida tropicalis</i>
FJ904921.1	<i>Cladosporium cladosporioides</i>
P701977.1	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>
MH864280.1	<i>Clonostachys pityrodes</i>
NG_063969.1	<i>Clonostachys rosea f. catenulata</i>
NR_165993.1	<i>Clonostachys rosea f. catenulata</i>
KX241856.1	<i>Cordyceps fumosorosea</i>
FJ765270.1	<i>Isaria javanica</i>
EF051711.1	<i>Metarhizium anisopliae</i>
LC591851.1	<i>Metarhizium rileyi</i>
AJ877045.1	<i>Penicillium brevicompactum</i>
L76153.1	<i>Penicillium chrysogenum</i>
LC663964.1	<i>Penicillium citrinum</i>
NR_111504.1	<i>Penicillium janthinellum</i>
NG_067468.1	<i>Purpureocillium lavendulum</i>
NG_061025.1	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
NR_111691.1	<i>Talaromyces pinophilus</i>
NG_074933.1	<i>Talaromyces purpureogenus</i>
MT597442.1	<i>Trametes elegans</i>
<i>Actinomucor elegans</i>	



Şekil 4.14 ITS Gen Bölgesine Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen Entomopatojenik Fungus Türleri Arasındaki ve *Actinomucor elegans* Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. *Escherichia coli* Analizde Dış Grup Olarak Kullanıldı.

Çizelge 4.13 İzolat B (*Aspergillus flavus*)’un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları

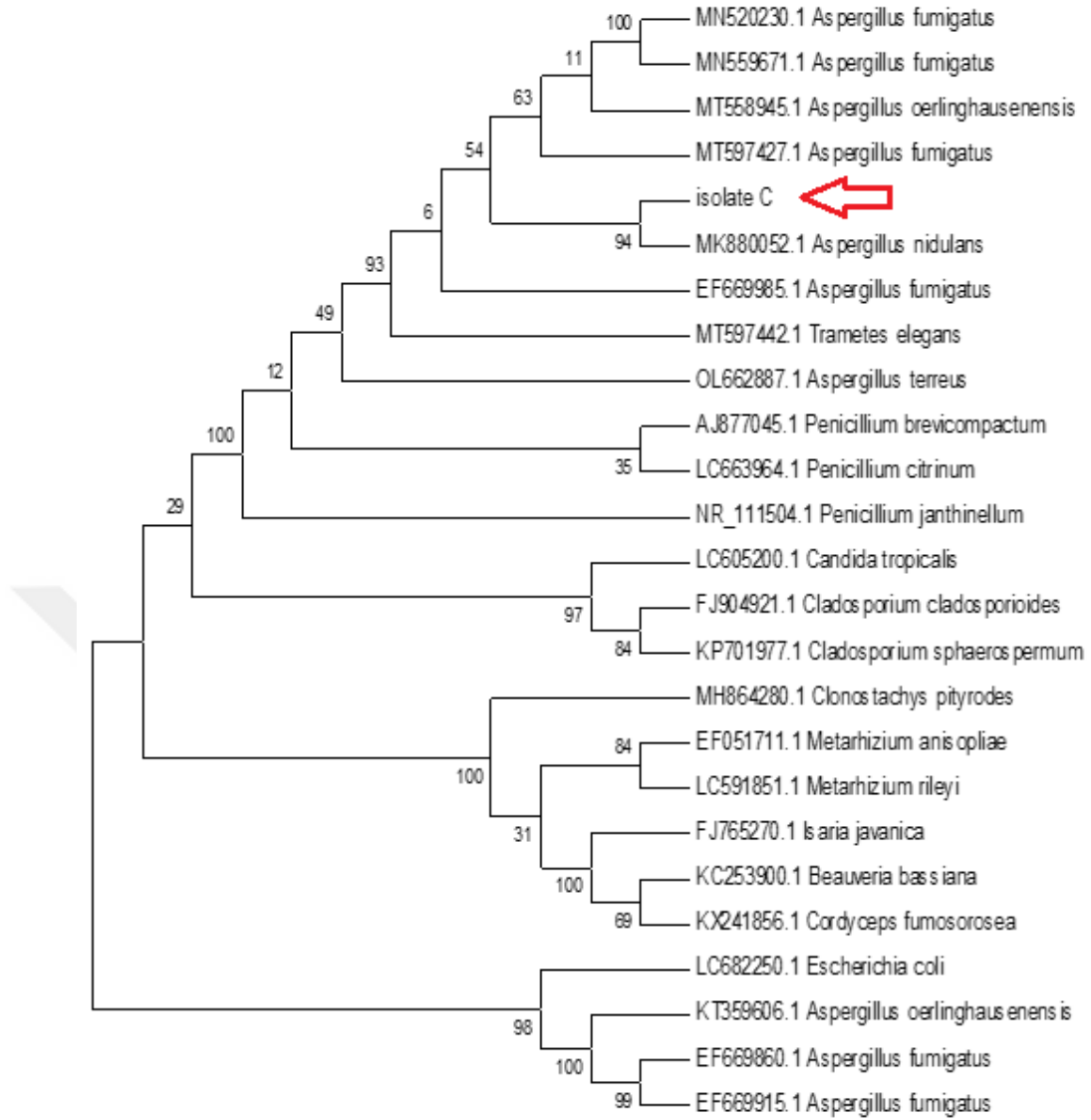
Erişim No	Organizma adı
AM745114.1	<i>Aspergillus flavus</i>
KC771222.1	<i>Aspergillus flavus</i>
OM372748.1	<i>Aspergillus nomiae</i>
MK748312.1	<i>Aspergillus oryzae</i>
KU528829.1	<i>Calocybe aurantiaca</i>
KU528827.1	<i>Calocybe convexa</i>
MF459666.1	<i>Calocybe indica</i>
EF051711.1	<i>Metarhizium anisopliae</i>
LC591851.1	<i>Metarhizium rileyi</i>
AJ877045.1	<i>Penicillium brevicompactum</i>
LC663964.1	<i>Penicillium citrinum</i>
HQ176471.1	<i>Penicillium janthinellum</i>
NR_111504.1	<i>Penicillium janthinellum</i>
<i>Aspergillus flavus</i>	



Şekil 4.15 ITS Gen Bölgesine Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen Entomoaptojenik Fungus Türleri Arasındaki ve *Aspergillus flavus* Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. *Escherichia coli* Analizde Dış Grup Olarak Kullanıldı.

Çizelge 4.14 İzolat C (*Aspergillus nidulans*)’un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları

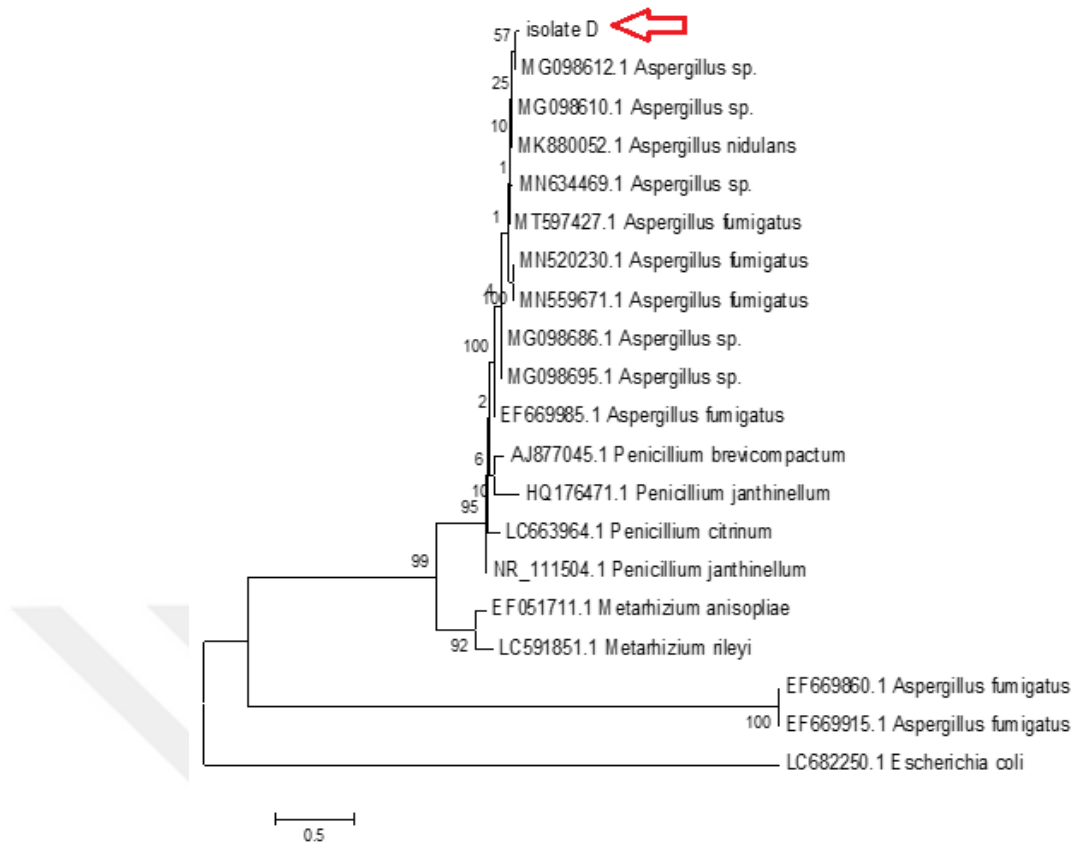
Erişim No	Organizma adı
KT359606.1	<i>Aspergillus oerlinghausenensis</i>
MK880052.1	<i>Aspergillus nidulans</i>
EF669985.1	<i>Aspergillus fumigatus</i>
EF669860.1	<i>Aspergillus fumigatus</i>
EF669915.1	<i>Aspergillus fumigatus</i>
MN520230.1	<i>Aspergillus fumigatus</i>
MN559671.1	<i>Aspergillus fumigatus</i>
MT597427.1	<i>Aspergillus fumigatus</i>
MT558945.1	<i>Aspergillus oerlinghausenensis</i>
OL662887.1	<i>Aspergillus terreus</i>
KC253900.1	<i>Beauveria bassiana</i>
LC605200.1	<i>Candida tropicalis</i>
FJ904921.1	<i>Cladosporium cladosporioides</i>
KP701977.1	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>
MH864280.1	<i>Clonostachys pityrodes</i>
KX241856.1	<i>Cordyceps fumosorosea</i>
FJ765270.1	<i>Isaria javanica</i>
EF051711.1	<i>Metarhizium anisopliae</i>
LC591851.1	<i>Metarhizium rileyi</i>
AJ877045.1	<i>Penicillium brevicompactum</i>
LC663964.1	<i>Penicillium citrinum</i>
NR_111504.1	<i>Penicillium janthinellum</i>
MT597442.1	<i>Trametes elegans</i>
<i>Aspergillus nidulans</i>	



Şekil 4.16 ITS Gen Bölgesine Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen Entomoaptojenik Fungus Türleri Arasındaki ve *Aspergillus nidulans* Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi ile Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. *Escherichia coli* Analizde Dış Grup Olarak Kullanıldı.

Çizelge 4.15 İzolat D (*Aspergillus sp.*)’un Filogenetik Analizinde Kullanılan GenBank Erişim Numaraları

Erişim No	Organizma adı
MN520230.1	<i>Aspergillus fumigatus</i>
MN559671.1	<i>Aspergillus fumigatus</i>
MT597427.1	<i>Aspergillus fumigatus</i>
EF669860.1	<i>Aspergillus fumigatus</i>
EF669985.1	<i>Aspergillus fumigatus</i>
EF669915.1	<i>Aspergillus fumigatus</i>
MK880052.1	<i>Aspergillus nidulans</i>
MN634469.1	<i>Aspergillus sp.</i>
MG098612.1	<i>Aspergillus sp.</i>
MG098610.1	<i>Aspergillus sp.</i>
MG098686.1	<i>Aspergillus sp.</i>
MG098695.1	<i>Aspergillus sp.</i>
EF051711.1	<i>Metarhizium anisopliae</i>
LC591851.1	<i>Metarhizium rileyi</i>
AJ877045.1	<i>Penicillium brevicompactum</i>
LC663964.1	<i>Penicillium citrinum</i>
HQ176471.1	<i>Penicillium janthinellum</i>
NR_111504.1	<i>Penicillium janthinellum</i>
<i>Aspergillus sp.</i>	



Şekil 4.17 ITS Gen Bölgesine Dayalı Olarak Farklı Konakçılardan İzole Edilen Entomopatojenik Fungus Türleri Arasındaki ve *Aspergillus* sp. Arasındaki Filogenetik İlişkiler. Ağaç, Kimura 2 Parametre Kullanılarak Maximum Likelihood Yöntemi İle Oluşturuldu ve MEGA.10 Programı ile 1000 Bootstrap Replikasyon ile Değerlendirildi. *Escherichia coli* analizde Dış Grup Olarak Kullanıldı.

4.1.5 Tespit Edilen Entomopatojen Bakterilerin İnsektisidal Etkinliğinin Belirlenmesi

DNA izolasyonu ve filogeni çalışmaları sonucu *P. interpunctella*'da tespit edilen entomopatojen bakterilerin insektisidal etkisinin belirlenmesi için, sağlıklı 20'şer larva kullanılarak deneyler en az 3'şer kez tekrarlanmıştır. Yürütülen deneylerin sonuçları 3 deneyin ortalaması olarak tespit edilmiştir. Yoğunlukları macfarlant cihazı ile ayarlanmış $1,5 \times 10^6$, $1,5 \times 10^7$, $1,5 \times 10^8$ ve $1,5 \times 10^9$ olarak seyreltilen entomopatojen numunelerini içeren solusyona eşit boyutlardaki (2 x 2 mm) findık tablet parçaları daldırılarak oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra kontrol grubu haricindeki deney gruplarına entomopatojenleri içeren bu findık tabletleri verilmiştir (Şekil 4.18). Kontrol grubundaki bireyler ise steril suya batırılan findık parçaları ile

beslenmiştir. Sonraki günlerde besinlerini tüketen tüm grupların bulundukları kaplar yenilenerek bireyler temiz ve entomopatojen içermeyen fındık tablet parçaları ile günlük olarak beslenmiştir. Yaklaşık 21 günlük deney süresince tüm gruplar, $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de $\%40-60 \pm 1$ nem koşullarında günlük olarak gözlemlenmiştir.

Tespit edilen bakterilerin insektisidal etkinliği için her bakteri için ayrı ayrı 3 deney grubu ve 3 kontrol grubu olmak üzere toplam 6 tane deney düzeneği hazırlanmıştır (Şekil 23). Deney süresince *P. interpunctella* ölüm oranları günlük not edilmiş ve ölen larvalar hemen disekte edilerek entomopatojen enfeksiyonu açısından teyit edilmiştir ve gene ölüm oranı olarak verilmiştir. Deney düzeneklerinde 2.-3.instar, 3-4.instar ve 4-5.instar larvalar kullanılmıştır. Kontrol gruplarına ise; deney düzeneğinde benzer şekilde her tekrür için 2.-3.instar, 3-4.instar ve 4-5.instar *P. interpunctella* larvaları kullanılmıştır (şekil 4.16).



Şekil 4.18 Bakteriler İçin Hazırlanan Bioassay Deney Düzeneği

Çizelge 4.16 *Bacillus licheniformis* Biyoassay Sonuçları

Kullanılan Konsantrasyonlar ve uygulanan bakteri türü	İnstar	1. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	2. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	3. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	Genel Ölüm Oranı	Abbot sonucu (%) Ölüm Oranı
1,5.10⁶	2.-3.instar	3Ö/17C	2Ö/18C	3Ö/17C	13,3	10,3
	Kontrol	1Ö/19C	1Ö/19C	-		
	3.-4.instar	-	1Ö/19C	-	1,6	1,6
	Kontrol	-	-	-		
	4.-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1.5.10⁷	2.-3.instar	4Ö/16C	2Ö/18C	3Ö/17C	15	15
	Kontrol	-	-	-		
	3.-4.instar	1Ö/19C	-	-	1,6	1,6
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10⁸	2.-3.instar	6Ö/14C	8Ö/12C	8Ö/12C	36,6	36,6
	Kontrol	-	-	-		
	3.-4.instar	2Ö/18C	2Ö/18C	1Ö/19C	8,3	6,8
	Kontrol	-	1Ö/19C	-		
	4.-5.instar	-	1Ö/19C	-	1,6	1,6
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10⁹	2.-3.instar	15Ö/5C	13Ö/7C	15Ö/5C	71,6	70,6
	Kontrol	1Ö/19C	-	1Ö/19C		
	3.-4.instar	8Ö/12C	8Ö/12C	5Ö/15C	35	35
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	3Ö/17C	1Ö/19C	1Ö/19C	8,3	8,3
	Kontrol	-	-	-		
<i>Bacillus licheniformis</i>						

Çizelge 4.17 *Bacillus pumilus* Biyoassay Sonuçları

Kullanılan Konsantrasyonlar	İnstar	1.tekerrür Ölü/Canlı sayıları	2.tekerrür Ölü/Canlı sayıları	3. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	Genel Ölüm Oranı	Abbot sonucu (%) Ölüm Oranı
1,5.10⁶	2.-3.instar	1Ö/19C	1Ö/19C	-	3,3	1,7
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	1Ö/19C	-	-	1,6	1,6
	Kontrol	-	-	-		
	4.-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1.5.10⁷	2.-3.instar	3Ö/17C	2Ö/18C	2Ö/18C	11,6	8,6
	Kontrol	2Ö/18C	-	-		
	3.-4.instar	1Ö/19C	-	1Ö/19C	3,3	3,3
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10⁸	2.-3.instar	6Ö/14C	8Ö/12C	6Ö/14C	33,3	31,02
	Kontrol	1Ö/19C	1Ö/19C	-		
	3.-4.instar	2Ö/18C	2Ö/18C	1Ö/19C	8,3	3,4
	Kontrol	2Ö/18C	1Ö/19C	-		
	4.-5.instar	2Ö/18C	1Ö/19C	-	5	5
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10⁹	2.-3.instar	12Ö/8C	13Ö/7C	15Ö/5C	66,6	65,4
	Kontrol	1Ö/19C	-	1Ö/19C		
	3.-4.instar	7Ö/13C	8Ö/12C	6Ö/14C	35	35
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	3Ö/17C	1Ö/19C	1Ö/19C	8,3	8,3
	Kontrol	-	-	-		
<i>Bacillus pumilus</i>						

Çizelge 4.18 *Bacillus cereus* Biyoassay Sonuçları

Kullanılan Konsantrasyo nlar	İnstar	1. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	2. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	3. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	Genel Oranı	Ölüm Abbot sonucu (%)
1,5.10⁶	2.-3.instar	1Ö/19C	1Ö/19C	1Ö/19C	5	1,7
	Kontrol	1Ö/19C	1Ö/19C	-		
	3.-4.instar	-	1Ö/19C	-	1,6	1,6
	Kontrol	-	-	-		
	4.-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1.5.10⁷	2.-3.instar	4Ö/15C	2Ö/18C	4Ö/16C	16,6	15,2
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	2Ö/18C	1Ö/19C	1Ö/19C	6,6	3,4
	Kontrol	2Ö/18C	-	-		
	4-5.instar	1Ö/19C	1Ö/19C	-	3,3	3,3
	Kontrol					
1,5.10⁸	2.-3.instar	14Ö/6C	10Ö/10C	13Ö/7C	61,6	60,9
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	5Ö/15C	4Ö/16C	1Ö/19C	16,6	13,75
	Kontrol	2Ö/18C	-	-		
	4.-5.instar	2Ö/18C	1Ö/19C	-	5	5
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10⁹	2.-3.instar	18Ö/2C	20Ö/-	19Ö/1C	95	94,8
	Kontrol	1Ö/19C	-	1Ö/19C		
	3.-4.instar	10Ö/10C	10Ö/10C	9Ö/11C	48	48
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	5Ö/15C	4Ö/16C	5Ö/15C	23,3	23,3
	Kontrol	-	-	-		
<i>Bacillus cereus</i>						

Çizelge 4.19 *Bacillus firmus* Biyoassay Sonuçları

Kullanılan Konsantrasyonlar	İnstar	1. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	2. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	3. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	Genel Ölüm Oranı (%)	Abbot sonucu (%) Ölüm Oranı
1,5.10⁶	2.-3.instar	2Ö/18C	2Ö/18C	-	6,6	3,4
	Kontrol	1Ö/19C	1Ö/19C	-		
	3.-4.instar	-	-	1Ö/19C	1,6	-
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	4.-5.instar	-	-	-		-
	Kontrol	-	-	-		
1.5.10⁷	2.-3.instar	5Ö/15C	3Ö/17C	3Ö/17C	18,3	16,9
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	2Ö/18C	1Ö/19C	-	5	5
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol					
1,5.10⁸	2.-3.instar	11Ö/9C	9Ö/11C	10Ö/10C	50	49,1
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	7Ö/13C	7Ö/13C	5Ö/15C	31,6	29,2
	Kontrol	1Ö/19C	1Ö/19C	-		
	4.-5.instar	2Ö/18C	-	1Ö/19C	5	5
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10⁹	2.-3.instar	18Ö/2C	15Ö/5C	14Ö/6C	78,3	77,9
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	9Ö/11C	9Ö/11C	8Ö/12C	43,3	42,3
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	4-5.instar	3Ö/17C	1Ö/19C	2Ö/18C	10	10
	Kontrol	-	-	-		
<i>Bacillus firmus</i>						

Çizelge 4.20 *Bacillus zhanjiangensis* Biyoassay Sonuçları

Kullanılan Konsantrasyonlar ve uygulanan bakteri türü	İnstar	1. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	2. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	3. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	Genel Ölüm Oranı (%)	Abbot sonucu (%) Ölüm Oranı
1,5.10⁶	2.-3.instar	1Ö/19C	2Ö/18C	1Ö/19C	6,6	1,6
	Kontrol	2Ö/18C	1Ö/19C	-		
	3.-4.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	4.-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1.5.10⁷	2.-3.instar	3Ö/17C	3Ö/17C	2Ö/18C	13,3	10,3
	Kontrol	2Ö/18C	-	-		
	3.-4.instar	2Ö/18C	-	-	3,3	3,3
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	-	1Ö/19C	-	1,6	-
	Kontrol	1Ö/1C	-	-		
1,5.10⁸	2.-3.instar	4Ö/16C	5Ö/15C	4Ö/16C	21,6	17,4
	Kontrol	2Ö/18C	-	1Ö/19C		
	3.-4.instar	4Ö/16C	4Ö/16C	3Ö/17C	18,3	14
	Kontrol	2Ö/18C	1Ö/19C	-		
	4.-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10⁹	2.-3.instar	7Ö/13C	6Ö/14C	6Ö/14C	31,6	29,2
	Kontrol	1Ö/19C	-	1Ö/19C		
	3.-4.instar	4Ö/16C	5Ö/15C	4Ö/16C	21,6	20,3
	Kontrol	-	1Ö/19C	-		
	4-5.instar	2Ö/18C	1Ö/19C	1Ö/19C	6,6	6,6
	Kontrol	-	-	-		
<i>Bacillus zhanjiangensis</i>						

Çizelge 4.21 *Bacillus stratosphericus* Biyoassay Sonuçları

Kullanılan Konsantrasyonlar ve uygulanan bakteri türü	İnstar	1. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	2. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	3. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	Genel Ölüm Oranı (%)	Abbot sonucu (%) Ölüm Oranı
<i>Bacillus stratosphericus</i>						
1,5.10⁶	2.-3.instar	-	1Ö/19C	-	1,6	-
	Kontrol	-	1Ö/19C	-		
	3.-4.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
	4.-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1.5.10⁷	2.-3.instar	2Ö/18C	2Ö/18C	3Ö/17C	11,6	10,1
	Kontrol	-	-	1Ö/19C		
	3.-4.instar	4Ö/16C	2Ö/18C	2Ö/18C	13,3	11,8
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	4-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10⁸	2.-3.instar	3Ö/17C	3Ö/17C	4Ö/16C	16,6	16,6
	Kontrol	-	-	-		
	3.-4.instar	2Ö/18C	4Ö/16C	4Ö/16C	16,6	15,2
	Kontrol	-	1Ö/19C	-		
	4.-5.instar	-	1Ö/19C	-	1,6	1,6
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10⁹	2.-3.instar	6Ö/14C	4Ö/16C	6Ö/14C	26,6	25,4
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	5Ö/15C	5Ö/15C	4Ö/16C	23,3	23,3
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	2Ö/18C	2Ö/18C	1Ö/19C	8,3	8,3
	Kontrol	-	-	-		
<i>Bacillus stratosphericus</i>						

Çizelge 4.22 *Bacillus spp.* (5 Nolu Bakteri) Biyoassay Sonuçları

Kullanılan Konsantras yonlar ve uygulanan bakteri türü	İnstar	1. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	2. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	3. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	Genel Ölüm Oranı	Abbot sonucu (%) Ölüm Oranı
1,5.10⁶	2.-3.instar	1Ö/19C	1Ö/19C	1Ö/19C	5	3,4
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
	4.-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10⁷	2.-3.instar	3Ö/17C	2Ö/18C	3Ö/17C	13,3	11,8
	Kontrol	-	-	1Ö/19C		
	3.-4.instar	2Ö/18C	1Ö/19C	-	5	5
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol					
1,5.10⁸	2.-3.instar	4Ö/16C	4Ö/16C	3Ö/17C	18,3	16,9
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	2Ö/18C	2Ö/18C	1Ö/19C	8,3	8,3
	Kontrol	-	-	-		
	4.-5.instar	1Ö/19C	1Ö/19C	1Ö/19C	5	5
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10⁹	2.-3.instar	14Ö/6C	12Ö/8C	15Ö/5C	68,3	67,7
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	14Ö/6C	10Ö/10C	11Ö/9C	58,3	58,3
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	10Ö/10C	10Ö/10C	12Ö/8C	53,3	53,3
	Kontrol	-	-	-		
<i>Bacillus spp. (5nolu bakteri)</i>						

Çizelge 4.23 *Bacillus spp.* (6 Nolu Bakteri) Biyoassay Sonuçları

Kullanılan Konsantrasy onlar ve uygulanan bakteri türü	İnstar	1. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	2. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	3. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	Genel Ölüm Oranı	Abbot sonucu (%) Ölüm Oranı
<i>Bacillus spp. (6nolu bakteri)</i>						
1,5.10⁶	2.-3.instar	1Ö/19C	-	1Ö/19C	3,3	1,7
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
	4.-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1.5.10⁷	2.-3.instar	3Ö/11C	2Ö/18C	2Ö/18C	11,6	10,1
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	1Ö/19C	1Ö/19C	-	3,3	3,3
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10⁸	2.-3.instar	5Ö/15C	6Ö/14C	6Ö/14C	28,3	27,1
	Kontrol	-	1Ö/19C	-		
	3.-4.instar	8Ö/12C	9Ö/11C	8Ö/12C	41,6	40,6
	Kontrol	-	1Ö/19C	-		
	4.-5.instar	4Ö/16C	4Ö/16C	2Ö/18C	16,6	16,6
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10⁹	2.-3.instar	8Ö/12C	10Ö/10C	10Ö/10C	46,6	45,7
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	8Ö/12C	8Ö/12C	6Ö/14C	36,6	36,6
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	5Ö/15C	6Ö/14C	5Ö/15C	26,6	26,6
	Kontrol	-	-	-		

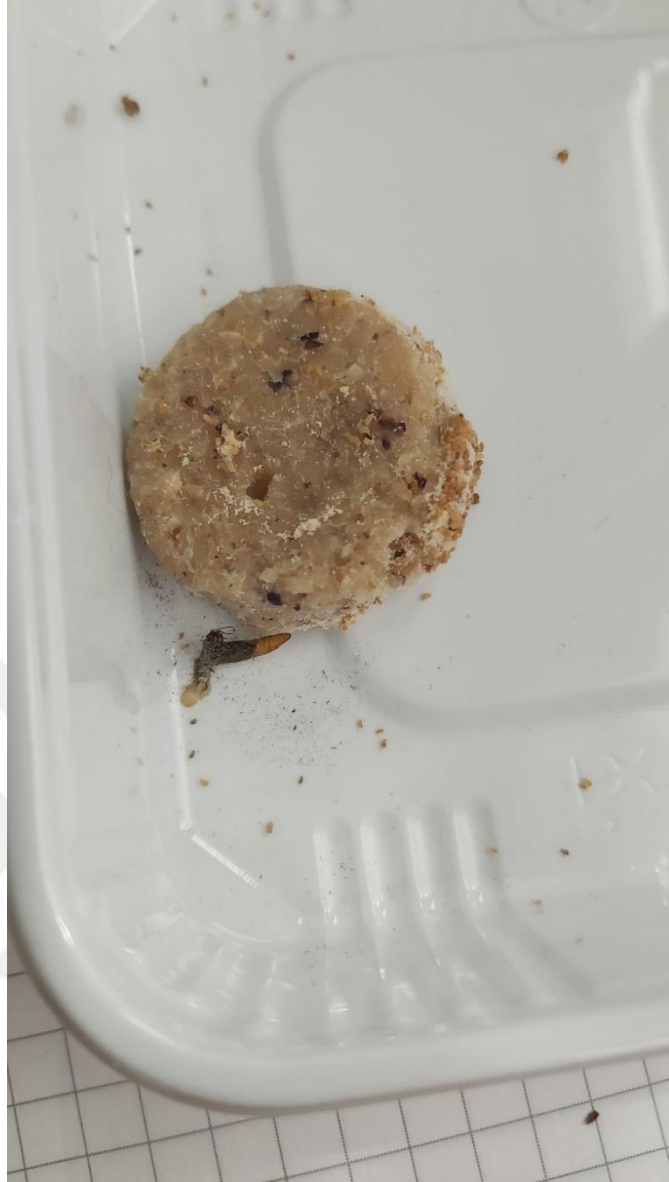
Çizelge 4.24 *Methylobacterium* sp. Biyoassay Sonuçları

Kullanılan Konsantrasy onlar ve uygulanan bakteri türü	İnstar	1. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	2. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	3. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	Genel Ölüm Oranı	Abbot sonucu (%) Ölüm Oranı
<i>Methylobacterium</i> sp.						
1,5.10 ⁶	2.-3.instar	1Ö/19C	-	-	1,6	1,6
	Kontrol	-	-	-		
	3.-4.instar	-	1Ö/19C	-	1,6	1,6
	Kontrol	-	-	-		
	4.-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1.5.10 ⁷	2.-3.instar	2Ö/18C	4Ö/16C	3Ö/17C	15	13,6
	Kontrol	-	1Ö/19C	-		
	3.-4.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol					
1,5.10 ⁸	2.-3.instar	4Ö/16C	4Ö/16C	4Ö/16C	20	18,7
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	2Ö/18C	1Ö/19C	1Ö/19C	6,6	3,4
	Kontrol	1Ö/19C	1Ö/19C	-		
	4.-5.instar	1Ö/19C	1Ö/19C	-	3,3	3,3
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10 ⁹	2.-3.instar	8Ö/12C	9Ö/11C	8Ö/12C	41,6	40,6
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	3Ö/17C	4Ö/16C	4Ö/16C	18,3	16,9
	Kontrol	-	1Ö/19C	-		
	4-5.instar	4Ö/16C	2Ö/18C	4Ö/16C	16,6	16,6
	Kontrol	-	-	-		

Bu tez çalışmasında *Plodia interpunctella*'nın bakteriyel ve fungal etmenleri araştırılmış, tespit edilmiş ve modern yöntemler ile ortaya konulmuştur. Türkiye'nin birçok ilinden alınan örnekler ile tez çalışmasının kapsamı oldukça genişletilmiştir ve bu sayede önemli literatür boşluklarını doldurmaktadır. Bakteriyel ve fungal etmenlerin tespiti, karakterizasyonu için boyamaların ardından DNA izolasyonu ve moleküler çalışmaların sonunda filogenetik analizler yapılmıştır. Ayrıca elde edilen bakteri ve fungusların biyoassay deneyleri de yapılmıştır. Bu deneyler için macfarlant cihazı ile ayarlanmış 1,5x10⁶, 1,5x10⁷, 1,5x10⁸ ve 1,5x10⁹ konsantrasyonları

kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bunara ek olarak bu konsantrasyonların her biri 3.instar, 4.instar ve 5. Instar larvalara denenmiştir. Bioassay sonuçlarına göre 1.5×10^6 konsantrasyonu sağlıklı larvalar üzerinde ciddi bir etki göstermemiş buna karşılık 1.5×10^9 konsantrasyon ise yüksek ölümlerle sonuçlanmıştır. Deneylerde en hassas olan instarların 3.instar olduğu görülmüş, en dirençli olanların ise 5. Instar larvalar olduğu tespit edilmiştir. 1.5×10^6 dozunun 3.instar için en yüksek ölüm oranı 10.3 ile *B. licheniformis*te görülmüştür, 4instar için en yüksek ölüm oranı 1,6 ile sırasıyla *B. licheniformis*, *B. pumilus* ve *B. cereus*ta tespit edilmiş, 5 instar için hiçbir bakteride ölüm tespir edilmemiştir. 1.5×10^7 dozunda 3.instarda *B. firmus*'ta, 4.instarda *B. stratosphericus*'ta, 5 instarda ise *B. cereus*'ta tespit edilmiştir. 1.5×10^8 doz denemesinde 3. Instarda en yüksek ölüm oranı *B. cereus*, 4. Ve 5. instarda *Bacillus spp.* (6nolu)'de tespit edilmiştir. 1.5×10^9 doz denemesinde en yüksek ölüm oranı 3instarda *B. cereus*, 4. Ve 5. Instarda *Bacillus spp.* (5nolu)'de tespit edilmiştir. Fungus bioassaylerinde 1.5×10^6 dozunda ölümler sadece *A. flavus* ve *A. nidulans* 3. ve 4. instarlarında tespit edilmiştir. 1.5×10^7 'de en yüksek ölüm oranı *A. nidulans*'ta tespit edilmiştir. 1.5×10^8 'de en yüksek ölüm oranlarını *A. flavus* ve *A. nidulans* paylaşmaktadır. 1.5×10^9 'da da yine en yüksek ölüm oranlarını *A. flavus* ve *A. nidulans* paylaşmaktadır. Yapılan istatistik çalışmaları deney sonuçlarını doğrulamaktadır.

Bu bioassay deneylerine ek olarak, etkili olan bakteriler farklı konsantrasyonlarda *P. interpunctella* larvalarına denenmiştir. Bu bakterilerin insektisidal etkinliği için her bakteri için ayrı ayrı 3 deney grubu ve 3 kontrol grubu olmak üzere toplam 6 tane deney düzeneği hazırlanmıştır (Şekil 4.18). Deney süresince *P. interpunctella* ölüm oranları günlük not edilmiş ve ölen larvalar hemen disekte edilerek entomopatojen enfeksiyonu açısından teyit edilmiştir. Deney düzeneklerinde 2. ve 3. instar larvalar, 4. Ve 5. Instar larvalar ve 5. Instar larvalar kullanılmıştır. Kontrol gruplarına ise; deney düzeneğinde benzer şekilde 2. instar ve 3. instar 4. Ve 5. Instar larvalar ve 5. Instar larvalar *P. interpunctella* larvaları kullanılmıştır.



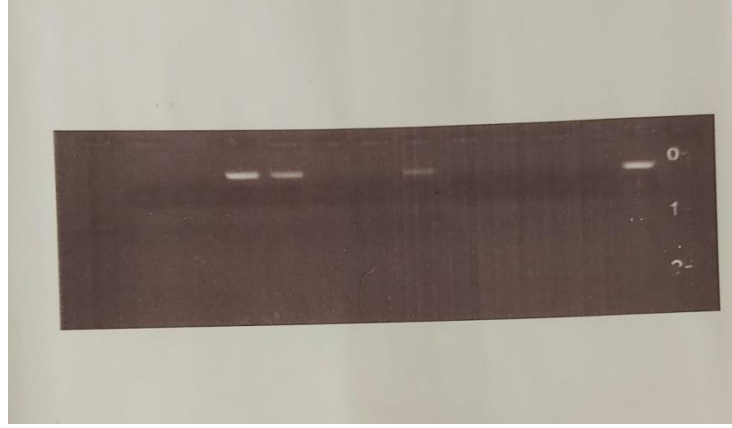
Şekil 4.19 Bakteri Enfeksiyonu Sonucu Ölen Larvalardaki Renk Değişimleri

Bioassay denemeleri sonucunda etkinliği kanıtlanmış bakteriler temsili depo koşullarında *P. interpunctella* erginlerine karşı test edilmek için saklanmıştır.

4.2 Entomopatojenik Funguslar

4.2.1 Entomopatojenik Fungusların Karakterizasyonu

Fungal patojenler ticari DNA izolasyon kiti (QIAGEN Kit No: 69504) kullanılarak üreticinin kit içerisinde belirtmiş olduğu direktiflere uygun şekilde DNA izole edilmiştir. DNA izolasyonu tamamlandıktan sonra PZR tekniği kullanılarak türe özgü spesifik gen bölgelerinin amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.20 PZR Sonucu Tespit Edilen Fungusların Jel Görüntüleri

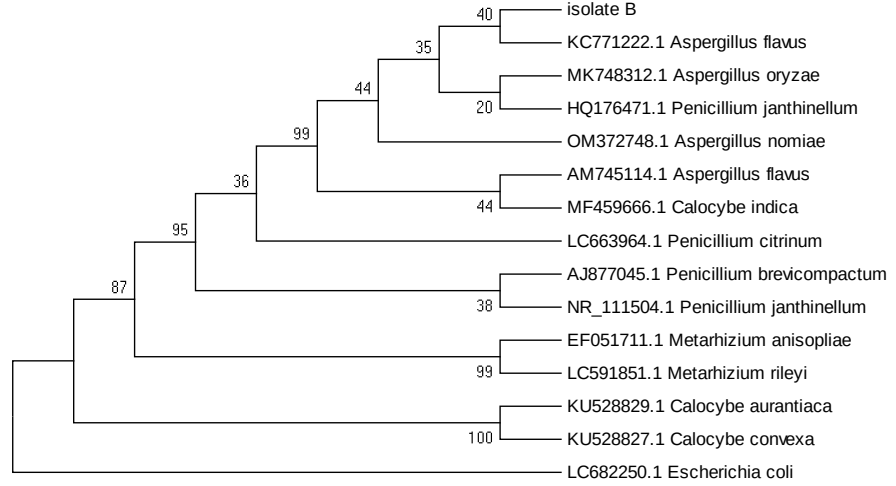
DNA izolasyonu yapılan ve PZR’da pozitif sonuç veren funguslar sekans analizine gönderilmiştir. Sekans sonuçlarına göre de bakterilerin filogenetik ilişkileri incelenmiştir.

4.2.2 Tespit Edilen Patojen Fungusların Filogenisi

Sekans analizi yapılan patojen fungusları diğer funguslar ile karşılaştırmak için baz dizi analizleri yapılmıştır. Elde edilen baz indeks sonuçları, NCBI (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi) BLAST (Temel Yerel Hizalama Arama Aracı) ara yüzündeki diğer kayıtlarla karşılaştırılmıştır. DNA izolasyonu ve sekans analizi sonuçlarına göre Ordu’dan 4 fungus tespit edilmiştir. Bu fungusa ait baz indeks sonuçları, NCBI (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi) BLAST (Temel Yerel Hizalama Arama Aracı) ara yüzündeki diğer kayıtlarla karşılaştırılmıştır.

Çizelge 4.25 Ordu'dan Tespit Edilen Patojen Fungusun Filogenetik Analizinde Kullanılan ITS Dizileri ve GenBank Erişim Numaraları

Erişim No	Organizma adı
AM745114.1	<i>Aspergillus flavus</i>
KC771222.1	<i>Aspergillus flavus</i>
OM372748.1	<i>Aspergillus nomiae</i>
MK748312.1	<i>Aspergillus oryzae</i>
KU528829.1	<i>Calocybe aurantiaca</i>
KU528827.1	<i>Calocybe convexa</i>
MF459666.1	<i>Calocybe indica</i>
EF051711.1	<i>Metarhizium anisopliae</i>
LC591851.1	<i>Metarhizium rileyi</i>
AJ877045.1	<i>Penicillium brevicompactum</i>
LC663964.1	<i>Penicillium citrinum</i>
HQ176471.1	<i>Penicillium janthinellum</i>
NR_111504.1	<i>Penicillium janthinellum</i>
<i>Aspergillus flavus</i>	



Şekil 4.21 Mega 10 Programı Yardımıyla 1000 Bootstrap ve GTR+G Evrim Modeli Kullanılarak Yapılan MaximumLikelihood Analizi Sonuçlarına Göre, Fungus İçin Analiz Edilen Tüm Verilerin Tek Ana Grup (*Aspergillus* grubu) Altında Toplandığı Görülmektedir. Gen Dizisi Benzerliği Sonucuna Göre de En Yakın Tür *Aspergillus fumigatus* Olduğu Bulunmuştur. Filogeni Verilerine Göre, Ordu'dan Tespit Edilen Fungus'nin *Aspergillus* Cinsine Ait Olduğu Belirlenmiş ve *Aspergillus flavus* Olarak Tanımlanmıştır

Çizelge 4.26 *Aspergillus flavus* Biyoassay Sonuçları

Kullanılan Konsantrasyonlar ve uygulanan bakteri türü	İnstar	1. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	2. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	3. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	Genel Ölüm Oranı	Abbot sonucu (%) Ölüm Oranı
<i>Aspergillus flavus</i>						
1,5.10 ⁶	2.-3.instar	1Ö/19C	1Ö/19C	-	3,3	1,7
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
	4.-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1.5.10 ⁷	2.-3.instar	3Ö/17C	2Ö/18C	2Ö/18C	11,6	10,1
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	1Ö/19C	2Ö/18C	-	5	5
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol					
1,5.10 ⁸	2.-3.instar	4Ö/16C	4Ö/16C	6Ö/14C	23,3	22,05
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	6Ö/14C	4Ö/16C	5Ö/15C	25	23,7
	Kontrol	-	-	1Ö/19C		
	4.-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10 ⁹	2.-3.instar	7Ö/13C	6Ö/14C	6Ö/14C	31,6	30,49
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	3Ö/17C	5Ö/15C	5Ö/15C	21,6	21,6
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	4Ö/16C	4Ö/16C	3Ö/17C	18,3	18,3
	Kontrol	-	-	-		
<i>Aspergillus flavus</i>						

Çizelge 4.27 *Aspergillus nidulans* Biyoassay Sonuçları

Kullanılan Konsantrasyonlar	İnstar	1. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	2. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	3. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	Genel Ölüm Oranı	Abbot sonucu (%) Ölüm Oranı
<i>Aspergillus nidulans</i>						
1,5.10⁶	2.-3.instar	-	1Ö/19C	1Ö/19C	3,3	1,7
	Kontrol	-	1Ö/19C	-		
	3.-4.instar	-	1Ö/19C	-	1,6	1,6
	Kontrol	-	-	-		
	4.-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1.5.10⁷	2.-3.instar	4Ö/16C	2Ö/18C	1Ö/19C	11,6	11,6
	Kontrol	-	-	-		
	3.-4.instar	1Ö/19C	1Ö/19C	-	3,3	3,3
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10⁸	2.-3.instar	5Ö/145	5Ö/15C	4Ö/16C	23,3	22,05
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	5Ö/15C	6Ö/14C	4Ö/16C	25	23,7
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	4.-5.instar	-	1Ö/19C	-	1,6	1,6
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10⁹	2.-3.instar	8Ö/12C	5Ö/15C	6Ö/14C	31,6	30,4
	Kontrol	-	-	1Ö/19C		
	3.-4.instar	5Ö/15C	5Ö/15C	5Ö/15C	25	25
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	3Ö/17C	3Ö/19C	4Ö/19C	16,6	16,6
	Kontrol	-	-	-		
<i>Aspergillus nidulans</i>						

Çizelge 4.28 *Aspergillus sp.* Biyoassay Sonuçları

Kullanılan Konsantrasyonlar ve uygulanan bakteri türü	İnstar	1. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	2. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	3. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	Genel Ölüm Oranı	Abbot sonucu (%) Ölüm Oranı
<i>Aspergillus sp.</i>						
1,5.10⁶	2.-3.instar	-	-	1Ö/19C	1,6	-
	Kontrol	-	-	1Ö/19C		
	3.-4.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
	4.-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1.5.10⁷	2.-3.instar	2Ö/18C	2Ö/18C	1Ö/19C	8,3	6,8
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	1Ö/19C	2Ö/18C	-	5	5
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol					
1,5.10⁸	2.-3.instar	3Ö/17C	2Ö/18C	2Ö/18C	11,6	10,1
	Kontrol	-	1Ö/19C	-		
	3.-4.instar	2Ö/18C	-	2Ö/18C	6,6	5,08
	Kontrol	-	1Ö/19C	-		
	4.-5.instar	-	1Ö/19C	-	1,6	1,6
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10⁹	2.-3.instar	5Ö/15C	5Ö/15C	6Ö/14C	26,6	25,4
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	4Ö/16C	3Ö/17C	4Ö/16C	18,3	18,3
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	3Ö/17C	3Ö/17C	2Ö/18C	13,3	13,3
	Kontrol	-	-	-		
<i>Aspergillus sp.</i>						

Çizelge 4.29 *Actinomucor elegans* Biyoassay Sonuçları

Kullanılan Konsantrasyonlar ve uygulanan bakteri türü	İnstar	1. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	2. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	3. tekerrür Ölü/Canlı sayıları	Genel Ölüm Oranı	Abbot sonucu (%) Yüzde Ölüm Oranı
<i>Actinomucor elegans</i>						
1,5.10 ⁶	2.-3.instar	1Ö/19C	-	-	1,6	-
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
	4.-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10 ⁷	2.-3.instar	2Ö/18C	2Ö/18C	3Ö/17C	11,6	10,1
	Kontrol	-	-	1Ö/19C		
	3.-4.instar	1Ö/19C	1Ö/19C	-	3,3	3,3
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10 ⁸	2.-3.instar	2Ö/18C	2Ö/18C	3Ö/17C	11,6	11,6
	Kontrol	-	-	-		
	3.-4.instar	3Ö/18C	2Ö/18C	1Ö/19C	10	10
	Kontrol	-	-	-		
	4.-5.instar	-	-	-	-	-
	Kontrol	-	-	-		
1,5.10 ⁹	2.-3.instar	3Ö/7C	4Ö/16C	2Ö/18C	15	13,6
	Kontrol	1Ö/19C	-	-		
	3.-4.instar	4Ö/16C	2Ö/18C	2Ö/18C	13,3	13,3
	Kontrol	-	-	-		
	4-5.instar	2Ö/18C	2Ö/18C	3Ö/17C	11,6	11,6
	Kontrol	-	-	-		
<i>Actinomucor elegans</i>						

4.3 Laboratuvar Koşullarında Etkili Olan Entomopatojenlerin Temsili Depo Koşullarında İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi

DNA izolasyonu ve filogeni çalışmaları sonucu *P. interpunctella*'da tespit edilen ve laboratuvar koşullarında etkili olan bakterilerden biri Bakteri 4 (*Bacillus cereus*) temsili depo ortamında *P. interpunctella* ergin bireylerine karşı test edilmiştir. Bunun için %90 oranında öğütülmüş fındık %10 oranında buğday unu içerecek şekilde karıştırıldıktan sonra Evans ve Shapiro (1997) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek besin içerisine bakteri 4 (*Bacillus cereus*) süspansiyonu daha önce istatistiksel olarak belirlenmiş etkili dozajlarını içerecek şekilde 1/10 oranında katılarak blender ile homojen oluncaya kadar karıştırılmıştır. Bu karışımdan 90x15 mm ebatlarında dairesel besin tabletleri üretilmiştir (Şekil 4.63, Tablo 4.51). Deneyin kontrol grubu için ise distile su ile hazırlanmış fındık tabletler kullanılmıştır.



Şekil 4.22 Temsili Depoya Asılan
Fındık Tabletler

Bu tabletler 2x2x2 m ebatlarındaki temsili depo kabinine asılarak test edilmiştir (Şekil 4.64). Kuru meyve güvesinin biyolojisi ve entomopatojenlerin etki süresine göre en az 30 gün süreyle deney düzeneğinin işlemesi sağlanmıştır. Deney sonunda besin tuzaklarındaki canlı ve ölü larvalar sayılarak, ölen larvalar mikroskop altında bakteri ve fungus enfeksiyonunu teyit etmek için incelenmiştir.



Şekil 4.23 Hazırlanan Temsili Depo Şartları

Temsili depo ortamında gerçekleştirilen bioassay denemesi sonucunda kontrol grubundaki ve deney grubunda bulunan ergin dişi bireyler yumurta bırakıp (Şekil 4.24, 4.25) ölmüştür.



Şekil 4.24 Fındık Tableti Üzerine
Yumurta Bırakan Dişi Bireyler

Kontrol grubunda sağlıklı şekildeki larvaların asılan fındık tabletlerin üzerinde olduğu ve beslendiği mikroskop altında gözlenmiştir (Şekil 4.25). Deney grubunda ise *B. cereus* (Ordu) içeren tablette ölü larvaların olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.25 Kontrol Grubundaki Sağlıklı Gelişim

4.4 İstatistiksel Analiz

İzole edilmiş bakteri ve mantar izolatlarının patojenite etkilerine; dozun, izolatların ve farklı doz solüsyonu içeriğinin etkisinin olup olmadığı tek yönlü Anova testi ile araştırılmıştır. LD50 ve LD90 değerlerinin hesaplanmasında, probit analiz programı kullanılmış, bu değerlerin karşılaştırılmasında ise t testi uygulanmıştır (Tablo). İzolatlar ise kendi arasında LSD testi ile karşılaştırılmış ve Tukey Hsd analizi kullanılarak yorumlar yapılmıştır.



Çizelge 4.30 İzole Edilen Bakterilerin İnstarlarına Göre Ayrı Ayrı Hesaplanmış LD50 ve LD90 Değerleri

				%95 güven aralığında LD50 değerinin alt ve üst sınırları	
İzolatlar	İnstar	LD50	LD90	Alt Sınır	Üst Sınır
<i>B. cereus</i>	2-3. instar	7,3x10 ⁷	1x10 ⁹	4,8x10 ⁷	1,1x10 ⁸
	3-4. instar	1,5x10 ⁹	6,3x10 ⁹	7,6x10 ⁸	4,7x10 ⁹
	4-5. instar	3,3x10 ¹⁰	1,7x10 ¹¹	4,5x10 ⁹	1,3x10 ¹²
<i>B. firmus</i>	2-3. instar	1,5x10 ⁸	6,6x10 ⁹	9,2x10 ⁷	2,9x10 ⁸
	3-4. instar	1,7x10 ⁹	1,4x10 ¹³	7,7x10 ⁸	6,9x10 ⁹
	4-5. instar	8,5x10 ¹²	2,3x10 ¹⁶	3,5x10 ⁹	4x10 ¹⁶
<i>B. licheniformis</i>	2-3. instar	3,1x10 ⁸	4,3x10 ¹⁰	1,5x10 ⁸	8,1x10 ⁸
	3-4. instar	6,6x10 ⁹	3,8x10 ¹¹	1,6x10 ⁹	3x10 ¹⁰
	4-5. instar	6,3x10 ¹⁰	2,1x10 ¹²	6,8x10 ⁹	2,8x10 ¹⁶
<i>B. pumilus</i>	2-3. instar	4,6x10 ⁸	2x10 ¹⁰	2,5x10 ⁸	1x10 ⁹
	3-4. instar	4,8x10 ⁹	9,6x10 ¹²	1,9x10 ⁹	3,1x10 ¹³
	4-5. instar	2,4x10 ¹¹	3,7x10 ¹³	1,2x10 ¹⁰	4,1x10 ²¹
<i>B. stratosphericus</i>	2-3. instar	4x10 ¹²	6,1x10 ¹⁵	4,6x10 ⁹	1,7x10 ¹⁶
	3-4. instar	6x10 ¹³	1,1x10 ¹⁶	5,7x10 ⁹	8,2x10 ¹⁶
	4-5. instar	6,3x10 ¹³	2,1x10 ¹⁵	6,8x10 ⁹	2,8x10 ³⁰
<i>B. zhanghouensis</i>	2-3. instar	8,5x10 ¹²	2,3x10 ¹⁶	3,5x10 ⁹	4x10 ¹⁶
	3-4. instar	2,5x10 ¹³	4,6x10 ¹⁵	4x10 ⁹	1,4x10 ¹⁵
	4-5. instar	3,5x10 ¹⁵	1,9x10 ¹⁸	3x10 ¹³	-
<i>Methylobacterium</i> sp.	2-3. instar	3,8x10 ⁹	1x10 ¹⁴	1,1x10 ⁹	3,6x10 ¹³
	3-4. instar	8,6x10 ¹²	2x10 ¹⁵	6,1x10 ⁹	1,7x10 ¹⁶
	4-5. instar	1,4x10 ¹³	3,1x10 ¹⁴	3,9x10 ⁹	2,4x10 ¹⁵
<i>Bacillus</i> spp. (5nolu)	2-3. instar	6,7x10 ⁸	4x10 ¹²	3,4x10 ⁸	1,7x10 ⁹
	3-4. instar	1,2x10 ⁹	1,810 ¹³	7,1x10 ⁸	2,5x10 ⁹
	4-5. instar	1,3x10 ⁹	7,2x10 ⁹	9,2x10 ⁸	2,2x10 ⁹
<i>Bacillus</i> spp. (6nolu)	2-3. instar	1,8x10 ⁹	3,1x10 ¹³	7,1x10 ⁸	9,3x10 ⁹
	3-4. instar	1,7x10 ⁹	1,3x10 ¹⁴	5,4x10 ⁸	2,7x10 ¹³
	4-5. instar	6,8x10 ⁹	3,1x10 ¹³	2,3x10 ⁹	7,2x10 ¹³

Çizelge 4.31 İzole Edilen Bakterilerin İnstarlarına Göre Ayır Ayır Hesaplanmış LD50 ve LD90 Değerleri

				%95 güven aralığında LD50değerinin alt ve üst sınırları	
Funguslar	İnstarlar	LD50	LD90	Alt Sınır	Üst Sınır
<i>Actinomucor elegans</i>	2-3. instar	1,1x10 ¹⁵	1,7x10 ²⁰	4,4x10 ¹²	12x10 ⁴³
	3-4. instar	6x10 ¹⁴	7,9x10 ¹⁷	1,910 ¹²	2,4x10 ²¹
	4-5. instar	1,4x10 ¹³	1,6x10 ¹⁴	3,8x10 ⁹	1,7x10 ²⁴
<i>Aspergillus flavus</i>	2-3. instar	1,3x10 ¹³	1,5x10 ¹⁶	2,4x10 ⁹	9,3x10 ¹⁴
	3-4. instar	1,9x10 ¹³	7,2x10 ¹⁵	3,5x10 ⁹	1,3x10 ¹⁵
	4-5. instar	8,4x10 ⁹	8,9x10 ¹³	3,1x10 ⁹	1,4x10 ¹⁵
<i>Aspergillus nidulans</i>	2-3. instar	1,3x10 ¹³	1,5x10 ¹⁶	2,4x10 ⁹	9,3x10 ¹⁴
	3-4. instar	1,5x10 ¹³	5,4x10 ¹⁵	3x10 ⁹	6,8x10 ¹⁴
	4-5. instar	9x10 ⁹	1,2x10 ¹⁴	3,3x10 ⁹	1,4x10 ¹⁵
<i>Aspergillus sp.</i>	2-3. instar	4,1x10 ¹³	3x10 ¹⁶	5,2x10 ⁹	1x10 ¹⁶
	3-4. instar	1x10 ¹⁴	4,1x10 ¹⁶	9,4x10 ⁹	3,3x10 ¹⁷
	4-5. instar	1,6x10 ¹³	2,6x10 ¹⁴	4,1x10 ⁹	7,8x10 ¹⁶

Tukey Hsd Testine ek olarak bakteriler ve funguslar için Anova testi de uygulanmıştır ve %95 güven aralığında sonuçlar aşağıda verilmektedir.

Çizelge 4.32 *B. cereus* Anova Test Sonuçları

İnstar	Kontrol	1,5x10 ⁶	1,5x10 ⁷	1,5x10 ⁸	1,5x10 ⁹
2-3.instar	0 ± 0a	5 ± 0a	18.3 ± 4.3b	61.6 ± 6c	95 ± 2.9d
3-4.instar	0 ± 0a	0 ± 0a	6.6 ± 1.7b	21.7 ± 1.7c	48.3 ± 1.7d
4-5.instar	0 ± 0a	0 ± 0a	3.3 ± 1.7a	5 ± 2.9a	23.3 ± 1.7b
<i>Bacillus cereus</i>					

Çizelge 4.33 *B. firmus* Anova Test Sonuçları

İnstar	Kontrol	1,5x10 ⁶	1,5x10 ⁷	1,5x10 ⁸	1,5x10 ⁹
2-3.instar	0 ± 0a	6.6 ± 3.3a,b	18.3 ± 3.3b	50 ± 2.9c	78.3 ± 6d
3-4.instar	0 ± 0a	0 ± 0a	5 ± 2.9a	31.7 ± 3.3b	43.3 ± 1.7c
4-5.instar	0 ± 0a	0 ± 0a	1,7 ± 1.7a,b	5 ± 2.9a,b	10 ± 2.9b
<i>Bacillus firmus</i>					

Çizelge 4.34 B. licheniformis Anova Test Sonuçları

İnstar	Kontrol	1,5x10 ⁶	1,5x10 ⁷	1,5x10 ⁸	1,5x10 ⁹
2-3.instar	0 ± 0a	8.3 ± 4.3a,b	15 ± 2.9b	36 ± 3.3c	71,7 ± 3.3d
3-4.instar	0 ± 0a	1.7 ± 1.7a	1.7 ± 1.7a	8.3 ± 1.7a	35 ± 5b
4-5.instar	0 ± 0a	1.7 ± 1.7a	1.7 ± 1.7a	8.3 ± 1.7a	35 ± 5b
<i>Bacillus licheniformis</i>					

Çizelge 4.35 B. pumilus Anova Test Sonuçları

İnstar	Kontrol	1,5x10 ⁶	1,5x10 ⁷	1,5x10 ⁸	1,5x10 ⁹
2-3.instar	0 ± 0a	3.3 ± 1.7a	11.7 ± 1.7a	33.3 ± 3.3b	66.7 ± 4.4c
3-4.instar	0 ± 0a	0 ± 0a	3.3 ± 1.7a,b	8.3 ± 1.7b	35 ± 2.9c
4-5.instar	0 ± 0a	0 ± 0a	3.3 ± 1.7a	5 ± 2.9a	8.3 ± 3.3a
<i>Bacillus pumilus</i>					

Çizelge 4.36 B. stratosphericus Anova Test Sonuçları

İnstar	Kontrol	1,5x10 ⁶	1,5x10 ⁷	1,5x10 ⁸	1,5x10 ⁹
2-3.instar	0 ± 0a	1.7 ± 1.7a,b	11.7 ± 1.7a,b	13.3 ± 4.4b	26.7 ± 3.3c
3-4.instar	0 ± 0a	1.7 ± 1.7a	13.3 ± 3.3b	16.7 ± 3.3b	23.3 ± 1.7b
4-5.instar	0 ± 0a	0 ± 0a	0 ± 0a	1.7 ± 1.7a	1.7 ± 1.7b
<i>Bacillus stratosphericus</i>					

Çizelge 4.37 B. zanghouensis Anova Test Sonuçları

İnstar	Kontrol	1,5x10 ⁶	1,5x10 ⁷	1,5x10 ⁸	1,5x10 ⁹
2-3.instar	0 ± 0a	6.6 ± 1.7a,b	13.3 ± 1.7b	21.7 ± 1.7c	31.7 ± 1.7d
3-4.instar	0 ± 0a	0 ± 0a	3.3 ± 3.3a	18.3 ± 1.7b	21.7 ± 1.7b
4-5.instar	0 ± 0a	0 ± 0a	1.7 ± 1.7a	0 ± 0a	6.7 ± 1.7b
<i>Bacillus zanghouensis</i>					

Çizelge 4.38 Bacillus spp. (5nolu bakteri) Anova Test Sonuçları

İnstar	Kontrol	1,5x10 ⁶	1,5x10 ⁷	1,5x10 ⁸	1,5x10 ⁹
2-3.instar	0 ± 0a	5 ± 0a,b	13.3 ± 1.7b,c	18.3 ± 1.7c	68.3 ± 4.4d
3-4.instar	0 ± 0a	0 ± 0a	5 ± 2.9a	8.3 ± 1.7a	58.3 ± 6b
4-5.instar	0 ± 0a	0 ± 0a	5 ± 2.9a	5 ± 0a	53.3 ± 3.3b
<i>Bacillus spp. (5nolu)</i>					

Çizelge 4.39 *Bacillus spp.* (6nolu bakteri) Anova Test Sonuçları

İnstar	Kontrol	1,5x10 ⁶	1,5x10 ⁷	1,5x10 ⁸	1,5x10 ⁹
2-3.instar	0 ± 0a	53.3 ± 1.7a,b	11.7 ± 1.7b	28.3 ± 1.7c	46.7 ± 3.3d
3-4.instar	0 ± 0a	0 ± 0a	3.3 ± 1.7a	41.7 ± 1.7b	38.3 ± 1.7b
4-5.instar	0 ± 0a	0 ± 0a	0 ± 0a	16.7 ± 3.3b	26.7 ± 1.7c
<i>Bacillus spp. (6nolu)</i>					

Çizelge 4.40 *Bacillus spp.* (6nolu bakteri) Anova Test Sonuçları

İnstar	Kontrol	1,5x10 ⁶	1,5x10 ⁷	1,5x10 ⁸	1,5x10 ⁹
2-3.instar	0 ± 0a	0 ± 0a	0 ± 0a	16.6 ± 3.3b	26.7 ± 1.7c
3-4.instar	0 ± 0a	1.7 ± 1.7a	0 ± 0a	20 ± 0b	18.3 ± 1.7b
4-5.instar	0 ± 0a	0 ± 0a	0 ± 0a	3.3 ± 1.7a	16.7 ± 3.3b
<i>Methylobacterium sp.</i>					

4.5 Tartışma

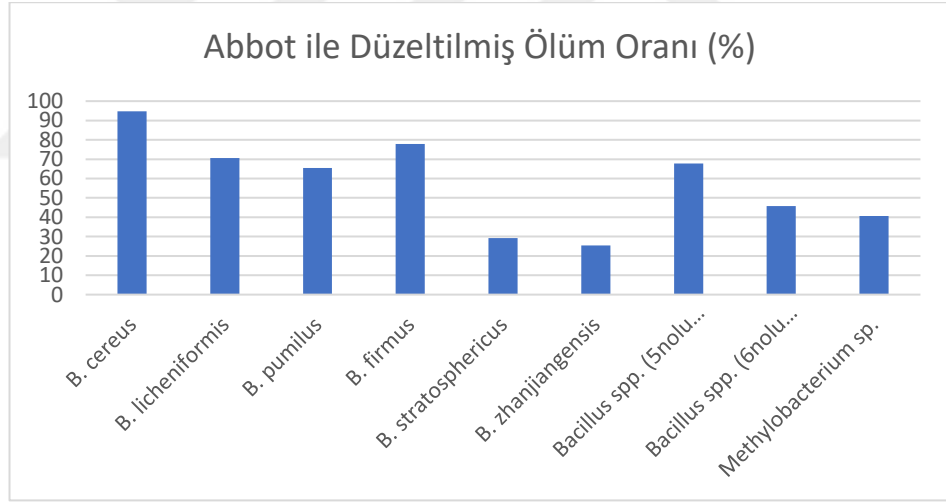
Canlı mikroorganizmalara ve bunların biyoaktif bileşiklerine dayalı biyopestisitler, uzun yıllardır araştırılmış ve sentetik pestisitlerin yerini alması için teşvik edilmiştir. Bununla birlikte, etkinlik eksikliği, tutarsız saha performansı ve yüksek maliyet, onları genellikle niş ürünlere yönlendirmiştir. Son zamanlarda, teknolojik gelişmeler ve dış ortamdaki büyük değişiklikler, biyopestisitlere bakış açısını olumlu yönde değiştirmiştir. Pazar penetrasyonunda önemli artışlar sağlanmış ancak biyopestisitler hala haşere kontrol ürünlerinin sadece küçük bir yüzdesini oluşturmaktadır. Faaliyet spektrumları, dağıtım seçenekleri, etkinin kalıcılığı ve uygulama alanlarındaki ilerleme, biyopestisitlerin artan kullanımına katkıda bulunmuştur fakat gerçekten dönüştürücü olan ve önemli ölçüde alımla sonuçlanan teknolojiler hala eksiktir.

Tez çalışma süresince hem kuru meyvelerde zarar yapan hem de depolanmış hububat ve mamullerinin en önemli zararlılarından biri olan Kuru meyve güvesi *Plodia interpunctella* (Lepidoptera; Pyralidae) ile biyolojik mücadele amaçlı entomopatojenik organizmalar izole edilerek tanımlanmıştır. Kuru meyve güvesi *P. interpunctella*, özellikle un ve kuru meyve ürünleri olmak üzere depolanmış tahıl ürünlerinin kozmopolit bir zararlısıdır (Rees, 2003). İnsan gıdalarıyla olan yakın ilişkisi, onu kimyasal böcek ilaçları dışındaki kontrol yöntemleri için birincil hedef haline getirmiştir.

Kitinazın tıp, tarım, çevresel iyileştirme ve diğer çeşitli endüstrilerdeki çok yönlü rolü, yüksek verimli kitinaz üreten gelişmiş özelliklere sahip mikroorganizmaların izolasyonunu büyük ölçüde gerektirmektedir. Tez çalışması sonuçlarından olan, izolasyonu ve tanımlaması yapılan bakterilerden bir tanesi de *Bacillus pumilus*'tur. Ekosistemlerinin ekstrem koşullarına özgü kitinaz üreten bakteri suşlarından biridir. Tanımlanan 9 bakteri izolatından kitinaz üretim potansiyeli en yüksek olan *Bacillus pumilus* 16S rDNA tiplemesi ile tespit edilmiş ve doğrulanmıştır. (Rishad ve ark., 2016). Kitinaz özellikle böcek gelişimini etkileyen önemli maddelerden biridir, kitin yapısının oluşumunu engeller böcek pupa döneminde gelişemeyebilir. Çalışmamızda bu bakterinin $1,5 \times 10^9$ konsantrasyonunda 2-3 instar larvalara %64-66 oranında öldürücü etki yapmıştır. (Çizelge 4.41) *B. pumilus*'tan kitinaz üretimi ile ilgili önceki raporlar bulunmuştur (Hoang ve ark., 2010). Ancak çalışmamızın mevcut izolatu enzim aktivitesi kitinaz üretimi, seçilen izolattan kitinazların özütlemesi, saflaştırılması ve analiz edilmesiyle protein seviyesinde doğrulanmamıştır. Zararlı böcek türlerinin birçoğu kimyasal böcek ilaçlarına karşı direnç geliştirdiğinden, enzim bazlı böcek ilacı formülasyonları, kimyasal böcek ilaçlarına mükemmel bir alternatif sunar. Bu nedenle, bu haşerenin biyopestisit bazlı kontrolü, pestisit içermeyen gıdaya yönelik artan talepte büyük değere sahip olabilir. İnsektisitlerin toksisitesine ilişkin farkındalığın artmasıyla birlikte, biyopestisit bazlı tarım tekniklerine olan talep hem yetiştiriciler hem de zirai ilaç şirketleri tarafından daha fazla tercih edilmeye başlanmıştır. Çalışmamızda *B. pumilus* izolatından elde edilen kitinaz bazlı çözeltiler biyopestisit geleceği için büyük umutlar sergilemektedir.

Çizelge 4.41 Biyoassay Denemelerinde En Etkili Olan Dozların İnstarlar Üzerindeki Ölüm Oranları

Bakteriler	İnstar	Doz	Abbot ile Düzeltilmiş Ölüm Oranı (%)
<i>B. cereus</i>	2-3.instar	$1,5.10^9$	94,8
<i>B. licheniformis</i>	2-3.instar	$1,5.10^9$	70,6
<i>B. pumilus</i>	2-3.instar	$1,5.10^9$	65,4
<i>B. firmus</i>	2-3.instar	$1,5.10^9$	77,9
<i>B. stratosphericus</i>	2-3.instar	$1,5.10^9$	29,2
<i>B. zhanjiangensis</i>	2-3.instar	$1,5.10^9$	25,4
<i>Bacillus spp.</i> (5nolu bakteri)	2-3.instar	$1,5.10^9$	67,7
<i>Bacillus spp.</i> (6nolu bakteri)	2-3.instar	$1,5.10^9$	45,7
<i>Methylobacterium sp.</i>	2-3.instar	$1,5.10^9$	40,6



Şekil 4. 26 Bakterilerin Ölüm Oranlarını Gösteren Grafik

Diğer önde gelen bakteri izolatlarımızdan birisi de olan *Bacillus firmus*'tur. *B. firmus*'un kitinaz üretimine ilişkin daha önce herhangi bir rapor bulunmamaktadır. Bu suşun sonuçları daha önce sera koşullarında domatestte *M. incognita* için rapor edilmiştir (Terefe ve ark., 2009) ve *M. incognita* popülasyonunu %76 oranında azaltıldığı tespit edilmiştir (Terefe ve ark., 2009). Kimyasal nematodların kullanımına ilişkin artan kısıtlamalar nedeniyle, biyokontrol de dahil olmak üzere alternatif nematod yönetimi stratejileri geliştirilmektedir. Çalışmamızda *B. Firmus* bakterisinin

1.5.10⁹ konsantrasyonunda 2-3 instar *P. Interpunctella* larvalarına %78,3- 77,9 oranında etkili oldu. Yapılan bir çalışmada *Bacillus firmus* I-1582'nin havuç (tarla ve sera) ve hıyar (sera) üzerinde nematisit olarak temsili kullanımlarının değerlendirilmesine dayanarak biyolojik ajan olarak kullanılabilirlik kanıtlanmıştır (Aljaafri ve ark., 2019). Yapılan diğer bir çalışmada tohum korunmasında *Burkholderia renjensis*, *Streptomcyes avermentilis* ve *Bacillus firmus* uygulanmasıyla etkili bir yolu olduğu aynı zamanda hastalık ve nematod fidelere zarar vermesi (*M. incognita*) ile mücadelede etken bir yol olduğu ve bu bakterilerin biyolojik mücadele ajanı olarak potansiyellerinin varlığı rapor edilmiştir (Weasam ve ark., 2019). Nematod için *Bacillus firmus*'a dayalı bir biyolojik ajan olan Votivo, bir ilaç formu ile birçok şirket, biyopestisit ve sentetik pestisitlerin birlikte kullanımını aktif olarak teşvik etmektedir. Kontrol, sentetik bir insektisit olan Pancho ile birlikte tohum ilaçlamada kullanılmaktadır (John, ark.,2011). Yapılan bir diğer çalışmada *Tenebrio molitor* L.'un kurdu numunelerinin mikrobiyal popülasyonu laboratuvar koşullarında değerlendirilmeye çalışılmıştır. Böceklerin hem vücut yüzeylerinden hem de bağırsaklarından mikrobiyal örnekler hazırlanmıştır. Seçkin koloniler izole edilmiş ve saflaştırılmış ve patojen izolatlarından bir tanesi de *Bacillus firmus* olarak belirlenmiş (Mohammad ve ark., 2020).

Tez projesi çalışmamızın bir diğer izolatu *Bacillus licheniformis*'dir. Bu patojen ilk kez bu tez çalışması ile bizim tarafımızdan *P. Interpunctella* 'nın larvalarından izole edilmiştir. Çalışmamızda *Bacillus licheniformis* bakterisinin 1.5x10⁹ konsantrasyonunda 2-3 instar *P. interpunctella*, larvalarına %71,6-70.6 oranında etkili olduğu tespit edilmiştir. Aynı bakteri şusu farklı araştırmacılar tarafından farklı kaynaklardan izole edilmiştir (Zhao ve ark., 2014; Sicuia ve ark., 2014)

Biyokontrol mikrobiyal suşları kullanan haşere ve hastalık yönetimi, organik tarımın veya entegre tarım sistemlerindeki kimyasal girdileri azaltabilen bir fitosaniter (bitki sağlığı) alternatifinin bir talebidir. *Bacillus spp.* Toprak kaynaklı fitopatogenik mantarları baskıladığı kanıtlanmıştır. RDIPP, *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. licheniformis* ve *B. subtilis*'in bitki korumada yararlı olmasını sağlayan suşları seçmiş ve bunları tohum ve toprak ıslahı için biyoürünler olarak formüle etmiştir. Bu çalışmanın sonucunda *Bacillus licheniformis* 77.1s biyokontrol suşunun *Beauveria spp* gibi entomopatogenik mantarlarla in vitro uyumluluğunu ortaya koymuştur ve sonuç olarak bu biyolojik kontrol mikroorganizmaları, zararlıları ve hastalıkları aynı anda

önlemek için kombinasyon halinde kullanılabileceği önerisinde bulunulmuştur. (Sicuia ve ark., 2014). Charles W. Bacon ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Patentli bir endofitik bakterinin kimliği, *B. subtilis* alt gruplarından biri olan *B. licheniformis* suşu, mısır ve diğer bitkilerin endofitik mikotoksin üreten bir patojeni olan *Fusarium moniliforme* mantarına karşı antagonist olduğu rapor edilmiştir. *B. subtilis* izolatlarını ve diğer yakından ilişkili *Bacillus* türlerini endofitik kolonizasyon kapasitesi açısından mısırdaki kolonileştiğini ve *F. moniliforme*'a karşı etkili olduklarını ortaya koydu. Endofitik alışkanlık ve test mantarına gösterilen etki, bu türün izolatlarının, endofitik alışkanlığın istendiği yerlerde önemli biyolojik kontrol organizmaları olabileceğini göstermektedir. Bizim çalışmamızda da *B. licheniformis* *P. interpunctella* larvalarına karşı hatırı sayılı bir insektisidal aktivite göstermiştir. Min-Hae Jeong ve arkadaşları (2015) *Bacillus licheniformis* MH48 kullanımı yoluyla kıyıda ıslah edilmiş arazide yaprak mantarı hastalıklarının kontrolünü ve *Camellia oleifera* fidelerinin büyümesinin desteklenmesini araştırmıştır. *B. licheniformis* MH48, yaprak patojenlerini %37,4 ila %50,5 oranında inhibe edebilen litik enzimler kitinaz ve β -1,3-glukanaz üretebilmiştir. Bununla birlikte, bakteriyel aşılama ile fideelerde yaprak hastalıkları ortaya çıkmış ve tuz stresine dayanamadıkları için hayatta kalma oranları düşmüştür. *B. licheniformis* MH48, fide kök büyümesini potansiyel olarak uyaran fitohormon oksini üretir. Bu çalışma sonucunda *B. licheniformis* MH48'in sadece yaprak mantar hastalıklarının kontrolünde değil, aynı zamanda kıyı bölgelerinde *C. oleifera* fidelerinin büyümesinin teşvik edilmesinde de etkili olduğunu ortaya koydu.

Tunus topraklarından izole edilen dokuz kitinaz üreten suş arasında, S213 adı verilen bir izolat güçlü bir kitinolitik aktivite sergilemiştir. Kitinolitik aktivite, kolloidal kitin veya mantar hücre duvarları ile indüklenmiş ve geç durağan fazda ulaşılan en yüksek kitinaz aktivitesi göstermiştir. Salgılanan kolloidal kitin kaynaklı proteinlerin, *B. licheniformis* ATCC 14580'in kitinaz dizisi ile yüksek homoloji sergileyen peptit sekansları temelinde kitinaz olarak tanımlanmıştır. Ayrıca, süpernatan içeren kitinolitik aktivite, *Phoma tbbigins* dahil olmak üzere birkaç fitopatojenik fungi büyümesini de inhibe etmiştir. İlginç bir şekilde, *Medicago truncatula*'da *P. Medicago*'in neden olduğu sönümleme hastalığını etkili bir şekilde azalttığı tespit edilmiş ve fitopatojen uygulamasına karşı enzim bazlı biyopestisitlerde öngörülmesi önerisinde bulunulmuştur (İmen, ark.,2015). Raaijmakers ve ark., (2012)

yaptıkları araştırmada, *Bacillus*'un bu yeteneğinin incelenmesi, *B. thuringiensis* tarafından üretilen Cry proteinlerinin böcek öldürücü aktivitesinin keşfedilmesiyle başladı; şu anda, *Bacillus* cinsinin birkaç türü (*B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. amyloliquefaciens* ve *B. licheniformis*), tarım için önemli hastalıkların insidansını azaltmak için geniş çapta çalışılmaktadır (Raaijmakers ve Mazzola, 2012). Aynı şekilde, *Bacillus* cinsinin diğer türleri, örneğin: *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. licheniformis* ve *B. amyloliquefaciens*, ticari formülasyonlardaki başarılı uygulamaları ve esas olarak mantar hastalıklarının kontrolü için geliştirilenler ile öne çıkmaktadır (Tamez ve ark., 2001) İmen Blibech ve arkadaşları yaptıkları bir araştırmada Tunus'ta bir biyodinamik çiftlikte *Bacillus* entomopatojenik bakteri oluşumu, zeytin ağacı (*Olea europaea* L.) habitatlarından alınan 75 örnek incelenerek belirlendi. Toplam 40 *Bacillus* izolatu fenotipik, fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerine göre karakterize etmişlerdir. *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Brevibacillus brevis*, *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus sp.* türlerinin izolatları. (1), *Bacillus sp.* (2) ve standart bir Btk HD-1 suşu, zeytin ağacı zararlıları lepidopteran *Prays oleae* (Bernard) ve *Palpita unionalis* (Hübner) ve koleopteran *Hylesinus oleiperda* (F.) ve *Phloeotribus scarabaeoides* (Bernard) larvalarına karşı taze yapay diyet üzerindeki biyoanalizlerde ayrı ayrı kullanılmıştır. Larvalar, 25 gr toz zeytin ağacı yaprağı içeren suni bir diyetle başarılı bir şekilde teste tabi tutulmuştur. Kontrol verileri ile karşılaştırıldığında sadece Btk ve *B. licheniformis*, *P. polymyxa* ve *B. brevis* izolatlarının entomopatojen olduğu görülmüştür. Tedaviden 7 gün sonra değerlendirilen larva ölüm oranı, Btk'den lepidopteran larvalarına yüksek ölüm oranları (*P. oleae* için %86,6 ve *P. unionalis* için %80,9) ve karşı düşük ölüm oranları, koleopteran zararlıları. *B. brevis* izolatları, *P. oleae*'ye karşı (%67,9'a kadar) yüksek ölüm oranları göstermiştir *B. licheniformis* izolatları, *P. oleae* için %59,2'ye ve *P. unionalis* için %43,6'ya varan larva ölümlerine neden olduklarını rapor etmişlerdir (İmen, ve ark., 2012). Bu sonuç çalışmamızda izole ettiğimiz ve karakterize ettiğimiz bir basillus türü olan *B. Licheniformis* şusunun entomopatojen bir ajan olarak kullanabilirliğini göstermiştir. Yapılan başka bir çalışmada test edilen tüm suşlar arasında yalnızca *B. licheniformis* CG62, kırmızı palmye kurdu larvalarına karşı önemli insektisidal aktivite sergilediğini ortaya koymuştur. Bu çalışmada karakterize edilen ve test edilen *Bacillus* izolatları, temasa bağlı bir şekilde kırmızı palmye zararlısının yumurtadan çıkmasını engellediğini rapor etmiştir. Böylece, bu izolatlar tedavi edici olmaktan çok önleyici olarak da

kullanılabilir önerisinde bulunmuşlardır (Francseca ve ark., 2015). Bu çalışma, *Bacillus* suşları *B. licheniformis* entomopatojenitesinin *P. Interpunctella*'nın larvalarına karşı entomopatojen etkisinin olduğunu bildiren ilk çalışmadır ve bunun yanında Lepidoptera böcek zararlıları yanında Coleoptera zararlılarına da test edilebilir olduğunun önünü açmaktadır. Ayrıca *B. licheniformis* ve diğer izolatlarımız olan bakteriler, entomopatojen olarak bitki kontrolünden zararlı kontrolüne kadar uzanan geniş bir yelpaze ile hasattan depolamaya kadar tüm zararlılara farklı evrelerde uygulanabilirler. Uygulandığında yaprak yüzeylerinde yaşayabilir. Won,ve ark., (2018) yaptıkları bir çalışmada, *Bacillus licheniformis* MH48 kullanılarak bir konteyner fidanlığında *Fusarium* kök çürüklüğünün kontrolü ve kıyı çamı (*Pinus thunbergii*) fidelerinin gelişimini araştırmıştır. *Fusarium oxysporum*'un neden olduğu *Fusarium* kök çürüklüğü, fidanlıklardaki kıyı çamı fidelerinin ciddi zarar görmesinden sorumludur. Enfeksiyöz hastalıkları olmayan yüksek kaliteli fideler, güçlü büyümeye neden olur. *B. licheniformis* MH48, kitinaz ve β -1,3-glukanaz gibi mantar hücre duvarlarını parçalayan enzimler üretir. Bu litik enzimler, kök çürüklüğünün bastırılmasında kilit rol oynadığı bulunan *F. oxysporum hyphae*'ye karşı yıkıcı aktivite sergilemiştir. Ayrıca *B. licheniformis* MH48 sabit atmosferik nitrojen ve çözünmüş inorganik fosfat yoluyla topraklardaki nitrojen ve fosforu artırmıştır. *B. licheniformis* MH48, fide kök gelişimini uyararak ve fidelerde besin alımının artmasına neden olan fitohormon oksini üretmiştir. Hem bakteriyel aşılama hem de kimyasal gübre uygulamaları, fide büyümesini ve biyokütleyi önemli ölçüde artırmış ve bakteriyel aşılamanın fide gelişimi üzerinde daha büyük bir etkisi olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına dayalı olarak, *B. licheniformis*, *Fusarium* kök çürüklüğüne karşı biyolojik bir ajan olarak ve *Pinus thunbergii* fidelerinin büyüme ve gelişimini destekleyici olarak potansiyel etki gösterdiğini rapor etmişlerdir (Won, ark., 2018). Bizim çalışmamızın bir izolatu olan. *B. licheniformis* bu tür çalışmalarda kullanılabilir olduğu görülmektedir.

Bu tez çalışmasında *P. Interpunctella* larvalarından izole edilen ve karakterize edilen önemli bir entomopatojen olan *Bacillus cereus*'tur. Bu tür birçok araştırmacı tarafından farklı böceklerden ve farklı habitatlardan izole edilmiştir (Priest ve ark., 2004). *Bacillus spp.* cinsi içinde yer alan şu üç tür, *B. thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis* insektisidal toksinler açısından en çok çalışılan taksonlardır. Son filogenetik çalışmalara dayalı 16S ve 23S rRNA dizisi verileri, *B. thuringiensis* ile *B.*

cereus, *B. anthracis* ve *Bacillus mycoides*'in (Firmicutes: Bacillaceae) neredeyse aynı olduğunu kabul eder. Bununla birlikte, benzersiz patojeniteleri böcek öldürücü toksinlerinin özellikleri ve çeşitli etki biçimleri, her birine ayrı tür adları vererek ayırt edici özelliklerini destekler olduğu rapor edilmiştir (Priest ve ark., 2004). İlk olarak 1901 yılında bir Japon ipekböceği yetiştiricisi Ishiwata Shigetani tarafından *Bombyx mori*'de facherie veya faccid hastalığı ile izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Daha sonra, enfekte *Ephestia kuehniella*'dan izole edilmiş ve 1911'de Alman mikrobiyolog Ernst Berliner tarafından yeniden keşfedilmiştir (Berliner, 1915; Knowles, 1994). Bt bakteri grubu *Bacillus cereus* kompleksinin bir üyesidir ve güçlü bir filogenetik ilişkiye sahiptirler (Fayad ve ark., 2019). *B. thuringiensis*, *Bacillus cereus* grubunun bir üyesi olarak kabul edildiğinde belki de hikâye daha da karmaşık hale geliyor. Bu grup ayrıca *B. anthracis*, *Bacillus weihenstephanensis* ve *Bacillus mycoides*'i de içerir. Tartışma amacıyla, *B. cereus*, *B. thuringiensis* ve *B. anthracis*'in genotip düzeyinde neredeyse ayırt edilemez olduğunu belirtmek ilginçtir (Helgason ve ark., 2000). *Bacillus cereus*, çoğunlukla gıda kontaminasyonu ile zehirlenme ve insan sindirim yolu ile alakalı rolü nedeniyle incelenmiştir ancak, bu bakteri Bt'ye çok benzer şekilde toprak ve bitkilerle ilişki kurar (Arneson ve ark., 2008). Yukarıda belirtildiği gibi, *B. cereus* ve *B. thuringiensis* çok yakından ilişkili iki taksondur, ancak farklı üretirler. Toksinler. Bt'den farklı olarak, *B. cereus*'un endosporu böcek öldürücü değildir. Hem *B. thuringiensis* hem de *B. cereus* proteinli olmayan böcek öldürücü ekzotoksinler üretirler. *B. thuringiensis* tarafından üretilen ve küçük proteinli bir ekzotoksin *B. cereus* tarafından da üretilir (Perchat ve ark., 2005). *B. cereus*'un böcek bağırsağında büyüdüğü ve çoğaldığı gösterilmiş olsa da bu bakteri çoğunlukla en etkili virülans faktörlerinin üretimi ile fırsatçı bir patojen olarak kabul edilir. Entomopatojenik toksin genleri, *B. cereus sensu lato*'nun bir üyesi olarak *B. thuringiensis israelensis* bthur0013 süşun genomunda da bulunmuştur., (Zwick ve ark., 2012). Yapılan bir çalışmada morfolojik, beslenme ve fizyolojik özelliklerine göre *Agrotis segetum*'dan 9 bakteri izolatu karakterize edilmiş bu bakterilerden bir tanesi de *Bacillus cereus* olmuştur (Ags1) (Sevim ve ark., 2010a). Yaygın bir toprak organizması olan *Bacillus cereus*'un çeşitli durumlarda böcekler için bir patojen olduğu bulunmuştur. Bizim çalışmamızda izole edilen *B. cereus* türü *P. interpunctella* larvaları üzerinde en etkili insektisidal aktiviteyi sergilemiştir. *B. cereus* $1,5 \times 10^9$ konsantrasyonunda 2-3 instar *P. interpunctella*, larvalarına %95-94,8 oranında etkili oldu. *P. Interpunctella* 'un bakteri

florasından ilk kez bu çalışma belirlenmiştir ve bu tür varlığı *Bacillus* cinsine ait olduğu moleküler ve filogenetik çalışmalar ile tespit edilmiştir. *Bacillus* cinsi gibi, türleri ve biyolojik kontrol amaçlı kullanılan birkaç tür *Enterobacter* birçok böcekten izole edilmiştir. (Sandra ve Douglas, 2004). Bir çalışmada belirlenen birçok *Bacillus* izolatları böcek popülasyonları kaynaklı olup zaten böceklerde yaygın olduğu gösterilmiştir (Yılmaz ve ark., 2006; Cox ve Gilmore 2007; Kuzina ve ark., 2001; Sezen ve ark., 2005; Osborn ve ark., 2002; Yılmaz ve ark., 2006; İnce ve ark., 2008). *P. Interpunctella* 'nın bakteri florası ile ilgili ayrıntılı başka çalışmalar olmadığı için bir karşılaştırma yapamıyoruz, ayrıca bu çalışmada belirlenen tüm bakteri izolatları farklı çıkmıştır. Bu izolatların, zararlıya karşı kullanım için umut verici bir biyokontrol ajanı olduğu görünmektedir. Bir başka araştırmada, bu bakterinin *P. Interpunctella* larvalarına karşı bir biyokontrol ajanı olarak potansiyelini olduğu tespit edilmiştir. Bu alanda yapılan bir çalışmada toplam 10 bakteri suşu bunlardan biride *Bacillus cereus*, Türkiye'nin Doğu Anadolu bölgesindeki farklı böcek türlerinden izole edildiği bildirilmiştir. Böcek öldürücü etkileri *Bruchus dentipes Baudi*'nin yetişkinleri üzerinde in vitro petri kaplarında test edilmiştir. Yedi gün sonra uygulamalarda, test edilen tüm suşlar aşağı yukarı bu zararlıya karşı böcek öldürücü aktivite gösterdiği aynı zamanda bu zararlıya karşı biyolojik kontrol maddesi olarak kullanım için iyi birer aday olduğu rapor edilmiştir (Tozlu ve ark., 2021). Günümüzde *Bacillus* türleri biyolojik bir insektisit olarak kullanılmaktadır. Gerçek bir biyolojik kontrol ajanı olmak için, bakterinin çevrede sürdürülebilir bir mevcudiyet elde etmesi gerekir. Sürdürülebilirliğin gerekli bir bileşeni, bakterinin çevrede, tercihen haşere türlerinin onunla temasa geçeceği yerde etkili bir şekilde çoğalma ve sporlanma kapasitesidir. Burada 9 farklı fenotipe sahip *Bacillus* izolatları arasında bazıları kitin yapısını bozan kitinaz enzimi veya farklı enzimlerden dolayı *P. Interpunctella* larvasını öldürdüklerini düşünmekteyiz. Ayrıca enfekte olan ve bundan dolayı ölen larvalarından çoğalan entamopatojen sağlıklı olan larvalara tekrar tekrar geçme yeteneğine sahip olduğunu gösterdik. Lepidoptera takımından olan *P. Interpunctella* güvesi için toksik olduğunu bildiğimiz izolatlar arasında, kitinaz üreten bazı izolatlar olduğu da tespit edilmiştir. Kitinaz üreten bakteriler hastalıklı böcek kadavralarından izole edilebilir bir enzimdir. Yapılan bir çalışmada *Serratia marcescens* suşu SEN, 27°C sıcaklıkta ve pH 9.0'da en yüksek enzim üretimini oluşturabilir. Ekzokitinaz, endokitinaz ve kitobiyosidaz aktivitelerine sahiptir ve bunlardan endokitinazın baskın

kitinaz olduğu bulunmuştur. Ayrıca aynı çalışmada iki farklı LC20 ve LC50 dozlarında incelenmiştir. Test edilen her iki dozda da yumurtadan çıkma yeteneği önemli ölçüde azalırken, yalnızca en yüksek dozda önemli ölçüde etkilenmiştir. Bildiğimiz kadarıyla bu, entomopatojenik bir *S. marcescens* suşunun *S. aureus*'un farklı gelişim aşamalarına karşı *S. litura*'nın bir biyokontrol ajanı olarak umut vaat ettiğini ilişkin rapor edilmiştir (Aggarwal, ark., 2017).

Tez çalışmamızın önemli izolatlarından bir tanesi de *Bacillus zhanjiangensis*'tir. Bu izolat çok yaygın olan bir tür değildir ve üzerinde çok fazla çalışma yapılmamıştır. Böcekten ilk kez bu bu tez çalışması ile rapor edilmektedir. Bu bakteri bazı bilim insanları tarafından farklı yerlerden izole edilmiştir. Yeni bir Gram pozitif, hareketli, katalaz ve oksidaz pozitif, aerobik, endospor oluşturan, peritriköz, çubuk şeklinde bir bakteridir. Güney Çin denizinin dibinden toplanan tortu örneğinden yapılan bir çalışmada, genotipik, fenotipik ve DNA-DNA akrabalık verilerine dayanarak yapılan çalışmalar sonucunda bu suşun, *Bacillus* cinsinin yeni bir türünü temsil ettiğini, *Bacillus* cinsine ait olduğu rapor edilmiş ve *Bacillus zhanjiangensis* adı verilmiştir (Zhao ve ark., 2014). Filogenetik analiz, DNA-DNA hibridizasyonu, fenotipik özellikler ve kemotaksonomik verilerin kombinasyonu, JSM 099021T suşunun, *Bacillus zhanjiangensis* adı verilen *Bacillus* cinsinin yeni bir türünü temsil ettiği önerisini desteklemiştir (Chen ve ark., 2011). Bir başka çalışmada Gram pozitif, fakültatif anaerobik, hareketli ve çubuk şeklindeki bir bakteri türü olan DG-18T, İç Moğolistan, Çin'deki Kubuqi Çölü'nde örneklenen çöl toprağından izole edildiği rapor edilmiştir (Bae ve ark., 2022). Yapılan bir diğer çalışmada Hindistan, Lonar soda gölünden iki yeni (18CT ve 6C) gram pozitif, çubuk şekilli, hareketli ve endospor oluşturan bakteri suşu izole edilip 16S rRNA gen dizisi analizine dayanarak, 18CT ve 6C suşlarının Firmibacteria sınıfına ait olduğu ve *Bacillus cohnii* KCTC 3572T (sırasıyla %99.3 ve %99.9), *Bacillus zhanjiangensis* KCTC 13713T (%97,4 ve %98,0) olduğu rapor edilmiştir (Sultanpuram ve ark., 2017). *Bacillus zhanjiangensis* ilk kez *P. Interpunctella*'dan izole edildiğinden Türkiye ve dünya literatürü için yeni kayıt olması bakımından büyük öneme sahiptir.

Tez çalışmamızın bir diğer izolatu *Bacillus stratosphericus*'dur. Bu bakteri yapılan bazı çalışmalarda entomopatojen haricinde farklı amaçlarla kullanılmıştır. Ostendorf ve ark. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada atık bitkisel yağlar (zeytinyağı, mısır yağı ve artık kızartma yağı) kullanılarak *Bacillus stratosphericus*

FLU5 suşu tarafından mükemmel lipopeptit biyosüpfaktan üretiminin gerçekleştiği bildirilmiştir. Başka bir çalışmada, *Bacillus sp.*'nin mükemmel süpfaktin verimi gözlemlenmiştir (Md. Badrul Hisham ve ark. (2019). Domuz atık suyunda da benzer bulgular rapor edilmiştir, bu da bunun biyosüpfaktanların üretimi için kabul edilebilir bir platform olabileceğini düşündürmektedir. 25°C'de *Bacillus stratosphericus* sp A15 suşundan üretilen biyosüpfaktanın CMC'si 46,8 mg/L idi. Yakın gelecekte, BS15 antibiyotiklere alternatif olarak oluşturulabilir (Esmaeili ve ark., 2021).

Fitopatojenik bakteriler hem kontrollü hem de açık yetiştirme uygulamalarında tarımsal ürünlere önemli zararlar vererek çiftçilere ağır kayıplar vermiştir. Bu nedenle, yapılan çalışmanın amacı, topraktan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus stratosphericus*'un bitki hastalıklarını kontrol etme potansiyeline sahip bakteriyel fitopatojenlere karşı antagonistik etkinliğinin değerlendirilmesidir. Yapılan bazı çalışmalarda bu bakteri özellikle Fitopatojenik bakteriler hem kontrollü hem de açık ekimde tarımsal ürünlerde önemli hasara neden olmuştur. Uygulamalar, çiftçilere ağır kayıplar yaşatmıştır. *Pseudomonas aeruginosa* ve topraktan izole edilen *Bacillus stratosphericus*, bakteriyel fitopatojenlere karşı antagonistik aktiviteye sahiptir. Bitki hastalıklarını kontrol eder. *P. aeruginosa* ve *B. stratosphericus*'un izole edilmiş yeni suşları, geniş bir antagonistik etki spektrumu göstermiştir. Yapılan bir çalışmada bazı bakteri suşlarını farklı tarımsal alanda kullanılmasını araştırmayı amaçlamıştır. Geniş spektruma sahip Güney Kore maden topraklarından izole edilmiş birçok suş çeşitli bakteriyel fitopatojenlere karşı antagonistik aktivite sağlayıp sağlamadığı araştırılmıştır. Başlangıçta, *P. aeruginosa* ve *Bacillus Stratosphericus* izole edilip tanımlanmış ve suşların antagonistik yeteneği farklı zenginleştirme ortamlarında (pH, karbon ve nitrojen kaynakları) test edilmiştir. Her iki suş da etkili olan yüksek antibakteriyel bileşik üreticileridir. Bakteriyel fitopatojenler ayrıca proteaz, amilaz üretirler. Geliştirilmiş siderofor ile birlikte kitinaz biyokatalizörleri bitkiyi teşvik eden üretim ve fosfat çözünürlüğü büyüme etkisini artırmıştır (Durairaj ve ark., 2017). Tez çalışmamızın bir suşu olan *Bacillus stratosphericus* bakterisinin 1.5×10^9 konsantrasyonunda 2-3 instar *P. interpunctella*, larvalarına %26,6 oranında etkili olduğunu tespit ettik. Bu sonuç insektisidal aktivite açısından önemli bir sonuç değildir. Fakat bu bakteri suşunun farklı yönlerde kullanılması bilimsel açısından önemli ürünleri oluşturması ve tarımsal ve farklı alanlarda kullanılması önemlidir. Fitopatojenik bakteriler olarak biyokontrol ajan olması diğer yönüyle atık yağlardan

biyosüpfaktan üretmesi bu bakterinin gelecekte biyoteknolojide kullanılmasının yolunu açabilir. Bu bakteriyle yapılan bir farklı çalışmada %30 H₂O₂ ile zenginleştirilmiş topraktan izole edilen *Bacillus stratosphericus* sporları gümüş nanoparçacıkların üretimi için kullanılmıştır. Ayrıca, sporlar tarafından gümüş nanoparçacık sentezinin olası mekanizması ilk kez aydınlatılmıştır. Bu bağlamda, dipikolinik asidin (DPA) nanopartikül üreten bir ajan olarak kritik bir rol oynadığı gösterilmiştir (Afrouzossadat ve ark., 2014).

Tehlikeli kimyasalların aşırı kullanımını azaltmak için kâğıt ve kâğıt hamuru endüstrilerinde mikrobiyal enzimlerin kullanımı büyük ölçüde teşvik edilmektedir. Çalışma sırasında, hamur ağartma uygulamaları için *Bacillus stratosphericus* EB-11'in ksilanazları karakterize edilmiştir. Hücre dışı ksilanaz, doğal bir karbon kaynağı olarak bambu atığı kullanılarak batık fermantasyon altında üretildiği rapor edilmiştir (Sarma, ark.,2022). Biyolojik kontrol, erişilemeyen yerlerde depolanan ürün haşere yönetimi için etkili bir strateji olabilir, çünkü bazı doğal düşmanlar bu gizli habitatlarda aktif olarak haşereleri arayabilir veya kimyasal böcek ilaçlarına benzer bir şekilde uygulanabilir. Bununla birlikte, çoğu toplu tahıl durumlarına odaklanmıştır örneğin, parazit yaban arıları (*Theocolax elegans* (Westwood) ve *Anisopteromalus calandrae*) (Howard)'ın toplu depolamada haşere popölasyonlarını etkili bir şekilde bastırdığı gösterilmiştir (Schöller ve Flinn, 2000). *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, *Metarhizium anisopliae* gibi patojenler (Metschnikoff) Sorokin, Nosema türleri ve Mattesia türleri sadece sınırlı alan testi olmasına rağmen (Brower ve ark., 1995) de araştırılmıştır. *Bacillus thuringiensis* bakterisi (Berliner) (Bt)bAmerika Birleşik Devletleri'nde tahıl koruyucu olarak onaylanmıştır (Brower ve ark., 1995) ayrıca *P. interpunctella* larvalarının kontrolü için ticari olarak temin edilebilir etkili kontrol depolanan ürünlere saldıran lepidopteran larvalarına karşı Bt direnç de bildirilmiştir (Vail, 1991).

Entomopatojenik mikroorganizmaların ekolojik potansiyellerinin bilinmesi, ekolojik bitki koruma sistemlerinde verimli kullanımları için gereklidir. Entomopatojenik mikroorganizmaların böcek öldürücü aktivitesi, doğrudan veya dolaylı olarak çevresel koşullar ve faktörlere bağlıdır. Mikrobiyal büyüme ve biyolojik aktivite çok sayıda biyotik ve abiyotik faktöre bağlıdır. Mikrobiyolojik potansiyelin ortaya çıkması için sıcaklık, nem, besin alımı vb. gibi çevresel koşullar optimal

olmalıdır. Bitki koruma uygulamalarında kullanılan entomopatojen mikroorganizmalar, laboratuvarda muhafaza ettiğimiz ideal koşullarda doğada bulunmazlar. Doğada onları etkileyebilecek faktörlerin incelenmesi, biyolojik aktivite, böcek zararlılarının biyolojik kontrolünde mikrobiyolojik kontrol ajanlarının uygulama yöntemlerini oluşturmak için büyük bir pratik öneme sahiptir (Jaronski, 2010). Ekolojik faktörler, entomopatojen mikroorganizmalar üzerinde ya doğrudan, nicel (metabolizma değişiklikleri), veya nitel (bazı aşamaların uzaması) veya dolaylı olarak, böcek popülasyonlarının yoğunluğunu veya coğrafi dağılımlarını değiştirerek adaptif değişikliklerin ortaya çıkmasını desteklemektedir. Entomopatojenik mikroorganizmaların ekolojik potansiyellerinin bilinmesi, ekolojik bitki koruma sistemlerinde etkin kullanımları için gereklidir. Doğal olarak oluşan entomopatojenler, böcek popülasyonlarında önemli düzenleyici faktörlerdir. Pek çok tür, tarla ve sera bitkileri, meyve bahçeleri, süs bitkileri, mera, çim ve çim, depolanan ürünler ve ormancılıkta ve veterinerlik ve tıbbi önemi olan haşere ve vektör böceklerin azaltılmasında böcek zararlılarının biyolojik kontrol ajanları olarak kullanılır. Entomopatojenlerin geleneksel kimyasal pestisitlerle karşılaştırılması genellikle yalnızca etkinlik ve maliyet açısından yapılır. Etkinliğe ek olarak, mikrobiyal kontrol ajanlarının kullanımının sayısız avantajı vardır. Bunlar, insanlar ve diğer hedef olmayan organizmalar için güvenlik, gıdalardaki pestisit kalıntılarının azaltılması, diğer doğal düşmanların korunması ve yönetilen ekosistemlerde artan biyolojik çeşitliliği içerir. Yırtıcı hayvanlarda ve parazitoidlerde olduğu gibi, entomopatojenlerin mikrobiyal kontrol ajanları olarak kullanılmasına yönelik üç temel yaklaşım vardır: klasik biyolojik kontrol, büyütme ve korumadır. Böceklerin biyolojik başarısı, güçlü bağışıklık sistemlerine bağlıdır ve dış etkenlere karşı ilk savunma bariyeri, böceğin kütikülü, peritrofik zarı, gıda, orta bağırsak epiteli ve trakea etrafındaki perdedir (Stanley ve Miller, 2006; Hillyer, 2016). Böceklerin fizyolojik savunma özelliklerini anlamak, etkili bir adım olarak kabul edilir. Enfeksiyonların genotoksik, fizyolojik ve biyokimyasal etkilerini karakterize eder (Yeh ve ark., 2005). Böceklerin bağışıklık tepkisi, mantarların ve bakterilerin sporları, toksinler, diyapoz, deri değiştirme ve cinsiyet, açlık stresi, çevre koşulları, diyet değişiklikleri gibi yabancı ajanların akınından kaynaklanan çeşitli kontaminasyon türlerine karşı duyarlılıklarının önemli bir göstergesidir. (Mowlds ve ark., 2008). Hücrel bağışıklık, türlerine bağlı olarak istilacıları fagositize etmek, nodüller oluşturmak ve hatta

kapsülleme için çeşitli hemosit türlerinin katılımıyla ilişkilidir (Stanely ve Miller, 2006). Hümorale bağışıklık, antimikrobiyal peptidlerin, reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin üretimini içerir. hemolimfin pıhtılaşması ve melanizasyonunun yanı sıra beslenmenin böcek büyümesinde, gelişmesinde ve bağışıklığında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Varyasyon proteinler de dahil olmak üzere enerji kaynaklarının kullanımı ve karbonhidratlar bağışıklık reaksiyonlarını değiştirebilir.

Tez çalışmamızda cins seviyesinde izole edilen bir diğer bakterimiz *Methylobacterium sp.* dir ve yapılan filogenetik soy ağacı çalışmalarında kesin bir tür içerisine yerleştirilmedi. Bu izolat 1.5×10^9 dozu zararlı üzerinde en yüksek oran olan %40,6 mortalite oluşturdu. Bu bakteri bazı bitkilerden izole edilmiş ve aslen narenciye bitkilerinden endofitik bir bakteri olarak izole edilen *Methylobacterium mesophilic* (Diegelmann ve ark., 2015) kaydı mevcuttur. Yapılan bir çalışma, organofosfatlar ve biyopestisitlerin etkisi altında hedeflenmeyen bu yararlı toprak bakterilerinin büyüme modelini izole etmek, tanımlamak, karakterize etmek ve incelemek amacıyla yapılmıştır. BLAST ve filogenetik analizlerin sonuçları, *Bacillus cereus* suşu JY9 ve *Methylobacterium sp.* HJM27, sırasıyla homolog olduğu bulundu. Dimethoate ve ardından Phorate tarafından olumsuz etkilenmiştir. Malathion ve Chloripirifos'un etkisi, büyümesi açısından önemlidir. Benzer şekilde Dimethoate, Chloripirifos ve etkisi altındaki *Methylobacterium sp.* Phorate, artan bir üretim süresi gösterirken, Malathion varlığında kontrolünkine benzer normal bir büyüme göstermiştir. Her iki türün de büyüme paterni biyopestisitlerden fazla etkilenmemiştir. Bu durum bizim çalışma içinde geçerli olabilir. Yani yapılan moleküler ve filogenetik testlerin sonucunda tam bir ayırım olmamıştır. Başka bir çalışmada akarisidal aktivite araştırılmış; en yüksek akarisidal aktivite %40,7 ile tez çalışmamızda cins seviyesinde izole edilen bir diğer bakterimiz olan *Methylobacterium sp.* ile benzer sonuçlar alınmıştır. Bu izolat 1.5×10^9 dozu zararlı üzerinde en yüksek oran olan %40,6 mortalite oluşturmuştur. Yine aynı çalışmada en düşük akarisidal aktivite ise %11,1 ile rapor edilmiştir (Albayrak ve ark., 2017). *P. interpunctella*'dan bu tez çalışması ile izole ettiğimiz *Methylobacterium sp.* de yüksek bir aktivite göstermedi fakat bu çalışma da kadar düşük değildir. 1.5×10^9 dozunda en düşük ölüm oranı %16,6 olarak kaydedilmiştir.

Tez çalışmamızın bir diğer araştırma konusu da *P. interpunctella* larvalarından entomopatojenik fungus izole etmeyi bu yönde yaptığımız çalışmalar tam anlamıyla

sonuç vermedi yanı inektisidal entomopatojen bit fungus izolasyonu yapılamadı. Bir grup bilim insanı Paweł, ve ark. (2016) yaptıkları ‘‘Gıda Zararlılarının İnsan Sağlığına Yol Açtığı Tehditler Enfeksiyon Mikrobiyota Rezervuarları Olarak *Plodia interpunctella*’nın değerlendirilmesi’’ çalışmasında *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, Gram negatif cinsleri, Gram pozitif bakterileri: *Klebsiella*, *Escherichia*, küf mantarları: *Aspergillus*, *Penicillium* ve maya benzeri mantarlar, *A. flavus* gibi potansiyel olarak patojenik suşlar da dahil olmak üzere tanımlanmış ve insanlar için bunların bazıları toksik olduğunu bildirmişlerdir. Bizde yaptığımız bu tez çalışmasında aynı böcekten *Aspergillus flavus* olarak bilinen küf mantarlarının en yüksek dozu olarak belirttiğimiz 1.5×10^9 konsantrasyonunda 2-3 instar *P. interpunctella*, larvalarına %31,6-30,49 oranında etkili olduğunu bulduk. Çalışmamız boyunca zararlı larvaların 2.instar-3.instar, 3.instar-4.instar ve 5.instarları kullanıldı. Gerek bakteriyel gerekse küf mantarlarının inektisidal etkileri 2.-3. instarlar üzerinde oldu. Bunun nedenin 2-3 instar larvalarının yoğun olarak beslenmesi olduğunu düşünüyoruz. Diğer yanda yapılan bir başka çalışmada küf mantarının ürettiği alfatoksin depo zararlısı olan *Sitophilus zeamais* Motschulsky ve *Plodia interpunctella* Hübner arasındaki ilişki araştırılmıştır. Hasattan sonra mısırın tane kalitesi, öncelikle küf ve böcek istilasası ile azalır. Tahıl sıcaklığı ve nem koşulları kontrol edilmezse *Aspergillus flavus* kolonizasyonu ve buna bağlı aflatoksin kontaminasyonu artabilir. Kuru meyve güvesi (*P. interpunkella* Hübner) ve mısır kurdu (*Sitophilus zeamais* Motschulsky), sırasıyla Lepidoptera ve Coleoptera takımındaki depolanmış tahıl zararlıları, doğrudan tanelerle beslenirler. Böylece tahılı mantar kolonizasyonuna ve mikotoksin kontaminasyonuna yatkın hale getirir.

Böcek-küf etkileşimleri, kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Yapılan bir çalışmada *A. flavus* büyümesine, aflatoksin üretimine ve böcek gelişimine yönelik araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Mısır taneleri, iki farklı aşılama seviyesinde, yani 10^6 ve 10^5 spor/ml’de *A. flavus* ile yapay olarak aşılansmıştır. Hint unu güvesi ve mısır biti, *A. flavus* içeren ve içermeyen ayrı kavanozlarda tahıllara bulaştırılmıştır. 28 günlük depolamanın ardından, sırasıyla lepidopteran ve coleopteran zararlıları ile transgenik hibritlerde kuru meyve güvesi veya mısır kurdunun hayatta kalmadığı tespit edildi. *A. flavus*, her iki depo zararlısında da ölüm oranlarında artışa, hayatta kalma oranlarında azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir (Julie, 2019).

Fungal ajan virölansını iyileştirmek için, genetik mühendisliği proteazları kodlayan genleri aşırı ifade etmek için kullanılmaktadır. Mikoinsektisitler, kimyasal insektisitlere çevresel olarak kabul edilebilir bir alternatif olarak birçok haşerenin kontrolü için kullanılmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmaların temel amacı, öldürme hızını artırmak ve böylece bu biyokontrol ajanlarının ticari etkinliğini geliştirmek olmuştur. Bu, biyolojik pestisitlerin iyileştirilmesi için muazzam bir potansiyele sahip olduğu düşünülen bir yaklaşım olan mantara böcek öldürücü genler ekleyerek başarılabılır. Yapılan bir çalışmada *Metarhizium anisopliae*'den düzenlenmiş bir kütikül parçalayıcı proteazı (Pr1) kodlayan genin ek kopyaları, *M. anisopliae*'nin genomuna yerleştirilmiş, öyle ki Pr1, *Manduca sexta*'nın hemolenfinde yapısal olarak aşırı üretilerek profenoloksidaz sistemini aktive etmiştir. Pr1'in birleşik toksik etkileri ve fenoloksidazın reaksiyon ürünleri, tasarlanmış mantarla muamele edilen larvaların, vahşi tip mantarın neden olduğu enfeksiyonlara kıyasla ölüm süresinde %25'lik bir azalma ve gıda tüketiminde %40'lık bir azalma sergilemesine neden olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışma, genetiği değiştirilmiş mantarın çevresel kalıcılığı azaltılıp ve böylece biyolojik koruma sağlanabileceği potansiyelini vurgulaması açısından önem arz etmektedir (St. Leger ve ark. 1996).

Tez çalışmamızda küf mantarı olarak ikinci izolatımız *Aspergillus nidulans*'dır. Bu küf mantarlarının çalışmamızda 1.5×10^9 konsantrasyonunda 2-3 instar *P. interpunctella*, larvalarına %30.6-30.4 oranında etkili olduğunu bulduk. Böceklerden kaynaklanan tarımsal kayıp önemli bir sorundur ve böceklerin kontrolü, şaşırtıcı derecede başarısız olan maliyetli bir girişimdir. Mantarlar ve mantar benzeri organizmalar, çok büyük bir fitopatojen kaynağıdır. Ribozomu etkisiz hale getiren proteinler (RIP'ler), bitki savunma mekanizmalarında yer alır. Bir çalışmada bilim insanları Mısır RIP1'in proteolitik aktivasyonunu araştırmışlardır. RIP1'in bitki savunmasındaki rolüne ilişkin dolaylı kanıtlar, *Rhizoctonia solani*'ye karşı artan direnç gösteren transgenik proRIP1 bütün bitkilerinden elde edilmiştir (Maddaloni ve ark. 1997). Böcek besleme çalışmaları, proRIP1 ve aktif RIP1'in belirli böcek gruplarına karşı böcek öldürücü aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Dowd ve ark., 1998). Ancak, diğer yazarların proRIP1'in herhangi bir etkinin parçası olmadığını bildirmiştir. *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus nidulans*, proteolitik olarak aktif edilmiş RIP1 ise in vitro patojenlerin yayılmasını azalttığını rapor etmişlerdir.

Tez çalışmasında *P. interpunctella*'dan izole edilen bir diğer önemli fungus *Actinomucor elegans*'tır. Bu küf mantarlarının çalışmamızda en yüksek doz olan 1.5×10^9 konsantrasyonu olarak etkin olarak tespit edilmiştir. 2-3 instar *P. interpunctella*, larvalarına %15-13.6 oranında etkili olduğunu bulduk. Bu sonuç normal şartlarda bir zararlının öldürülme oranının biyolojik ajan olarak kullanılmasının çok geresindendir. Fungal entomopatojenler, son otuz yılda hem araştırma hem de uygulamada uzun bir geçmişe sahiptir. Bu alanda çalışma ve araştırmalar yapan bilim insanları Entomopatojenik mantarların (EPF'ler) temel ve uygulamalı yönlerini gözden geçirmektedir. EPF'lerin geliştirilmesine yönelik araştırmaların ve bazı vaka çalışmalarının tarihini kısaca açıklamakta ve ayrıca bu yaklaşımın birkaç on yıl içinde Dünyada ana akım bir araştırma, yayım ve bitki koruma stratejisi haline gelmek için nasıl ivme kazandığını açıklamaktadır. 1990'lardan bu yana, her bir ülke bilim insanı yerli suşları izole etmek, suşları taramak, farklı böcek zararlıları üzerinde laboratuvar ve saha analizlerinin yanı sıra seri üretim ve uygun formülasyonların geliştirilmesi için bu mantarlar üzerinde birkaç tür araştırma projesi başlatılmıştır. Fungal entomopatojenlerin ana karakterleri üzerine ön çalışmalar Türkiye'de çok fazla değildir yapılan çalışmalar daha çok laboratuvar denemeleri olmaktan öte gidememiştir.

Karimi ve ark., (2015) tarafından yapılan bir çalışmada *Anisoplia austriaca*'nın ölü larvaları üç yıl boyunca buğday tarlalarından toplanmış ve mantar izolatları belirlenmiştir. Fungal izolatlar *A. elegans* var. *elegans* morfolojik ve kültürel özelliklere dayalı testlerle belirlenmiş, türün kimliği, ribozomal DNA'nın ITS (Dahili Kopyalanmış Aralayıcı) bölgesinin dizi verileri kullanılarak daha da doğrulanmıştır ve Sporanjiyosporların yaşayabilirliği, çimlenme ortamında bir spor seyreltme tekniği kullanılarak değerlendirilmiştir. Patojenite (*A. austriaca*. larvalarında %100 ölüm oranı) ve canlılık testleri (çimlenme: %95,45) *A. elegans* var. *elegans* chafer böceğine karşı potansiyel bir biyokontrol ajanı olarak değerlendirilebilir olduğunu ve potansiyeli değerlendirmek için saha deneyleri hala gerekli olduğunu rapor etmişlerdir (Karimi ve ark., 2015).

Mukoralean mantarlar, her yerde bulunan, çürüten organik materyal üzerinde ağırlıklı olarak saprofit toprak organizmalarıdır. Ancak bazı türlerin bitkilere, mantarlara ve hayvanlara parazit yaptığı bilinmektedir (Hoffmann ve ark., 2013). *Actinomucor elegans* var. *elegans* her yerde bulunur ve çeşitli bitkilerin (yulaf, arpa,

mısır, buğday, yonca ve şerbetçi otu) fare ve tavşan pisliği, serbest yaşayan kuşların yuvaları, tüyleri ve dışkıları gibi farklı konakçılardan ve substratlardan izole edilmiştir. (Phalip ve ark., 2006). Ayrıca, *A. elegans* var. *A. elegans* var ile *A. kuwaitiensis* insanlarda çeşitli vakalarda mukormikozun etiyolojik ajanı olarak bildirilmiştir (Davel ve ark., 2001; Khan ve ark., 2008).

Termitler, ekinlere ve tarım alanlarına ciddi zararlar vermeleriyle ünlü haşerelerdir. *Odontotermes obesus* (Rambur) (Isoptera: Termitidae), Hindistan Yarımadası'nda yaygın olarak bulunan ve ekinlere ciddi zararlar verdiği bilinen bir türdür. *Actinomucor elegans* Benjamin & Hesseltine mantarının her yerde yaygın bir dağılıma sahip olduğu ve substratların yanı sıra çeşitli konakçılardan izole edildiği bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada Haryana'da (Hindistan) buğday bitkilerinin kök bölgesinde bulunan topraktan ve ölü termitlerden *A. elegans* izolatlarını toplanmış, izolatlar hem morfolojik hem de ITS (dahili olarak transkripsiyonlu ayırıcı) bölgesine dayalı moleküler analize tabi tutulmuş ve *A. elegans* olarak doğrulanmıştır. Kimlik doğrulamasından sonra, izolatların *O. obesus*'un işçi kast termitlerine karşı patojenitesi, her bir termitin sırtına kontrol veya uygun süspansiyonun (0.5 mL) bir bölümünün topikal uygulamasıyla test edilmiştir. Patojenite testinin sonuçlarına göre, *A. elegans*'ın *O. obesus*'un işçi termitleri için son derece patojenik olduğu ve 5×10^7 spor mL ile %90 ölüm oranı kaydedildiği rapor edilmiştir. *Actinomucor elegans* daha önce termitlerden ve ölü arılardan izole edilmişti; ancak, *A. elegans*'ın bu konakçıya patojenitesi hakkında ek bilgi mevcut değildir (Batra ve ark., 1973; Zoberi ve Grace, 1990). Ancak *A. elegans*'ın *Anisoplia austriaca* (Herbst) (Coleoptera: Scarabaeidae) ve *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)'ye karşı etkinliği test edilmiştir (Karimi ve ark., 2015). 1×10^6 mL⁻¹ sporlu *A. elegans*'ın *A. austriaca*'da %80 mortaliteye neden olduğunu, *G. mellonella*'ya karşı etkisiz bulunarak sadece %20 mortaliteye neden olduğunu ortaya koymuşlardır. Tüm bu çalışmalar da gösteriyo ki *A. elegans* Coleoptera ve Isoptera takımları üzerinde oldukça yüksek oranlarda patojenik olurken Lepidoptera takımında %20 gibi çok düşük oranlarda etkili olmuştur. Tez çalışmasında *P. interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae)'dan izole ettiğimiz *A. elegans* literatür bilgileri ile uyduğu görülmektedir. Lepidoptera takımında elde edilen düşük patojeniteyi bizim çalışmamızda da benzer şekilde ortaya çıkmıştır. Biyoassay çalışmalarında en yüksek doz olarak kullanılan 1.5×10^9 dozu 2-3. instarlarda %13,6 ile en yüksek ölüm oranı kaydedilmiştir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu doktora tezi süresince hem kuru meyvelerde hem de depolanmış hububat ve mamullerinin en önemli zararlılarından biri olan Kuru meyve güvesi *P. interpunctella* (Lepidoptera; Pyralidae) ile biyolojik mücadele amaçlı entomopatojenik organizmalar izole edilerek tanımlanmıştır. Kuru meyve güvesi *P. interpunctella*, özellikle un ve kuru meyve ürünleri olmak üzere depolanmış tahıl ürünlerinin kozmopolit bir zararlısıdır.

1. Lepidoptera takımına ait olan kuru meyve güvesi (*Plodia interpunctella* Lepidoptera: Pyralidae) ile biyolojik mücadelede kullanılmak üzere doğal böceklerde hastalık etmeni entomopatojen bakteri ve entomopatojen fungus varlığı araştırılmış ve 2020-2023 yılları arasında Ordu, O.D.Ü. Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarında getirilen ve yetiştirilen larva ve erginlerden 9 entomopatojen bakterinin ve 4 entomopatojen fungusun varlığına rastlanmıştır.

2. *P. interpunctella*' da tespit edilen entomopatojen süspansiyondan, zenginleştirme kültürleri yapılarak elde edilen bakterilerden, birbirlerinden farklı oldukları gözlenen 9 izolat tespit edildi ve bunlar teşhis testlerine tabi tutuldu. Yapılan morfolojik, boyama, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler testler sonucunda izolatların bakteriler koloni morfolojik ve çok çeşitli boyama teknikleriyle, moleküler çalışmalar özellikleri 16 S DNA sekan analizleri, ışık mikroskobu, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus zhanjiangensis*, *Bacillus stratosphericus* *Methylobacterium sp* ve *Bacillus spp.* (5nolu bakteri), *Bacillus spp.* (6nolu bakteri) gibi birbirinden farklı 9 entomopatojen bakteri bunun yanında 4 adet entomopatojen fungus *Actinomucor elegans.*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans* ve *Aspergillus sp.* izole edilmiştir. Bu bakteri ve fungus türleri, ülkemizde *P. interpunctella*'da tespit edilen ilk ve tek kayıttır.

3. *P. interpunctella*' larvalarından tespit edilen entomopatojen bakteriler ve fungus türlerinin 1.5×10^6 , 1.5×10^7 , 1.5×10^8 ve 1.5×10^9 (cfu) koloni/ml değerinde konsantrasyonları hazırlanarak 2-3, 3-4, 4-5 instar larvalar üzerin biyassay yapılmıştır. Bu uyulamaların sonucunda en etkili dozun 1.5×10^9 ve en çok mortalitenin görüldüğü instar 2-3 olduğu tespit edilmiştir.

4. Tüm izoların zararlı üzerinde sırasıyla farklı bir değerde mortalite oranları oluşturmuştur. *Bacillus cereus* %94,8, *Bacillus licheniformis* %70,6, *Bacillus pumilus* %65,4 *Bacillus*, %77,9, *Bacillus zhanjiangensis* %25,4, *Bacillus stratosphericus* %29,2, *Methylobacterium sp.* %40,6, *Bacillus spp.* (5nolu bakteri) %67,7, *Bacillus spp.* (6nolu bakteri) %45,7 olarak tespit edilmiştir. Entomopatojen fungusların ise sırasıyla oluşturdukları mortalite *Aspergillus flavus* % 30,4, *Aspergillus nidulans* %30,4, *Aspergillus sp.* %18,3, *Actinomucor elegans* %13,3 olarak tespit edilmiştir.

5. Bu zararlıdan izole edilen dokuz bakteri ve dört fungus entomopatajen, *P. interpunctella* 'nın larvaları üzerinde %25,4-94,8 arasında bakteriyel mortalite gerçekleşirken larvaları üzerinde %13,3-30,4 arasında neden olarak patojenik bir etkiye sahip olduklarını gösterdi.

6. Elde edilen entomopatojen bakteri ve fungusların bu zararlı üzerinde oluşturduğu mortalite bazı tür için önemlidir. Ayrıca bazı izolatlar spor ve bazı enzimleri örneğin kitiniz gibi unsurlar bu özellikleri onları biyolojik mücadele alanında kullanmalarını güçlendirmiştir.

7. Bu tez çalışmasında tanımlanan entomopatojenbakteri ve entomopatojenfungus patojeni, ülkemizde *Plodia interpunctella* 'da tespit edilen ilk patojenler olmasının yanı sıra, aynı zamanda ülkemizde ilk izolatlardır. Bu yüksek doktora tez çalışması ile Türkiye için ilk kez kuru meyve güvesi, *Plodia interpunctella* (Hübner)'da doğal hastalık oluşturan bir bazı bakteri patojeni tespit edilmekte, karakterizasyonu ve varlığı açıklanmaktadır.

8. Bu tez çalışmaları boyunca her test kullanılan, Hint yemek güvesi *P. interpunkella* larvaları, Türkiye'deki depo, dükkân ve evlerde fındık, ceviz, yer fıstığı, kestane, kuru incir, kayısı ve un gibi farklı depolanan ürünlerden toplanmıştır. Larvalar %80 iç fındık, %10 buğday unu, %5 maya ve %5 fındık yağı (Tablet zararlının kendisini çekmesi için bu şekilde bizim tasarımıdır.) ile beslendi. Biyoassayler bu tablet tasarımı üzerinden yapılmıştır.

Dünyada ve ülkemizde depolanmış ürün zararlılarıyla mücadele yaygın olarak kimyasal ilaçlarla yapılmaktadır. Kimyasalların hedef zararlı dışında, çevreye, doğadaki diğer yararlı canlılara ve insan sağlığına olumsuz yöndeki etkileri endişe

verici bir durumdur. Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de tarım ve orman zararlılarına karşı yapılan mücadelede, ekolojiye zarar vermesinden ötürü kimyasal kullanımından vazgeçilmeye başlanmıştır. Bunun sonucunda çevreye ve diğ er hedef dış ı canlılara zararı olmayan biyolojik mücadele önem kazanmış ı.

Bu doktora tez çalışması sırasında tespit edilen *Plodia interpunctella* (Hübner)’da patojeni, ülkemiz ve çeş itli dünya ülkeleri için önemli bir besin ve ekonomik kaynak olan depolanmış ürünlerde çok ciddi zararlara neden olan kuru meyve güvesi *Plodia interpunctella* ile mücadelede kimyasal mücadeleye alternatif olarak kullanılmalıdır. Bu amaçla yüksek mortaliteye sahip olan patojenin kitle üretimi yapılp patojenite testlerinden geçirildikten sonra gerek çiftç ilere gerekse tüzel kiş ilere ticari şekilde sunulmalıdır.

Söz konusu patojenin kullanılmasıyla hem zararlı ile biyolojik mücadele gerçekleştirilmiş hem de kimyasal ilaçların çevreye ve canlılara verdiği zararlı etkilerin de önüne geçilmiş olacaktır. Tez çalışmalarında izole edilen bazı basillusların enzim ve spor oluşturma özelliklerinin oldu biliniyor bu patojenlerin bu özellikleri spesifik üretilerek larva geliş imine, beslenmeye ve yumurta bırakma gibi faaliyetlerine etkisi araştırılmalıdır.

Ayrıca, depo zararlısı olan *Plodia interpunctella* (Hübner)’ya bazı çalışmalarda entomopatojen nematodlarla yapılan ve oldukça verim alınan mücadele olduğu ve bu entomopatojen yanında ikili ve üçlü şekilde bazı patojen bakterilerin kendileri veya ürünleri verilerek daha yüksek bir mortalite alındığı bildirilmiş ti. Bu çalışmada izole edilen bazı *Basillus* türü bakterilerin bu şekilde nematodlarla birlikte zararlıya uygulanabilir

Bu tez çalışmasının ülkemiz için ilk kayıt olması, bu alanda yapılacak olan diğ er çalışmalara kaynak olacaktır. Bu çalışma aracılığı ile sunulan bilgiler kullanarak, diğ er depolanmış ürün zararlılarıyla mücadelede yeni patojenik ajanların tespiti mümkün olabilir.

6. KAYNAKLAR

- Abbott, WS. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265-267.
- Adler, CS. (2001). Comparative Efficacy of Modified Atmospheres against Diapausing Larvae of *Plodia interpunctella* and other insects in Durable Products. Editörler: Donahaye, EJ., Navarro, S. ve Leesch JG. Proc. Int. Conf. Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, Fresno, CA. Executive Printing Services, Clovis, CA, 17-24 U.S.A.
- Ahmad, S., O'Neill, JR., Mague, DL & Nowalk, RK. (1978). Toxicity of *Bacillus thuringiensis* to gypsy moth larvae parasitized by *Apanteles melanoscelus*. *Environmental Entomology*, 7, 73-76.
- Ahmed, MSH. (1991). Irradiation disinfestation and packaging of dates. Insect Disinfestation of Food and Agricultural Products by Irradiation. IAEA, Vienna.
- Ahmed, M. (2001). Disinfestations of stored grains, pulses, dried fruits and nuts, and other dried foods. Editör; R. Molins. Food Irradiation Principles and Applications, Wiley, New York, 77-112
- Alaoğlu, Ö. (1989). *Bacillus thuringiensis*'in Depolanmış Tahıllardaki Lepidoptera Larvalarının Mücadelesinde Kullanılması. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 144-155.
- Allotey, J. & Goswami, L. (1990). Comparative biology of two phycitid moths, *Plodia interpunctella* (Hübner) and *Ephestia cautella* (Wlk.) on some selected food media. *Insect Science and its Application*, 11, 209-215.
- Anonim 2004. Viyana Sözleşmesi ve Montreal Protokolü. <https://www.mfa.gov.tr/viyana-sozlesmesi-ve-montreal-protokolu.tr.mfa>.
- Arbogast, RT. & Mullen, MA. (1978). Spatial distribution of eggs by ovipositing Indian meal moths, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Researches on Population Ecology*, 19, 148-154.
- Arbogast, RT., Lecato, GL., Byrd, RV. (1980). External morphology of some eggs of stored product moths (Lepidoptera: Pyralidae, Gelechiidae, Tineidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 9, 165-178.
- Arbogast, RT. & Mankin, RW. (1999). The utility of spatial analysis in management of storage pests. In: Stored Product Protection. Proceedings of the 7th International Conference on Stored-product Protection, Editörler: Zuxun, J., Quan, L., Yongsheng, L., Xianchang, T., Lianghua, G., 14-19 October 1998, Beijing, PR China. Sichuan Publishing House of Science and Technology, Chengdu, PR China, 1519-1527 pp.
- Arbogast, RT., Kendra, PE., Mankin, RW., McGovern, JE. (2000). Monitoring insect pests in retail stores by trapping and spatial analysis. *Journal of Economic Entomology*, 93, 1531-1542.
- Arbogast, RT., Kendra, PE., Mankin, RW., McDonald, RC. (2002). "Insect infestation of a botanicals warehouse in north-central Florida. *Journal of Stored Products Research*, 38, 349-363.

- Arbogast RT., Chini SR., Mcgovern JE. (2005). *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae): Spatian relationship between trap catch and distance from a source of emerging adults. *Journal of Economic Entomology*, 98(2): 326-333.
- Arthur, FH., Zettler, JL., Halliday, WR. (1988). Insecticide resistance among populations of almond moth and Indianmeal moth, (Lepidoptera: Pyralidae) in stored peanuts. *Journal of Economic Entomology*, 81, 1283-1287.
- Arthur, FH. (1989b). Pests of stored peanuts: toxicity and persistence of chlorpyrifosmethyl. *Journal of Economic Entomology*, 82, 660-664.
- Arthur, FH. (1994). Efficacy of cyfluthrin, cyfluthrin + piperonyl butoxide, cyfluthrin + piperonyl butoxide + chlorpyrifos-methyl as protectants of stored peanuts. *Peanut Science*, 21, 44-48. 49.
- Arthur, FH. (1995). Susceptibility of 5th instar Indianmeal moth and almond moth (Lepidoptera: Pyralidae) to cyfluthrin residues on peanuts. *Journal of Entomological Science*, 30, 318-323.
- Arthur, FH. (1996). Grain protectants: current status and prospects for the future. *Journal of Stored Products Research*, 32, 293-302.
- Arthur, FH., Phillips, TW. (2003). Stored-product insect pest management and control. Editörler: Hui, Y.H., Bruinsma, B.L., Gorham, J.R., Nip, W.K., Tong, P.S., Ventresca, P. Food Plant Sanitation. Marcel Dekker, New York, 341-358 pp.
- Attia, FI. (1977). Insecticide resistance in *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in New South Wales, Australia. *Journal of Australian Entomological Society*, 16, 149-152.
- Attia, FI. (1981). Insecticide resistance in pyralid moths of grain and stored products. *General and Applied Entomology*, 13, 3-8.
- Atwood, DW., Young III, SY., & Kring, TJ. (1997) Development of *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) in tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae treated with *Bacillus thuringiensis* and Thiodicarb. *Journal of Economic Entomology*, 90, 751-756.
- Ayvaz, A., Albayrak, S., Karaborklu, S. (2008). Gamma radiation sensitivity of the eggs, larvae and pupae of Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Pest Management Science*, 64, 505-512.
- Ayvaz, A., Sağdıç, O., Karaborklu, S., Öztürk, İ. (2010). Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. *Journal of Insect Science*, 10, 1-13.
- Awadallah, KT., Tawfik, MFS., & Abdella, MMH. (1985). Biocycle of *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) on the wax moth *Galleria mellonella*, L. (Lepidoptera: Galleridae). *Annals of Agriculture Science of Moshtohor*, 23, 343-350.
- Barbosa IR., Nogueira AJA., Soares AMVM. (2008). Acute and chronic effects of testosterone and 4-hydroxyandrostenedione to the crustacean *Daphnia magna* *Ecotoxicol. Environ. Safe*, 10.1016/j.jecoenv.2008.02.020
- Barrera-Illanes AN, Popich SB ve Ajmat MT. (2017). *Plodia interpunctella* (Hübner) (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) life cycle on stored walnuts under controlled

- environmental conditions. *Folia Entomológica Mexicana* (nueva serie), 3(2): 15–22.
- Baxter, IH. (2008). Entomopathogen based auto-dissemination for the control of *Plodia interpunctella* (Hübner). Ph.D. Thesis, Ecology and Evolutionary, Biology School of Biological Sciences, Faculty of Science, University of Southampton, Southampton/England.
- Bell, CH. (1975). Effects of temperature and humidity on development of four pyralid moth pests of stored products. *Journal of Stored Products Research*, 11, 167–175.
- Bell, CH. (1976b). Factors influencing the duration and termination of diapause in the Indian meal moth *Plodia interpunctella*. *Physiological Entomology*, 1, 93–102.
- Bell, CH., Bowley, CR., Cogan, PM., Sharma, S., (1979). Diapause in 23 populations of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) from different parts of the world. *Ecological Entomology*, 4, 193–198.
- Bell, CH., (1981). The influence of light cycle and circadian rhythm on oviposition in five pyralid moth pests of stored products. *Physiological Entomology*, 6, 231–239.
- Bell, CH., (1982). Observations on the intensity of diapause and cold tolerance in larvae from 12 populations and 2 reciprocal crosses of the Indian meal moth *Plodia interpunctella*. *Physiological Entomology*, 7, 371–378.
- Bell, CH., Walker, DJ., (1973). Diapause induction in *Ephestia elutella* and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera. Pyralidae) with a dawn dusk lighting system. *Journal of Stored Products Research*, 9, 149–158.
- Bell, CH. (1977). The sensitivity of larval *Plodia interpunctella* and *Ephestia elutella* (Lepidoptera) to light during photoperiodic induction of diapause. *Physiol. Entomol*, 2: 167–172.
- Bond, EJ. (1984). Manual of Fumigation for Insect Control. FAO Plant Production and Protection. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. Paper 54.
- Boots, M., & Begon, M. (1995). Strain differences in the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*, in response to a granulosis virus. *Researches on Population Ecology*, 37, 37–42.
- Borsa, J., & Iverson, SL. (1993). Cost and benefits of grain disinfestation and poultry and shrimp decontamination using 10-mev electron accelerators. In: Cost–Benefit Aspect of Food Irradiation Processing. IAEA, Vienna, 233–241 pp.
- Boxall, RA. (2001). Post-harvest losses to insect a world overview. *International Biodeterioration&Biodegradation*, 48, 137–152.
- Brady, UE., Tumlinson III, JH., Brownlee, RG., Silverstein, RM. (1971). Sex stimulant and attractant in the Indian meal moth and in the almond moth. *Science*, 171, 802–804.
- Brower JH. (1990). Host locating ability of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in inshell peanuts under laboratory conditions. *Journal of Agricultural Entomology*, 7; 265–273.

- Brower JH., Smith L., Vail PV., Flinn PW. (1996). Biological control. Editörler: Bh. Subramanyam, D.W. Hagstrum, Integrated Management of Insects in Stored Products, Marcel Dekker, New York (1996), 223-286 pp.
- Büda, V., Peciulyte, D. (2008). Pathogenicity of four fungal species to Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae. *Ekologija*, 54, 265-270.
- Campbell, JF., Arbogast, RT. (2004). Stored-product insects in a flour mill: population dynamics and response to fumigation treatments. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 112, 217–225.
- Campbell, JF., Mullen, MA., Dowdy, AK., (2002). Monitoring stored product pests in food processing plants with pheromone trapping, contour mapping and mark recapture. *Journal of Economic Entomology*, 95, 1089–1101.
- Chen L, Reeve J, Zhang L, Huang S, Wang X, Chen J. (2018). GMPR: A robust normalization method for zero-inflated count data with application to microbiome sequencing data. *PeerJ* 6:e4600 <https://doi.org/10.7717/peerj.4600>
- Chen, BS., Teh, Sun, BS., Hu, C., Lu, SR., Boland, XM., W & Shao YQ. (2016). Biodiversity and activity of the gut microbiota across the life history of the insect herbivore *Spodoptera littoralis*. *Scientific Report*, 6, 29505.
- Cappuccino JG., Sherman N. (1992). Microbiology, a Laboratory Manual. Third Edition, Rockland Community College, Suffern, New York.
- CharlesAdarkwah and MatthiasSchöller. (2012). Biological control of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) by single and double releases of two larval parasitoids in bulk stored wheat. 51, 1-5.
- Chaudhry, MQ. (1997). A review of the mechanisms involved in the action of phosphine as an insecticide and phosphine resistance in storedproduct insects. *Pesticide Science*, 49, 213–228.
- Cogan, PM. (1983). Use of pheromones to detect stored product moths in premises in the UK. *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für Allgemeine und Angewandte Entomologie*, 4 (1/3): 108-110.
- Cline D.L., Press J.W, Flaherty B. (1984). Preventing spread of almond moth (Lepidoptera: Pyralidae) from infested food debris to adjacent uninfested packages, using the parasite *Bracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) *Journal of Economic Entomology*, 77 (1984), pp. 331-333
- Cline DL., Press JW. (1990). Reduction in almond moth (Lepidoptera: Pyralidae) infestations using commercial packaging of food in combination with the parasitic wasp, *Bracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Economic Entomology*, 83, 1110-1113.
- Codex A. (1984). Codex general standards for irradiated foods and recommended international code of practice for the operation of radiation facilities used for the treatment of foods. Codex Alimentarius, 15. Codex Alimentarius Commission, FAO, Rome.
- Cox, PD. (2004). Potential for using semiochemicals to protect stored products from insect infestation. *Journal of Stored Products Research*, 40, 1–25.

- Cox, PD. and Bell, CH. (1991). Biology and ecology of moth pests of stored foods. Ecology and Management of Foodindustry Pests. Editor: J.R. Gorham Food and Drug Administration, Arlington, VA, 181–193 pp.
- Crickmore, N., Zeigler, DR., Feitelson, J., Schnepf, E., van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J. and Dean, JH. (1998). Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62, 807–813.
- Çökmüş C., Younsten AA. (1994). Characterization of *Bacillus sphaericus* strains by SDS-PAGE. *Journal of Invertebrate Pathology*, 64, 276-268.
- Darwish, E., El-shazly, M. and El-Sherif, H. (2003). The choice of probing sites by *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) foraging for *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Stored Products Research*, 39, 265–276.
- Deseo, KV. (1976). The oviposition of the Indian meal moth (*Plodia interpunctella* Hbn., Lep., Phycitidae) influenced by olfactory stimuli and antennectomy. *Symposium of the Biological Society of Hungary*, 16, 61–65.
- Doud CW., Phillips TW. (2000). Activity of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in and around flour mills. *Journal of Economic Entomology*, 93, 1842-1847.
- Dunkel, F.V., & L.J. Sears. (1998). Fumigant properties of physical preparations from big mountain sagebrush, *Artemisia tridentata* Nutt. ssp. *Vaseyana* (Rydb.) Beetle, for stored grain insects. *J. Stored Prod. Res*, 34, 307–321.
- Emekçi, M., Ferizli, AG. (2000). Current Status of Stored Products Protection in Turkey. *Integrated Protection of Stored Products IOBC Bulletin*, 23(10), 39-46.
- Engel MS, Grimaldi DA (2004). New light shed on the oldest insect. *Nature* 427:627–630.
- Evans H., Shapiro, M. (1997). Viruses. In: Manuel of Techniques in Insect pathology. Academic Press, London.
- Fadamiro HY., Baker T.C. (2002). Pheromone puffs suppress mating by *Plodia interpunctella* and *Sitotroga cerealella* in an infested corn store *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 102 (2002), 239-251.
- Fadel A., Sharif N., Alaeddinoğlu G. (1988). A rapid and simple method for staining of the crystal protein of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Industrial Microbiology*, 3:227–229.
- Fasulo, TR., Knox, MA. (2014). Indian meal Moth, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae). *University of Florida Featured Creatures*. http://entnemdept.ufl.edu/creatures/urban/stored/indianmeal_moth.htm. 04.05. 2022.
- Ferizli, AG., Emekçi, M. (2014.) Depolanmış Ürün Zararlılarıyla Savaşım, Sorunlar ve Çözüm Yolları. http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/19fec2f129fbdba_ek.pdf. 03.05. 2022.

- Fields PG. (1992). The control of stored-product insects and mites with extreme temperatures. *Journal of Stored Products Research*, 28 (1992), 89-118.
- Göktay, M. ve Ş. Kısmalı. (1989). Ambar zararlılarında feromonlar ve bunlardan yararlanma olanakları. *Türk. Entomol. Derg.*, 13(3):179-188.
- Grieshop, MJ. (2005). Evaluation of three species of *Trichogramma* egg parasitoids for biological control of the Indian meal moth in warehouses and retail stores. Ph.D. Thesis, Kansas State University, 227 pp.
- Grieshop, MJ., Flinn, PW., Nechols, JW. (2006). Biological control of Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) on finished stored products using eggs and larval parasitoids. *Journal of Economic Entomology*, 99, 1080–1084.
- Grieshop, MJ., Flinn, PW., Nechols, JW. (2008). Effects of fine-grain habitat complexity on egg parasitism by three species of *Trichogramma*. *Biological Control*, 45, 328–336.
- Hagstrum, DW. (2000). Using five sampling methods to measure insect distribution and abundance in bins storing wheat. *Journal of Stored Products Research*, 36, 253–262.
- Hamlin JC., Reed WD., & Phillips ME. (1931). Biology of the Indian- meal moth on dried fruits in California. *USDA Tech Bull*, 242, 1 – 27.
- Hargitai, PL., Kovacs, AV., Stevko, M. (1993). Results of a feasibility study on grain disinfestation by an accelerator. In: Cost–Benefit Aspects of Food Irradiation Processing: Proceedings of an International Symposium on Cost–Benefit Aspects of Food Irradiation Processing. IAEA, Vienna, 223–232.
- Harvey, JA., Thompson, DJ. (1995). Developmental interactions between the solitary endoparasitoid *Venturia canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae), and two of its hosts, *Plodia interpunctella* and *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae). *European Journal of Entomology*, 92, 427-435.
- Hayashi, T., Imamura, T., Todoriki, SS., Miyanoshita, A., Nakakita, H. (2004). Soft Electron Treatment as a Phytosanitary Measure for Stored Product Pests. http://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/te_1427_web.pdf#page=74. 04.05. 2014.
- Herrero, S., Oppert, B., Ferre, J. (2001). Different mechanisms of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in the Indianmeal moth. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 1085–1089.
- Howe, WE. (1965). A summary of estimates of optimal and minimal conditions for population increase of some stored products insects. *Journal of Stored Products Research*, 1, 177–184.
- Humber Richard, A. (1997). Fungi: identification. Manual of techniques in insect pathology. Academic press.
- Ikediala, JN., J. Tang, and T. Wig. (2000). A heating block system for studying thermal death kinetics of insect pests. *Trans. ASAE*. 43: 351-358.

- Jones, OT. (1998). Practical applications of pheromones and other semiochemicals. Editör: House, P.E., Stevens, I.D.R., Jones, O.T. Insect Pheromones and their Use in Pest Management. Chapman & Hall, London, 263-355 pp.
- Johnson, DE., Brookhart, GL., Kramer, KJ., Barnett, BD., McGaughey, WH. (1990). Resistance to *Bacillus thuringiensis* by the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*: comparison of midgut proteinases from susceptible and resistant larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 55, 235–244.
- Johnson, JA., Wofford, PL. (1991). Effects of age on response of eggs of Indianmeal moth and navel orangeworm (Lepidoptera: Pyralidae) to subfreezing temperatures. *Journal of Economic Entomology*, 84, 202–205.
- Johnson, JA., Wofford, PL. & Whitehand, LC., (1992). Effect of diet and temperature on development rates, survival and reproduction of the Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology*, 85, 561-566.
- Johnson, JA., Wofford, PL., Gill, RF. (1995). Developmental thresholds and degradation accumulations of Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) on dried fruits and nuts. *Journal of Economic Entomology*, 88, 734-741.
- Johnson, JA., Valero, KA., Hannel, MM. (1997). Effect of low temperature storage on survival and reproduction of Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae). *Crop Protection*, 16, 519–523.
- Johnson, JA., KA. Valero, MM. Hannel & R. F. Gill. (2000). Seasonal occurrence of postharvest dried fruit insect and their parasitoids in a culled fig warehouse. *Journal of Economic Entomology*, 93 (4):1380-1390.
- Johnson, JA., Vail, PV., Brandl, DG., Tebbets, JS., Valero, KA. (2002). Integration of nonchemical treatments for control of postharvest pyralid moths (Lepidoptera: Pyralidae) in almonds and raisins. *Journal of Economic Entomology*, 95, 190–199.
- Khan MA. (1981). Repellents against stored product insects. *Anzeiger für Schaedlingskunde Pflanzenschutz Umweltschutz*, 54; 70-77.
- Khan MA. (1983). Repellency of chemical compounds to stored product insect pest. *Zeitschrift für Angewandte Zoologie*, 70; 369-382.
- Kawakami F. (1999). Current research of alternatives to methyl bromide and its reduction in Japanese plant quarantine. *Research Bulletin of the Plant Protection Service Japan*, 35, 09-120.
- Kıvan, M., Karsavuran, Y. (1991). Effect of the food on the larval development of *Plodia interpunctella* (Hübner), (Lepidoptera:Phycitidae). *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 15, 113-116.
- Kraszpuski, P., Davis, R. (1988). Interactions of a parasite, *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae), and a predator, *Xylocoris flavipes* (Hemiptera: Anthocoridae), with populations of *Tribolium castaneum* and *Plodia interpunctella*. *The American Midland Naturalist Journal*, 119, 71-76.
- Kunstadt, P., Steeves, C. (1993). Economics of food irradiation. In: Cost–Benefit Aspects of Food Irradiation Processing: Proceedings of an International Symposium on Cost–Benefit Aspects of Food Irradiation Processing. IAEA, Vienna, 395-416 pp.

- Kuwahara, Y. & Casida JE. (1973). Quantitative analysis of the sex pheromone of several phycitid moths by electron-capture gas chromatography. *Agricultural and Biological Chemistry*, 37: 681–684.
- Kuwahara, Y., Kitamura, C., Takahashi, S., Hara, H., Ishii, S., Fukami, H. (1971). Sex pheromone of the Almond moth and the Indian meal moth: cis-9, trans-12-Tetradecadienyl Acetate. *Science*, 171, 801-802.
- Lacey, LA. (1997). Bacteria: Laboratory Bioassays of Bacteria Against Aquatic Insects with Emphasis on Larvae of Mosquitoes and Black Flies. Editor: Lacey, L.A. *Manual of Techniques in Insect Pathology*, Academic Press, New York, 79-88 pp.
- Lewthwaite, SE., Dentener, PR., Alexander, SM., Bennett, KV., Rogers, DJ., MainDonald, JH., Connolly, PG. (1998). High temperature and cold storage treatments to control Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner). *Journal of Stored Products Research*, 34, 141–150.
- Lipa, JJ. (1975). An Outline of Insect Pathology, Warsaw, Poland.
- Locatelli DP., Caimi M., Brumen G. (2002). Susceptibility of *Plodia interpunctella* (Hbn.) and *Lasioderma serricorne* (F.) to nitrogen protective pressurized atmosphere. *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura*, 34, 361-368.
- Loschiavo, S.R., & Okumura GT. (1979). A survey of stored product insects in Hawaii. *Proc. Hawaiian Entomol. Soc.* 13: 95-118.
- Madrid, FJ. and Sinha, RN. (1982). Feeding damage of 3 storedproduct moths (Lepidoptera, Pyralidae) on wheat. *Journal of Economic Entomology*, 75, 1017–1020.
- Magro S.R., Dias A.B., Terra W.R., Parra JR. (2006). Biological, nutritional, and histochemical basis for improving an artificial diet for *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae). *Neotropical Entomol.*, 35, 215-222
- Mason, L., (2003). Insects and mites. Editorler: Hui, YH., Bruinsma, BL., Gorham, JR., Nip, WK., Tong, PS., Ventresca, P. In: *Food Plant Sanitation*. Marcel Dekker, New York, 293–315 pp.
- Malone, LA., Canning, EU. (1982). Fine structure of *Vairimorpha plodiae* (Microspora: Burenellidae), a pathogen of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Phycitidae) and infectivity of the dimorphic spores. *Protistologica*, 18, 503–516.
- Mbata, GN., Osuji, FNC. (1983). Some aspects of the biology of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) a pest of stored groundnuts in Nigeria. *Journal of Stored Products Research*, 19, 141–151.
- Mbata, GT. (1985). Some physical and biological factors affecting oviposition by *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Phycitidae). *Insect Science and its Application*, 6, 597-604.
- Mbata, G.N., (1987). Studies on induction of larval diapause in a Nigerian strain of *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae). *Insect Science and its Application*, 8, 317–322.

- Mbata, GN., & Phillips, TW. (2001). Effect of temperature and exposure time on mortality of stored-product insects exposed to low pressure. *J. Econ. Entomol.*, 94: 1302-1307.
- Mbata, GN., Shapiro-Ilan, DI. (2010). Compatibility of *Heterorhabditis indica* (Rhabditida: Heterorhabditidae) and *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) for biological control of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Biological Control*, 54, 75–82.
- McGaughey, WH., Johnson, DE. (1992). Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) resistance to different strains and mixtures of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Economic Entomology*, 85, 1594–1600.
- Meadows, MP. (1993). *Bacillus thuringiensis* in the environment: ecology and risk assessment. *Bacillus thuringiensis* an Environmental Biopesticide: Theory and Practice (eds. P.F. Entwistle, J.S. Cory, M.J. Bailey and S. Higgs), John Wiley and Sons, New York, 193–220 pp.
- Madrid, FJ., Sinha, RN. (1983). Movement and oviposition of *Ephestia cautella* and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) of different ages in response to seasonal light changes. *Canadian Journal of Zoology*, 61, 1726–1732.
- Marcotte, M. (1993). United Nations Environment Programme Methyl Bromide Technical Options Committee. *Food Irradiation Newsletter*, 17, 27–32.
- Milonas, PG. (2005). Influence of initial egg density and host size on the development of the gregarious parasitoid *Bracon hebetor* on three different host species. *Biocontrol*, 50, 415– 428.
- Misof B, Liu SL, Meusemann K ve ark., (2014). Phylogenomics resolves the timing and pattern of insect evolution. *Science* 346:763–767.
- Mohandass, S., Arthur, FH., Zhu, KY., Throne, JE. (2006a). Hydroprene prolongs developmental time and increases mortality of Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) eggs. *Journal of Economic Entomology*, 99, 1007–1016.
- Mohandass, S., Arthur, FH., Zhu, KY., Throne, JE. (2006b). Hydroprene prolongs developmental time and increases mortality in wandering-phase Indianmeal Moth (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Journal of Economic Entomology*, 99, 1509–1519.
- Mohandas S., Arthur FH., Zhu KY., Throne JE. (2007). Biology and management of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in stored products. *Journal of Stored Products Research*, 43; 302-311.
- Mueller Dk. (2001). Methyl bromide alternatives in developing countries *International Pest Control*, 43, 246-247
- Mullen MA. (1994). Rapid determination of the effectiveness of insect resistant packaging. *Journal of Stored Products Research*, 30, 95-97.
- Mullen, MA., & Arbogast, RT. (1977). Influence of substrate on oviposition by 2 species of stored product moths. *Environmental Entomology*, 6, 641–644.
- Mullen MA, Mowery SV. (2003). Packaging. Editörler: Y.H. Hui, B.L. Bruinsma, J.R. Gorham, W.K. Nip, P.S. Tong, P. Ventresca. In: Food Plant Sanitation, Marcel Dekker, New York (2003), 423-433 pp.

- Na JH., ve Ryoo MII. (2000). The influence of temperature on development of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) on dried vegetable commodities. *Journal of Stored Products Research*, 36(2); 125-129.
- Nansen, C., Phillips, TW. (2003). Ovipositional responses of the Indianmeal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) to oils. *Annals of the Entomological Society of America*, 96, 524-531.
- Nansen C., ve Frenqui AR. (2004a). Comparison of direct and indirect sampling procedures for *Plodia interpunctella* in a maize storage facility. *Journal of storage Product Research*, 40(2); 151-168.
- Nansen, C., Phillips, TW. (2004b). Attractancy and toxicity of an attracticide for Indianmeal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology*, 97, 703-710.
- Nansen, C., Phillips, TW., Palmer, MW. (2004a). Analysis of the insect community in a stored-maize facility. *Ecological Research*, 19, 197-207.
- Nansen, C., Phillips, TW., Sanders, S., (2004b). Effects of height and adjacent surfaces on captures of Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) in pheromone-baited traps. *Journal of Economic Entomology*, 97, 1284-1290.
- Nansen, C., Phillips, TW., Parajulee, MN., Franqui, RA. (2004c). Comparison of direct and indirect sampling procedures for *Plodia interpunctella* in a maize storage facility. *Journal of Stored Products Research*, 40, 151-168.
- Nansen C., Meikle WG., Campbell J., Phillips TW., Subbramanyam Bh. (2008). A binomial and species-independent approach to trap capture analysis of flying insects. *Journal of Economic Entomology*, 101, 1719-1728.
- Ombui, JN., Mathenge, JM., Kimotho, AM., Macharia, JK., Nduhiu, G. (1996). Frequency of antimicrobial resistance and plasmid profiles of *Bacillus cereus* strains isolated from milk. *East African Medical Journal*, 73(6): 380-384.
- Oluwafemi, AR., Rao, Q., Wang, XQ., Zhang, HY. (2009). Effect of *Bacillus thuringiensis* on *Habrobracon hebetor* during combined biological control of *Plodia interpunctella*. *Insect Science*, 16, 409-416.
- Özar, Aİ., P. Önder, A. Sarıbay, T. Demir, S. Özkut, Y. Arınç, T. Azeri, M. Gündoğdu & H. Genç, (1985). Ege Bölgesi İncirlerinde Görülen Hastalık ve Zararlılarla Savaşım Olanaklarının Saptanması ve Geliştirilmesi Üzerine Araştırmalar. TÜBİTAK-TOAG, Proje No: TOAG-429 (Yayınlanmamış), İzmir. 80 s.
- Özyardımcı, B., Çetinkaya, N., Denli, E., İç, E., Alabay, M. (2006). Inhibition of egg and larval development of the Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) and almond moth *Ephestia cautella* (Walker) by gamma radiation in decorticated hazelnuts. *Journal of Stored Products Research*, 42, 183-196.
- Perez-Mendoza, J. and Aguilera-Pena, M. (2004). Development, reproduction, and control of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae), in stored seed garlic in Mexico. *Journal of Stored Products Research*, 40, 409-421.
- Phillips, TW., Strand, MR., (1994). Larval secretions and food odors affect orientation in female *Plodia interpunctella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 71, 185-192.

- Phillips TW. (1997). Semiochemicals of stored-product insects: research and applications *Journal of Stored Products Research*, 33 (1997), pp. 17-30
- Phillips, TW., Berbert, RC., Cuperus, GW. (2000a). Sayfa 2690-2701. Post-harvest integrated pest management. Editör: Francis, F.J. *Encyclopedia of Food Science and Technology*. 2nd ed. Wiley Inc., New York.
- Phillips, T., W., Cogan, P., M. & Fadamiro, HY., (2000b). Pheromones. Editör: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. *Alternatives to Pesticides in Storedproduct IPM*. Kluwer Academic Publishers, London, 273-30 pp.
- Platt, RR., Cuperus, GW., Payton, ME., Bonjour, EL., Pinkston, KN. (1998). Integrated pest management perceptions and practices and insect populations in grocery stores in south-central United States. *Journal of Stored Products Research*, 34, 1–10.
- Poinar, GO., Thomas, GM. (1978). *Diagnostic Manual for the identification of insect Pathogens*. Plenum Press, New York.
- Press, JW., Flaherty, BR., Arbogast, RT. (1974). Interactions among *Plodia interpunctella*, *Bracon hebetor* and *Xylocoris flavipes*. *Environmental Entomology*, 3, 183–184.
- Press JW., Cline, LD., Flaherty BR. (1982). A comparison of two parasitoids, *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae), and *Venturia canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae), and a predator *Xylocoris* (Hemiptera: Antocoridae) in suppressing residual population of Almond moth, *Ephestia cautella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Kansas Entomological Society*, 55, 25-728
- Prevett, PF. (1971). Some laboratory observations on the development of two African strains of *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) with particular reference to the induction of diapause. *Journal of Stored Products Research*, 7, 253–260.
- Ramos-Rodríguez, O., Campbell, JF., Ramaswamy, SB. (2007). Efficacy of the entomopathogenic nematode *Steinernema riobrave* against the stored-product insect pests *Tribolium castaneum* and *Plodia interpunctella*. *Biological Control*, 40, 15–21.
- Rees, D. (2004). *Insects of Stored Products*. SBS Publishers & Distributors PVT. LTD., New Delhi, 181s.
- Roesli, R., Subramanyam, B., Fairchild, FJ., Behnke, KC. (2003). Trap catches of stored-product insects before and after heat treatment in a pilot feed mill. *Journal of Stored Products Research*, 39, 521–540.
- Rosovitz, M., Voskuil, MI., Chambliss, GH. (1998). *Bacillus* Systematic Bacteriology. Arnold Press, London.
- Ryne C., Svensson G.P., Lofstedt C. (2001). Mating disruption of *Plodia interpunctella* in small-scale plots: effects of pheromone blend, emission rates, and population density *Journal of Chemical Ecology*, 27 (2001), pp. 2109-2124.
- Saejeng, A., Tidbury, H., Siva-Jothy, MT., Boots, M. (2010). Examining the relationship between hemolymph phenoloxidase and resistance to a DNA

- virus, *Plodia interpunctella* granulosus virus (PiGV). *Journal of Insect Physiology*, 56, 1232-1236.
- Sato, H, Shirai Y, Tanaka S, Imamura T, Miyanoshita M. (2003). The effect of sealing tightness of chocolate carton outer covering film on invasion by *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Jpn. Appl. Entomol. Zool.* 47: 97-100.
- Saygılı, H., Şahin, F., Aysan, Y. (2006). Fitobakteriyoloji. İzmir, İstanbul, Adana, 6575.
- Schaafsma, AW. (1990). Resistance to malathion in populations of Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Proceedings of the Entomological Society of Ontario*, 121, 101–104.
- Schöller M, Hassan SA, Reichmuth Ch. (1996). Efficacy assessment of *Trichogramma evanescens* and *T. embryophagum* (Hym.: Trichogrammatidae), for control of stored products moth pests in bulk wheat *Entomophaga*, 41, 125-132.
- Schöller M., Prozell S. Al-Kirshi AG. Reichmuth C. (1997). Towards biological control as a major component of integrated pest management in stored product protection. *Journal of Stored Products Research*, 33, 81-97.
- Schöller M., Flinn PW. (2000). Parasitoids and predators Editör: B. Subramanyam, D.W. Hagstrum. In: Alternatives to Pesticides in Stored-product IPM, Kluwer Academic Publishers, Norwell, MA, 229-271 pp.
- Schöller, M., Flinn, PW. (2000). Parasitoids and predators. Editör: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. Alternatives to Pesticides in Stored-product IPM. Kluwer Academic Publishers, Norwell, 229-271 pp.
- Schulten, GGM., Roorda, FA. (1984). Storage insects in imported products mainly of tropical origin. *Entomologische Berichten*, 44, 65–69.
- Sedlacek, JD., Weston, PA., Barney, J. (1996). Lepidoptera and Psocoptera. Sayfa 41-70. Editör: Subramanyam, Bh., Hagstrum, D.W. Integrated Management of Insects in Stored Products. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Shojaaddini, M., Lopez, M.J., Moharramipour, S., Khodabandeh, M., Talebi, AA., Vilanova, C., Latorre, A., Porcar, M. (2012). A *Bacillus thuringiensis* strain producing epizootics on *Plodia interpunctella*: A case study), *Journal of Stored Products Research*, 48, 52-60.
- Silhacek, D., Murphy, C., Arbogast, R.T., (2003). Behavior and movements of Indian meal moths (*Plodia interpunctella* Hübner) during commodity infestation. *Journal of Stored Products Research*, 39, 171–184.
- Soderstrom, EL., Brand, DG., Vick KW., & Coffelt J.A. (1980). Evaluation of synthetic sex pheromone. *Insecticide and Acaricide Test* 5: 207–208.
- Sower, LL., Vick KW. & Tumlinson JH. (1974). (Z,E)-9,12- Tetradecadien-1-ol: a chemical released by female *Plodia interpunctella* that inhibits the sex pheromone response of male *Cadra cautella*. *Environmental Entomology* 3: 120–122
- Steinhaus, EA., and CR. Bell. (1953). The effect of certain microorganisms and antibiotics on stored-grain insects. *Jour. Econ. Ent.* 46: 582-98

- Subramanyam, Bh. & Hagstrum, DW. (1996). Resistance measurement and management. Editörler: Subramanyam, B., Hagstrum, DW. Integrated Management of Insects in Stored Products. Marcel Dekker, Inc., New York, 331-397 pp.
- Sumner, WA., Harein, PK., Subramanyam, B. (1988). Malathion resistance in larvae of some southern Minnesota USA populations of the Indian meal moth *Plodia interpunctella*, (Lepidoptera: Pyralidae) infesting bulk-stored shelled corn. Great Lakes Entomologist, 21, 133–138.
- Šifner, F., (1995). Synantropni Zavijeci- Skudci v Zemedelstvi a Potravinarstvi. Monitorovani a Regulace Feromonovými Pasy FeroKap EP. Studijni Informace Rostlinna Vyroba. No. 2, 40.
- TAGEM 2008. Zirai Mücadele Teknik Talimatları. Cilt 1, Başak Matbaacılık ve Tan. Hiz. Ltd. Şti., Ankara.
- T.C. Resmi Gazete. Metil Bromür'ün Tarımda Kullanımının Azaltılması Hakkında Yönetmelik 2004. (24088), Son erişim tarihi: 23.06.2022.
- Teal, PEA., Heath, RR., Dueben, BD., Coffelt JA. & Vick, KW. (1995). Production and release of (Z,E)-9,12-tetradecadienal by sex pheromone glands of females of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Chemical Ecology*, 21, 787– 800.
- Throne, JE. (1996). Computer modeling of the population dynamics of stored-product pests. Editörler: Jayas, D.S., White, N.D.G., Muir, W.E. In: Stored Grain Ecosystems. Marcel Dekker, Inc., New York, 169–195 pp.
- Toguebaye, BS., Marchand, B. & Bouix, G., (1988). Microsporidia of Chrysomelidae. Editörler: Petitpierre E., Hsiao TH., Jolivet PH. In: Biology of Chrysomelidae. Kluwer Academic Publishers, Boston, 399-416 pp.
- Toshiyuki, D., Masaki, S., Matsuoka, I., Masahiro, T., Toshitatsu, T. (1999). Low temperature as an alternative to fumigation for disinfecting stored products. *Research Bulletin of the Plant Protection Service, Japan*, 35, 5-14.
- Toth M, Repasi V, Szocs G. (2002). Chemical attractants for females of pest pyralids and phycitids (Lepidoptera: Pyralidae, Phycitidae). *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 37, 375-384
- Trdan, S., Kač, M., Vidrih, M., Laznik, Z. (2010). Seasonal Dynamics of three lepidopteran stored grain pests in Slovenia. 10th International Working Conference on Stored Product Protection. *Julius-Kühn-Archiv*, 425, 197-201.
- Trematerra, P., Sciarretta, A., 2004. Spatial distribution of some beetles infesting a feed mill with spatio-temporal dynamics of *Oryzaephilus surinamensis*, *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum*. *Journal of Stored Products Research*, 40, 363–377.
- Trematerra P, Athanassiou C., Stejskal V, Sciarretta A, Kavallieratos N, Palyvos N. (2011). Large-scale mating disruption of *Ephestia* spp. and *Plodia interpunctella* in Czech Republic, Greece and Italy. *Journal of Applied Entomology*, 135, 749-762
- Triplehorn, CA.; Johnson, NF. (2011). Estudo dos insetos. 7nd ed. Cengage Learning, São Paulo, 816.

- Tsuji, H., (1959). Studies on the diapause of the Indian-meal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner). II. The effect of population density on the induction of diapause. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology* 3, 34–40 (In Japanese with an English summary).
- Tsuji, H. (1998) Experimental invasion of a food container by first instar larvae of the Indian-meal moth, *Plodia interpunctella* Hubner, through pinholes. *Med. Entomol. Zool.*, 49, 99-104.
- Tsuji H. (2000). Ability of first instar larvae of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* Hübner, to reach their food. *Medical Entomology and Zoology*, 51, 283-287.
- Tunç, İ., Berger, BM., Erler, F., Dağlı, F. (2000). Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-products insects. *Journal of Stored Products Research*, 36, 161-168.
- Turanlı, F. (2003). Studies on infestation levels of pests on dried fig in Aydın and İzmir Provinces. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 27, 171-180.
- Tzanakakis, ME., (1959). An ecological study of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*, with emphasis on diapause. *Hilgardia*, 29, 205–246.
- URL-2. Ambar Zararlıları ile Mücadele. <http://kutluilaclama.com.tr/tr/Ambar-Zararlıları-Ile-Mucadele>, Son erişim tarihi: 3 Mayıs 2022.
- UNEP (1995). Montreal Protocol on substances that deplete the ozone layer. 1994 Report of the Methyl Bromide Technical Options Committee. 1995 Assessment. UNEP, Nairobi, Kenya.
- Undeen, A., Vavra, J. (1997). Research methods for entomopathogenic protozoa. *Manual of Techniques in Insect Pathology*, Academic Press, San Diego.
- Van-Rie, J., McGaughey, WH., Johnson, DE., Barnett, BD. & Van-Mellaer, TH. (1990). Mechanism of insect resistance to the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*. *Science*, 247, 72–74.
- Vail, PV., Tebbets, JS., Cowan, DC., Jenner, KE. (1991). Efficacy and persistence of a Granulosis virus against infestations of *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) on raisins. *Journal of Stored Products Research*, 27, 103–107.
- Vail, PVDF., Tebbets, JS. (1993). Autodissemination of *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) granulosis virus by healthy adults. *Journal of Stored Products Research*, 29, 71–74.
- Waage, JK. (1978). Arrestment responses of the parasitoid, *Nemeritis canescens*, to a contact chemical produced by its host, *Plodia interpunctella*. *Physiological Entomology*, 3, 135-146.
- Wallner, WE., Dubois, NR. and Grinberg, PS. (1983). Alteration of parasitism by *Rogas lymantriae* (Hymenoptera: Braconidae) in *Bacillus thuringiensis*-stressed gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) hosts. *Journal of Economic Entomology*, 76, 275–277.

- Wang S., Ikediala J., Tang J., Hansen J. (2002a). Thermal death kinetics and heating rate effects for fifth-instar *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Stored Prod. Res.* 38, 441–453.
- Wang S., Tang J., Johnson J., Hansen J. (2002b). Thermal-death kinetics of fifth-instar *Amyelois transitella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Stored Prod. Res.* 38, 427–440
- White, NDG. (1992). A multidisciplinary approach to stored-grain research. *Journal of Stored Products Research*, 28, 127–137.
- White, NDG., Leesch, JG. (1996). Chemical control. Editörler: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. In: Integrated Management of Insects in Stored Products. Marcel Dekker, Inc., New York, 287–329 pp.
- Williams, GC. (1964). The life-history of the Indian meal-moth, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lep. Phycitidae) in a warehouse in Britain and on different foods. *Annals of Applied Biology*, 53, 459–475.
- Yaman, M. (2012). Böcek Patolojisi Atlası (Biyolojik Mücadelede Entomopatojenler İçin), Sage, Ankara.
- Yaman, M., Acar, KF., Radek, R. (2015). A Nucleopolyhedrovirus from the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Applied Entomology and Zoology*. 50:355–359.
- Yaman, M., Güngör, P., Güner BG., Radek, R., Linde, A. (2016). First report and spore ultrastructure of *Vairimorpha plodiae* (Opisthokonta: Microspora) from *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in Turkey. *Acta Parasitology*, 61(2), 228-31.
- Yaman, M. (2012). Böcek Patolojisi Atlası (Biyolojik Mücadelede Entomopatojenler İçin), Sage, Ankara.
- Yaman, M., Güngör, P., Güner BG., Radek, R., Linde, A. (2016). First report and spore ultrastructure of *Vairimorpha plodiae* (Opisthokonta: Microspora) from *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in Turkey. *Acta Parasitology*, 61(2), 228-31.
- Yaman, M., Acar, K. F., Radek, R. (2015). A Nucleopolyhedrovirus from the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Applied Entomology and Zoology*. 50, 355–359.
- Yıldırım, E., Özbek, H., Aslan, İ. (2001). Depolanmış Ürün Zararlıları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 191, Erzurum.
- Zettler, JL., McDonald, LL., Redlinger, LM., Jones, RD. (1973). *Plodia interpunctella* and *Cadra cautella* resistance in strains to malathion and synergized pyrethrins. *Journal of Economic Entomology*, 66, 1049–1050.
- Zettler, JL. (1982). Insecticide resistance in selected stored product insects infesting peanuts in the Southeastern USA. *Journal of Economic Entomology*, 75, 359–362.
- Zettler, JL., Halliday, WR., Arthur, FH. (1989). Phosphine resistance in insects infesting stored peanuts in the Southeastern USA. *Journal of Economic Entomology*, 82, 1508–1511.

- Zhu J., Ryne C., Unelius CR., Valeur PG., Löfstedt C. (1999). Reidentification of the female sex pheromone of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*: evidence for a four-component pheromone blend. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 92, 137–146.
- Zwick ME ve ark. (2012). Genomic characterization of the *Bacillus cereus* sensu lato species: Backdrop to the evolution of *Bacillus anthracis*. *Genome Research*. 22, 1512–1524.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Gönül ALGI
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	
Uyruğu	T.C.
Telefon	
E-Posta Adresi	
Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	13.06.2011
Yüksek Lisans	
Üniversite	Karadeniz Teknik Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji
Mezuniyet Tarihi	15.06.2015
Doktora	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Mezuniyet Tarihi	08.03.2023
Yayınlar	
Yaman M., Algi G., Radek R. Morphological, ultrastructural, and molecular identification of a new microsporidian pathogen isolated from <i>Crepidodera aurata</i> (Coleoptera, Chrysomelidae). <i>TURKISH JOURNAL OF ZOOLOGY</i>. Vol 43. 43: 407-415. 2019 Yaman M., Algi G., Güner B.G., Erturk O., Unal S., Radek R., "First record, occurrence and distribution of entomopathogens in populations of the European cockchafer, <i>Melolontha melolontha</i> (Coleoptera: Scarabaeidae) in Turkey", <i>NORTH-WESTERN JOURNAL OF ZOOLOGY</i>, vol.12, pp.192-195, 2016 Yaman M., Algi G., Ünal S., Güner B.G., "Survey of Pathogens and Parasites of the Engraver Beetle <i>Ips acuminatus</i> (Gyllenhal, 1827) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Turkey", <i>ACTA ZOOLOGICA BULGARICA</i>, vol.68, pp.127-130, 2016 Yaman M., Algi G., Güner B.G., Unal S., "Distribution and occurrence of microsporidian pathogens of the willow flea beetle, <i>Crepidodera aurata</i> (Coleoptera: Chrysomelidae) in North Turkey", <i>ENTOMOLOGICA FENNICA</i>, vol.26, pp.171-176, 2015	

- Yaman M., Algı G., Güner B.G., "Morphological and Ultrastructural Features in the Characterization of Microsporidia. ", *Türkiye Parazitoloj Derg.*, vol.39, pp.52-59, 2015
- Yaman M., Algı G., Güner B.G., Ertürk O., Unal S., Radek R., "Mayıs Böceği, *Melolontha melolontha* (Coleoptera: Scarabaeidae) Populasyonlarındaki Hastalık Etmenlerinin ve Dağılımlarının Belirlenmesi", 2. Ulusal Zooloji Kongresi, AFYON, TÜRKİYE, 28-31 Ağustos 2015, ss.20-20
- Yaman M., Ünal S., Algı G., Güner B.G., Ertürk O., Demirkol E., et al., "Bazı kavak zararlıları ile mücadelede biyolojik mücadele ajanı olarak entomopatojenlerin araştırılması", T. C. Orman Genel Müdürlüğü, Türkiye Millî Kavak Koordinatörlüğü VIII. Genel Kurul Toplantısı, İSTANBUL, TÜRKİYE, 13-14 Kasım 2014, ss.100-107