

**ENTOMOPATOJENİK FUNGUSLARIN GENEL BİYOLOJİLERİ
VE TÜRKİYE'DE ZARARLI BÖCEKLERİN MÜCADELESİNDE
KULLANILMA POTANSİYELLERİ**

**GENERAL BIOLOGY OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI AND
THEIR POTENTIAL TO CONTROL PEST SPECIES IN TURKEY**

Ali SEVİM^{*1}, Elif SEVİM¹, Zihni DEMİRBAĞ²

*¹Ahi Evran Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Genetik
ve Biyomühendislik Bölümü*

²Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Geliş Tarihi (Received): 15/09/2014 Kabul Tarihi (Accepted): 03/03/2015

ABSTRACT

Entomopathogenic fungi have important roles in the natural regulation of many insect pests and pest populations. Several species of entomopathogenic fungi are being produced commercially and used as biological control agents against many insect pests in many parts of the world. They normally invade insects via the external cuticle and need not be ingested to initiate disease. This makes them prime candidates for use against plant and blood sucking insects. In Turkey, there are many insect pests in agricultural and forested area and, they cause great economic losses in these areas. Some studies showed that entomopathogenic fungi can be important biocontrol agents against many pest species in Turkey and, these pathogens have a potential to suppress population of some pest species in the field. In this review, we provide an overview of entomopathogenic fungi and the potential of entomopathogenic fungi for controlling some pest species.

Key words: Microbial control, entomopathogenic fungi, pests, Turkey

ÖZET

Entomopatojenik funguslar zararlı böcek ve popülasyonlarının doğal regülasyonunda önemli rollere sahiptir. Entomopatojenik fungusların pek çok türü ticari olarak üretilmekte ve Dünya'nın pek çok yerinde zararlı böceklere karşı biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılmaktadır. Bu funguslar normal olarak böceklerin dış kütikulası üzerinden enfeksiyona sebep olurlar ve hastalığı başlatmak için böcek tarafından yenilmelerine gerek yoktur. Bu özellik bu fungusları bitki özsuyla ile beslenen ve kan emici böcekler ile mücadelede primer adaylar yapmaktadır. Türkiye'de tarım ve orman arazilerinde pek çok zararlı böcek bulunmaktadır ve bu böcekler bu alanlarda her yıl büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadırlar. Bazı çalışmalar entomopatojenik fungusların Türkiye'de zararlı böceklere karşı önemli biyolojik mücadele etmeni olabileceklerini ve bu patojenlerin alan uygulamaların büyük bir potansiyele sahip olduklarını göstermiştir. Bu

**Sorumlu Yazar: ali.sevim@ahievran.edu.tr*

derleme çalışmasında, entomopatojenik fungusların genel biyolojisi ve bazı zararlı böcekleri kontrol etmedeki potansiyelleri verilmeye çalışılmıştır.

Anahtar sözcükler: Mikrobiyal mücadele, entomopatojenik funguslar, zararlı böcekler, Türkiye

1.GİRİŞ

Biyolojik mücadele, bir zararlı organizmanın popülasyon yoğunluğunu veya etkisini olabileceğinden daha aza indirmek ve daha zararsız hale getirmek için başka organizmaların kullanılmasıdır (Eilenberg vd., 2001). Mikrobiyal mücadele ise biyolojik mücadele etmenleri olarak bakteri, fungus, protozoa, virüs ve nematod gibi mikroorganizmaların kullanılmasıdır (Eilenberg vd., 2001; Lacey ve Goettel., 1995; Demirbağ, 2008). Entomopatojenik funguslar pek çok zararlı böceğin doğal olarak kontrol altına alınmasında önemli bir etmen olup, bu organizmalar zararlı böcek popülasyonlarında sık sık geniş yayımlı epizootiklere neden olmaktadır. Pek çok entomopatojenik fungus direkt olarak böcek kütikulasından enfeksiyon yapmaktadır ve bu yüzden konak tarafından yenilmelerine gerek yoktur. Bu özellik entomopatojenik fungusları özellikle bitki özsuyla ile beslenen ve kan emici böceklerin mücadelesinde öncü aday konumuna getirmektedir. Günümüzde Dünya çapında entomopatojenik funguslardan oluşan pek çok ticari preparat bulunmaktadır ve bunlar çeşitli zararlılarla mücadelede kullanılmaktadır (Goettel vd., 2005).

Entomopatojenik funguslar mikrobiyal mücadele etmeni olarak 100 yılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır. Genel olarak, birçok böcek takımı fungal hastalıklara karşı duyarlıdır ve entomopatojenik funguslar zararlı böceklere karşı mikrobiyal mücadele etmeni olarak iyi bir potansiyele sahiptir (Roberts, 1989). Şimdiye kadar, en azından 90 cinse ait 700 entomopatojenik fungus türü tanımlanmış ve bunlardan *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea* (= *Paecilomyces fumosoroseus*) ve *Verticillium lecanii* gibi bazı türler ise birçok ülkede pek çok zararlıyla mücadelede ticari olarak üretilerek kullanılmaktadır (Rath, 2000). Örneğin, *B. bassiana* Brezilya'da muz kurduna (*Cosmopolites sordidus*), Çin'de çam tırtılına (*Dendrolimus* spp.), Avrupa'da ise afidlere ve mısır kurduna (*Ostrinia nubilalis*) karşı kullanılmaktadır (Goettel vd., 2005). Bu fungusların, memeliler üzerinde herhangi bir toksik etkilerinin bulunmaması, böceklerde direnç oluşturmamaları, biyoteknolojik geliştirmelere

yönelik yüksek bir potansiyele sahip olmaları, uygulama sonrası çevrede uzun süre kalarak uzun ömürlü mücadele sağlamaları, konaklarının tüm gelişme fazlarını enfekte etmeleri, genellikle insektisidlerle birlikte sinerjistik hareket etmeleri ve onlarla beraber kullanılabilmesi ve kitle üretimi problemlerinin üstesinden kolayca gelmeleri gibi biyolojik mücadelede kullanılmaları açısından birçok önemli avantajlara sahiptir (Wan, 2003; Demirbağ, 2008).

Entomopatojenik fungusların biyolojik mücadele etmeni olarak büyük bir potansiyele sahip olmasına rağmen, ülkemizde zararlı böceklerin mücadelesinde bu fungusların kullanımına yönelik çalışmalar henüz temel araştırma düzeyinde görülmektedir. Bu derleme çalışmasında, entomopatojenik fungusların genel biyolojileri, ülkemizde zararlı böceklerin mücadelesine yönelik bu funguslarla yapılan çalışmalar ve bu fungusların bu alandaki potansiyeli verilmeye çalışılmıştır.

2. ENTOMOPATOJENİK FUNGUSLAR

Entomopatojenik funguslar böcek popülasyonlarının düzenlenmesinde önemli role sahiptir. Beş farklı sınıf içerisinde farklı bir diziliş göstermekte olan entomopatojenik funguslar spesifik böcek türlerini enfekte eden zorunlu patojenler, pek çok böcek türünü enfekte edebilen genel patojenler ve fakültatif patojenler olarak gruplandırılabilir. Fungal epizootikler bazı böcek türlerinde yaygın olmasına rağmen, bazı böcek türlerinde ise nadir görülür (Goettel vd., 2005).

2.1. Entomopatojenik Fungusların Sınıflandırılması

Fungi alemi içerisinde en azından 90 genusa ait 700’den fazla entomopatojenik fungus türü yer almaktadır (Goetteal vd., 2005). Bunlardan pekçoğu Ascomycota ve Zygomycota bölümleri içerisinde bulunmaktadır. Ascomycota içerisinde ise pek çok tür Hypocreales, Zygomycote ve Entomophthoralean takımları içerisinde yer almaktadır (Roy vd., 2006). Entomopatojenik fungusların sistematik pozisyonlarına dayanarak ortaya çıkarılan gruplandırmada entomopatojenik veya entomoparazitik funguslar Blastocladiomycota (*Coelomyces* spp., *Coelomyxidium simulii*), Entomophthoromycotina, Kickxellomycotina (Harpellales ve Asellariales), Eurotiomycetes (*Ascosphaera* ve diğer cinsler), Laboulbeniomycetes (ektoparazitik ascomycetes), Dothideomycetes (Myriangium), Sordariomycetes

(çoğunlukla *Hypocreales* içerisinde) ve Pucciniomycetes (*Septobasidium* ve akrabaları) grupları içerisinde yer aldığını söylemek mümkündür (Humber, 2008). Bazı önemli entomopatojenik fungusların detaylı sınıflandırılması Tablo 1’de verilmiştir (Humber, 2008; Roy vd., 2006; URL-3, 2009).

Tablo 1. Fungusların sınıflandırılması ve bazı önemli entomopatojenik fungusların Fungi alemi içerisindeki taksonomik pozisyonları

Filum	Chytridiomycota	Eski adı: Zygomycota	Bazal Funguslar
Filum	Neocallimastigomycota		
Filum	Blastocladiomycota		
Filum	Microsporidia		
Filum	Glomeromycetes		
Alt filum	Mucormycotina (filum atanmadı)		
Alt filum	Kickxellomycotina (filum atanmadı)		
	Orders Harpellales, Asellariales		
Alt filum	Zoopagomycotina (filum atanmadı)		
Alt filum	Entomophthoromycotina (filum atanmadı)		
Takım	Entomophthoralean		
Familiya	Entomophoraceae		
Cins	<i>Entomophaga</i>		
	<i>Entomophthora</i>		
	<i>Erynia</i>		
	<i>Eryniopsis</i>		
	<i>Furia</i>		

 Entomopatojenik Fungusların Genel Biyolojileri ve Türkiye’de

	<i>Massospora</i>
	<i>Strongwellsea</i>
	<i>Pandora</i>
	<i>Tarichium</i>
Familiya	Neozygitaceae
Cins	<i>Neozygites</i>
	<i>Zoophthora</i>
Alt alem	Dikarya
Filum	Ascomycota
Alt filum	Pezizomycotina
Sınıf	Eurotiomycetes
Sınıf	Dothideomycetes
Sınıf	Laboulbeniomycetes
Sınıf	Lecanoromycetes (likenler)
Sınıf	Orbiliomycetes
Sınıf	Sordariomycetes
Takım	Hypocreales
Familiya	Clavicipitaceae
Cins	
<i>Telemorf</i>	<i>Hypocrella</i>
	<i>Metacordyceps</i>
	<i>Regiocrella</i>
	<i>Torrubiella</i>

Sevim ve Dięerleri

<i>Anamorf</i>	<i>Aschersonia</i>
	<i>Metarhizium</i>
	<i>Nomuraea</i>
	<i>Paecilomyces-gibi1</i>
	<i>Pochonia</i>
	<i>Rotiferophthora</i>
	<i>Verticillium-gibi2</i>
Familya	Cordycipitaceae
Cins	
<i>Telemorf</i>	<i>Cordyceps s.str.</i>
	<i>Torrubiella</i>
<i>Anamorf</i>	<i>Beauveria</i>
	<i>Engyodontium</i>
	<i>Isaria</i>
	<i>Lecanicillium</i>
	<i>Mariannaea-gibi</i>
	<i>Microhilum</i>
	<i>Simplicillium</i>
Familya	Ophiocordycipitaceae
Cins	
<i>Telemorf</i>	<i>Ophiocordyceps</i>
	<i>Elaphocordyceps</i>
<i>Anamorf</i>	<i>Haptocillium</i>

*Harposporium**Hirsutella**Hymenostilbe**Paecilomyces gibi*¹*Paraisaria**Sorospora**Syngliocladium**Tolypocladium**Verticillium gibi*²

Filum	Basidiomycota
Alt filum	Pucciniomycotina
Sınıf	Pucciniomycetes
Takım	Septobasidiales
Alt filum	Ustialginomycotina
Alt filum	Agaricomycotina

1 Önceden *Paecilomyces* sect. *Isarioidea* içerisinde yer alan türler. Günümüzde bu türler *Paecilomyces*’den ve *Isaria*’dan kesin bir şekilde ayrılmıştır.

2 Önceden *Verticillium* sect. *Prostrata* içerisinde yer alan türler. Günümüzde bu türler *Verticillium*’dan kesin bir şekilde ayrılmış fakat yeni sınıflandırılmaları yapılmamıştır.

2.1.1. Entomopatojenik Fungusların Sınıflandırılmasında Kullanılan Özellikler

Entomopatojenik fungusların sınıflandırılmasında ana olarak morfolojik ve özellikle son zamanlarda moleküler karakterler yaygın olarak kullanılmaktadır.

Morfolojik özellikler:

Entomopatojenik fungusların sınıflandırılmasında bir çok farklı morfolojik özellikler kullanılmaktadır. Bunlar sırası ile; böcekte meydana gelen enfeksiyon şekli, katı besiyerindeki koloni morfolojisi ve rengi, sporların şekli ve boyutları, hiflerin yapısı, havai ve septalı olup olmadığı, synnema yapısı, sporların tek tek veya zincir şeklinde olup olmaması, sporokarp (fruiting body) yapısı, konidiyogenez hücrelerinin yapısı ve şekli, stroma yapısı, konidiyoforların yapısı, dinlenme yapılarının (resting spores) şekli ve büyüklüğü, sporangiyum yapısı ve şekli, fungusun hymenia oluşturup oluşturumaması, zoospor yapısı ve diğer bazı özellikler entomopatojenik fungusların morfolojik tür tayininde kullanılmaktadır (Humber, 1997).

Moleküler özellikler:

Çeşitli organizmaların karakterizasyonu için PCR temelli metotların kullanılması entomopatojenik funguslarda (özellikle *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium anisopliae*) tür sınırlarının, filogenilerinin anlaşılmasında ve tür tayinlerinin yapılmasında büyük bir önem arz etmektedir. Birçok spesifik olmayan PCR temelli metotlar *B. bassiana* ve *M. anisopliae* izolatlarını karakterize etmek için kullanılmıştır ve pek çok çalışma bu funguslar arasında büyük oranda genetik çeşitliliğin olduğunu göstermiştir (Meyling, 2008).

Biyolojik mücadele etmenlerinin geliştirilmesinde ilk adım olan tür tayini basamağı güvenilir tanımlama metotları gerektirmektedir. Araştırmacılar entomopatojenik funguslar için daha çok makro ve mikro düzeyde morfolojik karakterleri kullanmaktadır. Özellikle *Beauveria* ve *Metarhizium* türlerinin ayrımında spor şekli ve ölçüsü kullanılmaktadır. Oysa son araştırmalar her iki cinsin kriptik türler ihtiva ettiğini ve bunların morfolojik olarak ayıramadığını göstermiştir. DNA dizi analizlerinden elde edilen bilgiler ile entomopatojenik fungusların tür tayinlerinin yapılması son zamanlarda kullanılan en ileri teknik olarak belirtilmektedir. DNA dizi analizinden elde edilen bilgileri ile GenBank'ta yer alan diğer

entomopatojenik funguslara ait DNA dizileri ile karşılaştırmak mümkündür. DNA dizi analizlerinden elde edilen veriler ile yapılan filogenetik çalışmalarda *B. bassiana* ve *M. anisopliae* türlerinin kriptik taksonlardan oluştuğu ve bu ayrımın morfolojik olarak yapılamadığı belirtilmektedir (Rehner ve Buckley, 2005; Meyling, 2008; Bischoff vd., 2009).

DNA’da yer alan spesifik bölgelerin dizin analizinin yapılması pekçok organizma için filogenetik çalışmalarda kullanılmaktadır. Entomopatojenik funguslar için, son zamanlarda ITS gen bölgesi tür tayinlerinin yapılmasında ve hatta tür içi genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Driver vd., 2000; Muro vd., 2003; Meyling, 2008). Aynı şekilde *EF1-a* ve 18S gen bölgelerinde tür içi korunmuş olduklarından ve tür içinde yüksek oranda çeşitlilik sağladıklarından dolayı entomopatojenik fungusların sınıflandırılmalarında ve tür tayinlerinde kullanılmaktadır (Pantou vd., 2003; Rehner ve Buckley, 2005; Rehner vd., 2006).

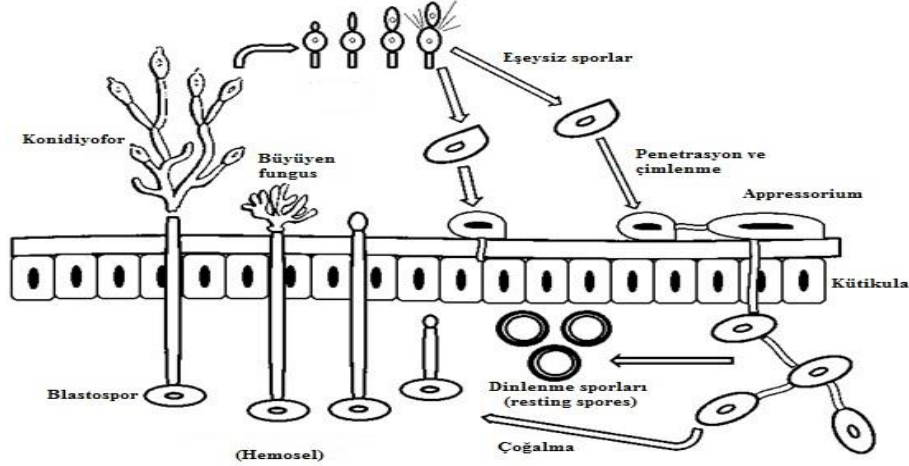
2.2. Entomopatojenik Fungusların Genel Biyolojileri

Entomopatojenik fungusların yaşam döngüleri çoğunlukla konaklarının gelişme safhaları ile eş zamanlı olarak gerçekleşmektedir (Shah ve Pell, 2003). Fakat, pek çok entomopatojenik fungus, hayat döngülerinde birçok benzerliğe sahiptir (Roy vd., 2006). Bakteri ve virüslerden farklı olarak, funguslar konaklarını yalnızca bağırsaktan değil, aynı zamanda böceklerin solunum deliklerinden ve integumentin yüzeyinden de enfekte edebilir. Bu özellik entomopatojenik fungusları böceklerin beslenme aktivitelerinden bağımsız olarak doğrudan enfekte edebileceği gerçeğini doğurmaktadır (Ferron, 1978). Bu durum bitkilerin özsuvarısı (başta afidler) veya hayvan kanı ile beslenen böceklerin mikrobiyal mücadelesinde entomopatojenik funguslara önemli avantajlar sağlamaktadır (Lacey ve Goettel, 1995). Entomopatojenik fungusların yaşam döngülerinde ilk olarak fungus enfektif bir spor üretir ve bu spor konağın kütikulasına tutunarak penetre olur. Penetrasyondan sonra spor çimlenerek germ tüpünü oluşturur ve bunu takiben appressorium oluşumu meydana gelir. Bu penetrasyon işlemi sıklıkla integumentin enfeksiyon bölgelerinde melanizasyon reaksiyonuna yol açmaktadır (Ferron, 1978). Melanizasyon sıklıkla geç olur veya yeterli büyüklükte olur. Bu da patojenin yavaş büyümesini veya gücünü

durdurmasına yardımcı olur (Hajek ve Leger, 1994). Bundan sonra, fungus konağın hemoseline ulaşarak konağı istila eder ve konağı toksin üretimi veya çoğalma gibi nedenlerle öldürür. Uygun koşullar altında böceğin ölümünden sonra, fungus konaktan dışarı doğru sporlaşmaya başlar ve bu sporlaşma ya da konidiyogenezis kadavranın dış yüzeyinde meydana gelir (Goettel vd., 2005; Shah ve Pell, 2003). Alternatif olarak, fungus primer konağın olmadığı zamanlarda taksonomik olarak birinci derecede ilişkili bir başka konağı enfekte edebilir. Benzer olarak, alternatif konağın enfeksiyonundan sonra konak ölür ve üretilen sporlar primer ilişkili diğer bireyleri enfekte edebilir. Bunun haricinde, enfeksiyon için uygun olmayan çevresel koşullarda, fungus, bu koşullara dayanıklı dinlenme yapılarını (resting spores) oluşturur. Bu yapı çevrede konak olmadığı zaman uzun bir süre varlığını sürdürebilmektedir. Dinlenme yapılarının kendisi enfektif özelliğe sahip değildir fakat yeniden enfektif spor oluşturabilir. Sporlaşmadan sonra çevreye yayılan sporlar başka konakları enfekte eder. Normal olarak bu yaşam döngüsünün pek çok istisnaları bulunmaktadır fakat önemli olan çevresel faktörlerin fungusun üremesi ve hayatta kalması için son derece önemli olmasıdır. (Goettel vd., 2005). Entomopatojenik fungusların genel hayat döngüsü Şekil 1’de gösterilmektedir.

Şekil 1. *Entomophaga maimaiga*’nın yaşam döngüsü. *E. maimaiga* konidi (böceğin yüzeyinde üretilir) ve dinlenme sporları veya azigospor (böceğin içinde üretilir) olmak üzere iki tip spor formuna sahiptir. Konağın ölümünden sonra bütün çevresel faktörler hangi tip sporun oluşacağına etkili olmaktadır. Dinlenme sporları (resting spores) kışı yaprakların altında geçirmektedir ve uygun konak mevcut olduğu durumda çimlenmektedir. Dinlenme sporlarının çimlenmesinden sonra oluşan enfektif fungal sporlar ilk önce kütikulaya tutunmak zorundadırlar ve daha sonra farklılaşarak mekanik basınç ve enzimatik degradasyon ile penetrasyona başlamak durumundadır. Kütikulaya penetrasyondan sonra *E. maimaiga* konağın hemoseli içerisinde çoğalarak blastosporları oluşturmaktadır. Konidiler konağın ölümünden sonra blastosporlardan konidiyoforlar oluşarak ölmüş konağın kütikulasından dışarı çıkarlar. Bunu takiben yeniden

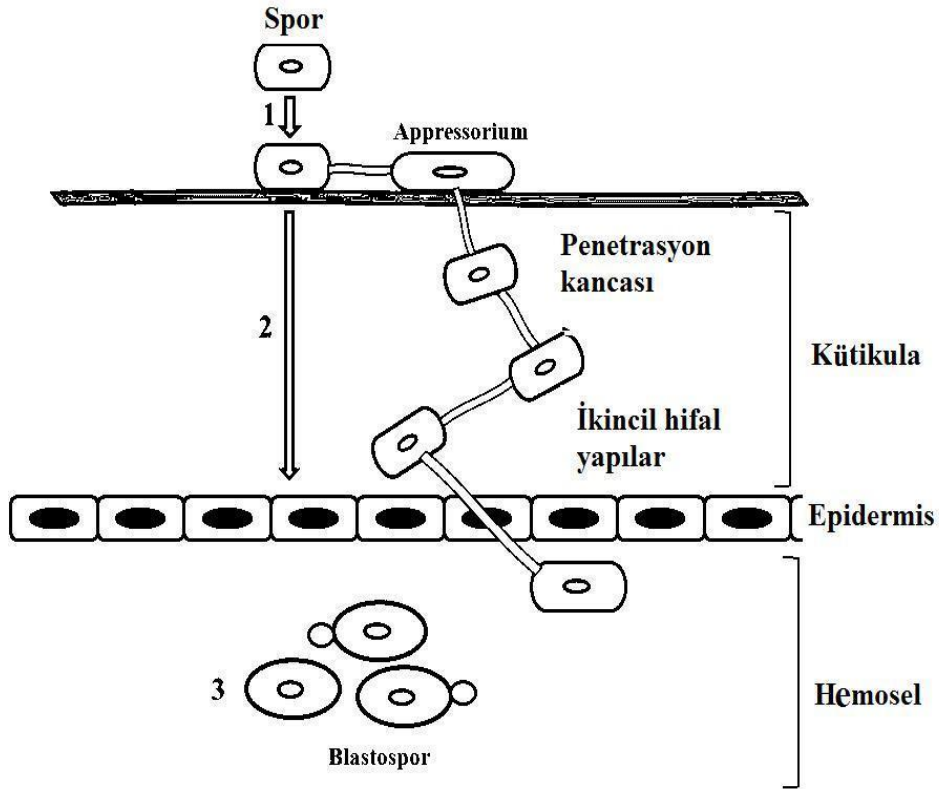
konidiyoforlardan enfektif sporlar oluşmaktadır (Hajek 1999).



2.3. Fungal Enfeksiyon

Entomopatojenik funguslar diğer böcek patojenlerinden farklı olarak konağın integümentinden enfeksiyon yapabilirler. Bu nedenle, konak tarafından yenilme gerekli değildir ve enfeksiyon çiğneme yapan böcekler ile sınırlı kalmaz (Fuxa, 1987). Genellikle eşersiz olarak üreyen sporlar enfeksiyondan sorumludur ve enfeksiyondaki başlangıç aşaması pasif veya spesifik olmayan tutunmadır (Castrillo vd., 2005; Shah ve Pell, 2003). Bu adım böceğin kütikulasına temas için birçok farklı yol içermektedir. Örneğin, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* ve *Nomurae rileyi* durumunda, tutunma işlemi sporlarda yer alan iyi organize olmuş fasikül rodletler ve böcek kütikulası arasındaki hidrofobik ilişkinin sonucu olarak meydana gelir. Sucul ortamlarda yaşayan entomopatojenik funguslarda ise tutunma işlemi zoosporların kese oluşturması ile takip edilir (Castrillo vd., 2005). Tutunma işlemi takiben, sporlar konağın çeşitli bariyerlerinin üstesinden gelmek için fungusa yardımcı olan appressorium yapısını oluşturmak için çimlenmeye başlar (Hajek ve Leger, 1994). Bundan sonra, çimlenmiş spor kütikulanın içerisine penetre olur. Penetrasyon safhasında, proteaz, kitinaz ve lipaz gibi kütikulayı parçalayan bazı enzimler konağa girişte önemli rol oynamaktadır (Clarkson ve Chamley, 1996). Penetrasyonu takiben, hemoselin içerisindeki filamentöz fungus yapıları maya benzeri hifal yapılara veya protoplastlara (blastospor) geçiş yapar. Bu yapılar hemosel içerisinde dolaşırlar ve tomurcuklanma ile çoğalırlar. Daha sonra tekrar filamentöz yapılara

geçiş yapılarak fungus iç dokuları ve organları istila eder ve sonunda böcek ölür (Castrillo vd., 2005). Son olarak, fungus ölmüş böcek üzerinde sporlaşır ve yeni oluşmuş sporlar başka bir konağı enfekte edebilir. Uygun koşullar altında, bu durum aynı şekilde devam eder. Fungal enfeksiyon işleminin ayrıntılı şeması Şekil 2’de verilmiştir.



Şekil 2. Böcek kütikulasındaki fungal enfeksiyon basamaklarının gösterimi. 1. Böcek kütikulası ve spor arasındaki fiziksel temastan sonra fungusun konağı tanıması spor çimlenmesini ve appressorium oluşumunu başlatır. 2. Penetrasyon kancası ve çeşitli hifal yapılar kütikulayı ve epidermisi geçer. 3. Fungusun hemosele girmesinden sonra blastospor oluşumu başlar ve fungus konağı istila eder.

2.4. Entomopatojenik Fungusların Etki Şekilleri

Entomopatojenik funguslar, farklı metabolitler üreterek konaklarını birçok farklı şekilde öldürmektedir (Zimmermann, 2007b). Kimyasal olarak farklı toksik metabolitler *Beauveria*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Metarhizium*, *Paecilomyces* ve *Verticillium* gibi biyolojik mücadele etmenlerinde tanımlanmıştır. Bu metabolitlerden bazılarının önemli patojenite etmenleri olduğu bilinmektedir (Strasser vd., 2000). Şimdiye kadar birçok araştırmacı *Beauveria* spp. ve *M. anisopliae* tarafından üretilen metabolitler üzerine odaklanmıştır. Çünkü, bu iki fungus en önemli mikrobiyal mücadele etmenleridir. Bazı entomopatojenik funguslar tarafından üretilen bazı metabolitler Tablo 2’te verilmiştir (Zimmermann, 2007a; Zimmermann, 2007b; Strasser vd., 2000).

Tablo 2. Entomopatojenik Funguslar Tarafından Üretilen Bazı Metabolitler

Fungus	Metabolitler
<i>Beauveria bassiana</i>	Beauverisin, bassianin, bassianolide, beauverolidler, tenellin, oosporein, oksalik asit, bassiakridin
<i>B. brongniartii</i>	Oosporin
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Destruksinler (28 tip), swainsonie, sitokalsin C
<i>Metarhizium</i> sp.	Hidroksifungerin A ve B
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Beauvricin, beauverolidler
<i>Verticillium lecanii</i>	Dipicolonik asit, hidroksikarboksilik asit, siklosporin
<i>Hirsutella thompsonii</i>	Hirsutellin A, hirsutellin B, fomalakton

Beauveria spp. beauverisin, bassianin, bassianolide, oosporin ve destruksin B gibi in vivo ve in vitro ortamda pek çok toksik bileşik üretmektedir (Zimmermann 2007a). Ayrıca, destruksinler (28 tip),

sitokalasin C ve hidrosifungerin A ve B gibi metabolitler ise *Metarhizium* spp. tarafından üretilmektedir. Şimdiye kadar entomopatojenik fungusların hastalık sırasında herhangi bir toksini üretip üretmedikleri veya virülans için toksin gerekip gerekmediği belirlenmemiştir. Quesada-Moraga ve Vey (2003) *B. bassiana*'nın çekirgelere karşı patojenik olması için toksin üretimine gerek duymadığını belirtmiştir. Bazı durumlarda, toksin üretiminden şüphelenilmesine rağmen, kesin olarak belirtilmemektedir. *Coelomycidium*, *Coelomyces* cins ve *Entomophthoralean* ordosuna ait bir kısım funguslar bazı çok zayıf toksinlere sahip olabilir. Fakat, büyük ihtimalle, bu funguslar konaklarını hayati dokuları istila ederek öldürmektedirler (Goettel vd., 2005). İlave olarak, fungal enfeksiyon konak hareketlerinde ateş artması, yüksek yerlere çıkma, aktivitede artış veya azalma, semikimyasallara karşı azalmış cevap ve üreme davranışlarında değişme gibi değişiklikler meydana getirebilir (Roy vd., 2006).

2.5. Entomopatojenik Fungusların Özgüllüğü ve Konak Seçiciliği

Entomopatojenik fungusların özgüllüğü cinsler arasında, bir cins içerisinde ve hatta bir türün suşları arasında bile farklılık gösterebilmektedir (Goettel vd., 2005). Özellikle, Entomophthorales ordosuna dahil fungusların, dar konak aralığına sahip oldukları bilinir (*Zoophthora radicans* istisnadır) ve bunlar, genelde yaprakla beslenen böcekler ve akarlarda göze çarpan epizootiklerle ilişkilidir. Bunun tersine Hyphomycetes funguslar (son sınıflandırmaya göre şu anda Sordariomycetes olarak biliniyor) daha geniş bir konak aralığına sahiptir (*Verticillium lecanii* ve *Hirsutella thompsoni* istisnaları ile birlikte) ve genelde topraktaki böcek popülasyonlarında epizootik yaparlar (Pell vd., 2001). Her iki grubun da istisnaları bulunmaktadır. Örneğin, Sordariomycetes sınıfına ait iki tane iyi bilinen fungus türü olan *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium anisopliae* geniş konak aralığına sahiptir. Şimdiye kadar *B. bassiana*'nın 707 adet farklı konağa sahip olduğu bildirilmiştir (Zimmermann, 2007a). Bu sayı 521 cins, 149 familya ve 15 ordoyu kapsamaktadır (Zimmermann, 2007a). *B. bassiana* Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera, Homoptera, Diptera, Hemiptera, Orthoptera, Siphonaptera, Isoptera, Thysanoptera, Mantodea, Neuroptera, Dermaptera, Blattariae ve Embioptera takımlarında patojen olarak etki gösterir (Zimmermann, 2007a). *M. anisopliae*'nin konak aralığı *B. bassiana*'dan daha sınırlı olmasına

rağmen, bu türün de Symphyla, Orthoptera, Dermaptera, Isoptera, Homoptera, Heteroptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera, Siphonaptera, Lepidoptera, Malacostrata (Amphipoda), Acari, Ephemeroptera, Dermaptera, Heteroptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera ve Lepidoptera ordolarına ait böcekleri enfekte ettiği bildirilmiştir (Zimmermann, 2007b). Bu iki tür birçok böcek türünü enfekte etmelerine rağmen, izolatların alan uygulamalarında laboratuvar koşulları ile karşılaştırıldığında daha spesifik olabildikleri görülmektedir. Bu da patojene karşı duyarlılıktan daha çok diğer faktörlerin doğadaki hastalık oluşmasında önemli olduğunu göstermektedir. Bazı durumlarda, fungus sadece zayıflamış ve strese girmiş böcekleri öldürebilir (Goettel vd., 2005).

Pek çok Entomophthorales fungus konağa özgüdür ve hedef dışı organizmalar üzerinde bazı istisnalar hariç herhangi bir etki göstermez. Örneğin, *Entomophthora muscae* Lepidoptera takımına ait bireyleri enfekte ederken, *Zoophthora radicans*’ın Diptera, Coleoptera, Lepidoptera ve Homoptera takımlarına ait 80’in üzerinde konağı enfekte ettiği bildirilmiştir (Hajek, 1999; Goettel vd., 2005).

2.6. Entomopatojenik Fungusların Dağılımı ve Yayılımı

Bir patojenin enfektif yapılarının dağılması hastalığın gelişmesinde oldukça önemlidir. Hypocreales ordosuna ait entomopatojenik fungusların enfektif yapıları kadavradan pasif olarak dağılmaktadır. Bu pasif yayılım rüzgar ve yağmur gibi etkenlerle meydana gelmektedir (Meyling ve Eilenberg, 2007). Entomophthoralean fungusların sporları ise hidrostatik basınç altında aktif olarak salınmaktadır. Salınımdan sonra sporların yayılımı rüzgar veya yeni bir enfeksiyon ile devam etmektedir (Shah ve Pell, 2003). Toprak ortamında ise entomopatojenik fungusların aşırı bir şekilde çoğalması ve yayılımı sınırlıdır. Popülasyonun oluşumu, kadavradan yayılan enfektif sporlar, içerisinde ana kadavrada yer alan kaynakların dönüşümüne dayanmaktadır (Meyling ve Eilenberg, 2007). Bazı durumlarda, entomopatojenik funguslar canlı haldeki enfekte böcek ile bir başka konağa veya çevreye yayılımlarını gerçekleştirmektedirler. Örneğin, bazı Entomophthoralean fungusların sporları konak hala canlı iken salınmaktadır. *Entomophthora thripidum* ve *Strongwellsea catrans* ile enfekte sinekler ve bazı afid türleri uzun mesafede fungusları taşıyarak göç

edebilmektedir (Meyling ve Eilenberg, 2007; Shah ve Pell, 2003). Ayrıca, bazı eklem bacaklılar entomopatojenik türlerin yayılımını da görev yapabilmektedir (Dromph, 2003; Meyling vd., 2006). Bazın, *Cordyceps* spp. gibi entomopatojenik funguslar ve hatta onun anamorfları (örnek olarak *B. bassiana*) büyük bir stroma üretmektedir ve bu stroma bazen 30 cm'ye kadar ulaşabilmekte ve sonunda eşeyli ve eşeysiz sporları üretmektedir. Son olarak, dinlenme yapılarının (resting spores) oluşması pek çok fungusun yayılımı için ana faktör olmaktadır. Konağın sayısı azaldığı ve olumsuz çevre koşulları başladığı zaman, pek çok Entomophthoralean fungus uzun bir zaman toprakta sağ kalabilen mitozdan (azigospor) veya mayozdan (zigospor) oluşan dinlenme yapılarını (resting spores) üretmektedir (Goettel vd., 2005; Shah ve Pell, 2003). Bu da fungusun yayılımına katkı sağlayan faktörlerden birisi olarak görülmektedir.

2.7. Entomopatojenik Fungusların Mikrobiyal Mücadeledeki Avantaj ve Dezavantajları

Entomopatojenik fungusların mikrobiyal mücadelede bazı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. İnsektisid olarak fungusların kullanım avantajları, zararlıyla mücadele açısından bazı durumlarda yüksek konak seçiciliğine sahip olmaları (entomopatojenik funguslar zararlı olmayan parazit ve yararlı böcek popülasyonlarını etkilemeden zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılabilir), memeliler üzerine herhangi bir olumsuz etki göstermemeleri ve böylece çevre kirliliği gibi insektisid uygulamaları sonucu karşılaşılan zararların azaltılması, insektisid direnci gibi problemlerin olmaması ve böylece uzun süreli bir mücadele sağlamaları, biyoteknolojik araştırmalar ile geliştirilmeye uygun olmaları, uygulama sonrası çevrede uzun süre kalmaları ve böylece uzun süreli mücadelesinin sağlamaları şeklinde sıralanabilir (Wan, 2003). Öteyandan, fungusların insektisid olarak kullanımlarının bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Bunlar kimyasal insektisidler böcekleri sadece 2-3 saatte öldürürken, entomopatojenik fungusların daha uzun bir süre gerektirmesi (bazen 10-15 gün), uygulamaların yüksek nem, düşük zararlı sayısı ve fungusidlerin kullanılmadığı periyod da olması, bazen yüksek seçiciliğinden dolayı ilave mücadele etmenlerinin kullanılması, üretimlerinin nispeten pahalı olması ve sporların saklanması için soğuk ortamlar gerekmesi, zararlı popülasyonları üzerine entomopatojenik fungusların etkinliğinin ve devamlılığının farklı konaklarda farklılık göstermesi ve böylece

böceğe özgül uygulama tekniklerinin optimizasyonu içi uzun süreli çalışma ve araştırmaların gerekmesi, bağışıklık sistemi baskılanmış insanlara karşı bazen potansiyel risk oluşturmaları ve son olarak bazı fungusların hedef böceği öldürmek için çeşitli toksinleri salgılamaları ve bu toksinlerin diğer canlılar üzerindeki etkilerinin tam olarak bilinmemesi şeklinde sıralanabilir (Wan, 2003; Gardner ve McCoy, 1992).

2.8. Entomopatojenik Fungusların Mikrobiyal Mücadelede Kullanımı

Entomopatojenik funguslar, diğer doğal böcek düşmanları ile birlikte başlıca (1) klasik, (2) inokülatif salınım, (3) inundatif salınım ve (4) konzervatif olmak üzere dört geniş biyolojik mücadele stratejisinde kullanılabilirler (Eilenberg vd., 2001; Shah ve Pell, 2003).

Entomopatojenik fungusların klasik biyolojik mücadelede büyük bir kullanım potansiyeli mevcuttur. Fungusların klasik ve inokülatif biyolojik mücadele de kullanımları açısından pek çok tercih nedeni özellikleri vardır. Hızlı bir şekilde epizootiklere neden olabilir, dar konak aralığına sahiptir, çevrede ve böcek popülasyonlarında uzun süre varlıklarını sürdürebilirler (Goettel vd., 2005).

Klasik biyolojik mücadele uzun süreli bir mücadele sağlamak amacıyla, biyolojik mücadele etmeninin doğal olarak bulunmadığı bir yere (genellikle bu organizma konağa göre zaman içerisinde değişikliğe uğramıştır (co-evolved)) isteğe bağlı olarak salınması şeklinde tanımlanabilir (Eilenberg vd., 2001). Bu mücadele stratejisinde, ilgili zararlının mücadelesi zararlının mücadelesinin gerektiği alana doğal olmayan uygun bir biyolojik mücadele etmeninin bırakılmasına bağlıdır. Böylece, klasik biyolojik mücadele ekzotik bir organizmanın salınımını gerektirmektedir (Eilenberg vd., 2001). Klasik biyolojik mücadele programları genelde uzun süre sürdürülebilir ve ekonomik bir mücadele sağlamaktadır (Shah ve Pell, 2003). Entomopatojenik fungusların klasik biyolojik mücadele de kullanımlarına yönelik birçok örnek vermek mümkündür. Amerika’da *Entomophaga maimaiga*’nın *Lymantria dispar*’a ve *Zoophthora radicans*’ın *Therioaphis trifolii*’ye karşı uygulanması bu alanda en güzel örneklerdir (Hajek vd., 1990; Pell vd., 2001; Milner vd., 1982; Shah ve Pell, 2003).

İnokülatif biyolojik mücadele ise biyolojik mücadele etmeni olan canlı bir organizmanın, mücadele bölgesine salınarak uzun bir

süre zarfında çoğalması sonucu zararlı böceği kontrol altına almasıdır. Fakat bu mücadele kalıcı değildir. Bu uygulama stratejisinde salınan organizmanın sayısı önemli değildir. Aksine biyolojik mücadele etmeninin salınan alanda çoğalması önemlidir. Genellikle alana düşük sayıda mücadele etmeni salınır. Bu kısmen de olsa salınan organizmanın kabul edilemez masraflarından kaynaklanmaktadır. Böcek patojenleri inokülatif mücadele için kullanılabilir. Örneğin, *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch (*Deuteromycotina: Hyphomycetes*) mayıs böceğiyle (*Melolontha melolontha* L. (Coleoptera: Scarabaeidae)) mücadele etmek için İsviçre’de kullanılmıştır. Buradaki amaç, salınan fungusun zaman içerisinde çoğalarak uzun süreli bir mücadele elde edilmesiydi (Keller, 1997; Eilenberg vd., 2001). Bununla birlikte, *Entomophaga maimaiga* Amerika’da *Lymantria dispar* popülasyonlarında epizootik başlatmak amacı ile inokülatif olarak kullanılmıştır (Hajek ve Webb, 1999; Goettel vd., 2005).

Üçüncü biyolojik mücadele stratejisi olan inundatif biyolojik mücadele de ise mücadele yalnızca canlı organizmanın kullanılması ile sağlanmaktadır (Eilenberg vd., 2001). Bu uygulama stratejisinde, biyolojik mücadele etmeni kısa dönemli bir mücadele için genellikle büyük miktarlarda salınır ve ikinci bir enfeksiyon beklentisi yoktur (Shah ve Pell, 2003). Sıklıkla biyopestisit, biyolojik pestisit veya mikopestisit olarak bilinen terimler funguslar ile yapılan inundatif biyolojik mücadeleyi tanımlamak için kullanılmaktadır (Goettel vd., 2005). *Hyphomycetes* funguslar inundatif biyolojik mücadele açısından büyük bir öneme sahiptir. Çünkü kitle üretimleri ve formülasyonları nispeten kolaydır ve geleneksel sprey uygulamalarıyla kolaylıkla uygulanabilmektedirler. Pek çok ticari ürün farklı tarım alanlarında zararlılar ile mücadelede kullanılmaktadır. Bunların bazı örnekleri Tablo 3’de verilmiştir (Shah ve Pell, 2003; Strasser vd., 2000; Cross vd., 1999; Lacey ve Goettel, 1995; Montesinos, 2003; Scholte vd., 2004; Milner, 2000).

Entomopatojenik Fungusların Genel Biyolojileri ve Türkiye’de

Tablo 3. Ticari Olarak Geliştirilmiş, Geliştirilmeye Devam Edilen ve Potansiyel Olarak Dikkate Alınan Entomopatojenik Funguslar

<i>Fungus</i>	<i>Ürün</i>	<i>Zararlı</i>	<i>Ülke</i>
<i>Beauveria bassiana</i>	Conidia	Kahve kurdu	Almanya
<i>B. bassiana</i>	Mycotrol WP	beyaz sinekler, afidler, Kirpik kanatlılar	Amerika
<i>B. brongniartii</i>	Engerlingspilz	Mayıs böceği	İsviçre
<i>B. brongniartii</i>	Schweizer Beauveria	Mayıs böceği	İsviçre
<i>B. brongniartii</i>	Melocont- Pilzgerste	Mayıs böceği	Avusturya
<i>Metarhizium favoviride</i>	Green Muscle	Çekirgeler	İngiltere
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	PFR-97	Beyaz sinek	Amerika
<i>V. lecanii</i>	Vertalec	Afidler ve beyaz sinek	İngiltere
<i>V. lecanii</i>	Mycotal	Afidler ve beyaz sinek	İngiltere
<i>Entomophaga maimaiga</i>	-	Kır tırtılı (<i>L. dispar</i>)	-
<i>Hirsutella thompsonii</i>	-	Akarlar	-
<i>Lagenidium giganteum</i>	Laginex	Sivrisinekler	Amerika
<i>M. anisopliae</i>	BioBlast	Termitler	Amerika
<i>M. anisopliae</i>	Green Muscle	Çekirgeler	Güney Afrika

Konservatif biyolojik mücadele ise zararlı böceğin etkisini azaltmak için çevresel veya mevcut tarımsal uygulamalarda değişiklikler yaparak alanda bulunan doğal düşmanın veya diğer organizmaların korunmasıdır (Eilenberg vd., 2001). Bu stratejide etmen salınımı yoktur fakat tarım sistemleri ve uygulamaları doğal olarak mevcut olan düşmanı korumak veya sayısını arttırmak için modifiye edilir. Bu sayede zararlı böcek popülasyonunun zarar eşliğinin altında tutulması amaçlanmaktadır (Goettel vd., 2005). Bu uygulamada ilk örnek, *Neozygites fresenii*'nin Amerika'da bulunan pamuk tarlalarındaki uygulamasıdır. Çifçiler topladıkları afidlerin %15'inin bu fungusla enfekte olduğunu buldukları zaman mevcut patojeni korumak için herhangi bir insektisid uygulaması yapmadılar. Böylece, hem zamandan hem de paradan tasarruf ederek, çevresel kontaminasyonu azaltarak yararlı böcekleri de korumuş oldular (Shah ve Pell, 2003; Pell vd., 2001).

2.9. Entomopatojenik Fungusların Geliştirilmesi

Bilindiği gibi biyolojik mücadele etmenleri çevre ve insanlar üzerinde toksik etkiye sahip kimyasal insektisidlere karşı birer alternatif mücadele yöntemi olarak değerlendirilmektedir. Entomopatojenik funguslar, doğada böcek popülasyonlarının düzenlenmesinde anahtar bir role ve zararlı böceklerin mücadelesinde dikkat çekici bir öneme sahiptirler. Entomopatojenik funguslar viral ve bakteriyel patojeni olmayan özellikle Coleoptera takımına dahil birçok zararlı ve bitki özsuyu ve hayvan kanı ile beslenen zararlılar için vazgeçilmez mücadele etmenleri olmasına rağmen, mikoinsektisidler toplam insektisid pazarının çok az bir kısmını oluşturmaktadır (Fang vd., 2005). Biyopestisidlerde olduğu gibi mikoinsektisidlerin etkinliğini etkileyen pek çok faktör vardır. Bunlar yavaş öldürme hızı, orta düzeyde etkinlik, zayıf depolanabilirlik, uygulama sonrası alanda kalma süresinin az olması ve üretim maliyetleri en önemlileri olarak sayılabilir. Fakat, suş seçimi, genetik mühendisliği, fomülasyon ve uygulama teknikleriyle bu tür problemlerin üstesinden gelinebilir (Goettel vd., 2005).

2.9.1. Suş Seçimi

Entomopatojenik funguslar genellikle genetik olarak heterojen suşlardan oluşmaktadır. Bu suşlar zararlı böceklerle karşı virülans gibi önemli karakteristik özellikler bakımından farklılık göstermektedir.

Bu nedenle, zararlıya karşı en virulent suşun seçimi entomopatojenik fungusların etkinliğinin artırılmasında önemli bir rol oynayabilir. Bundan başka, çevresel koşullarda daha fazla devamlılık sağlayan diğer bazı önemli özellikler de suş seçiminde kullanılabilir. Fungal bir biyolojik mücadele etmeninin araştırılmasında yaygın olarak kullanılan ilk adım en iyi patojenik suşun seçimidir (Goettel vd., 2005). Son zamanlarda ise çeşitli biyoteknolojik teknikler kullanarak suş seçimi yapılmaktadır. Fakat bu teknikler direk genetik manipulasyonu içermemektedir. Örneğin, protoplast füzyonu *Beauveria bassiana*’nın biyolojik mücadele potansiyelini arttırmak için kullanılmıştır. Burada füzyon, *Leptinotarsa decemlineata*’dan izole edilen *B. bassiana* suşu ile insektisidal toksin üreten *B. sulfurescens* arasında yapılmıştır. Sonuç olarak, iki bileşik bakımından oksotrofik olan ve *L. decemlineata* ve *Ostrinia nubilalis*’e karşı yüksek seviyede virulent olan mutant *B. bassiana* meydana getirilmiştir (Couteaudier vd., 1996; Viaud vd., 1998). Moleküler analizler meydana gelen mutantın iki genotipin karşımı olduğunu göstermiştir. Suşların bazıları aşırı virulent olurken, bazıları ise ebeveynlerden daha hızlı öldürme yeteneğine sahiptir. Virülans yapılan pasajlardan sonra kalıcı olabilmektedir ve bu teknik ile entomopatojenik fungusların etkinliğinin arttırılabileceği öne sürülmüştür (Viaud vd., 1998).

2. 9. 2. Genetik Modifikasyon

Çeşitli entomopatojenik funguslar arasında, *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium anisopliae* son zamanlarda en fazla çalışılan fungus türleridir. Oysa bunların moleküler biyoloji ve genetik manüplasyonu hakkında çok az bilgi mevcuttur. İlave olarak, entomopatojenik fungusların suş ıslah potansiyeli bunların patojenitesinin biyokimyasal ve moleküler temelinin tam olarak anlaşılammış olması ve üremelerinde eşeyli safhanın olmayışından dolayı sınırlı kalmıştır. Mikoinsektisidlerin geliştirilmesinde ki en büyük engel uygulama sonrası zararlıların ölümü için uzun bir zaman gerektirmesidir. Bu amaçla, mikoinsektisidlerin virülansının arttırılması genetik modifikasyonlarla sağlanabilmektedir (Fang vd., 2005). Bu alandaki çalışmalar diğer mikroorganizmalara göre daha sınırlı olmasına rağmen, çalışma alanı oldukça ilginçtir. En ileri araştırmalar *B. bassiana* ve *M. anisopliae* ile yapılmıştır (Goettel vd., 2005).

Genetik modifikasyonla geliştirilebilecek özellikler şöyle sıralanabilir (Duperchy, 2003): (1) Konağın varlığını belirleyen reseptörlerin, penetrasyonu sağlayan enzimlerin, konak savunma mekanizmasını inaktive eden ürünlerin ve hastalık semptomu için gerekli toksinlerin modifikasyonu ile konağa karşı virülansın artırılması (öldürme hızı). (2) Konağa adhezyonu sağlayan genlerin, besinlerin kullanılmasından sorumlu genlerin, kütikulayı tanıyan spesifik tanıma faktörlerinin ve inhibitör bileşiklere karşı direnci sağlayan genlerin modifikasyonu. (3) Kütikulayı degrades eden enzimlerin artırılmasıyla inokülüm miktarının azaltılması. (4) Çevresel sınırlamalara karşı tolerans, özellikle sıcaklık ve kuruluğa karşı. (5) Çeşitli fungusidlere karşı dirençten sorumlu genlerin modifikasyonu.

2. 9. 3. Formülasyon ve Uygulama Stratejileri

Entomopatojenik funguslar hala kısa raf ömrü gibi bazı uygulama zorluklarına sahiptir. Fakat uygun formülasyonların geliştirilmesiyle bu zorlukların üstesinden gelinebilir. Uygun formülasyonun kullanılması uzun raf ömrü ve fungal yapıların devamlılığı açısından önemlidir. Formülasyon etmen ile uyumlu olmalı, onun performansını arttırmalı ve ideal olarak normal tarımsal uygulamalar ile birlikte yapılabilmelidir. İlave olarak, formülasyon güvenli, kullanımı kolay ve uygulama, depolama ve dağıtım sırasında etmenin canlılığını muhafaza etmelidir (Boland ve Kuykendall, 1998). Kitle üretimini takiben, granüler ve sprey (sulu ve yağlı) gibi farklı türlerde formülasyonlar kullanılabilir (Leland, 2001).

Entomopatojenik fungusların granüler formülasyonları tuzak gibi formüle edilmiş misellerin veya sporların uygulamasını içermektedir. Bu uygulamada, kuru misellerin alanda sporlaşması gerekmektedir ve bu nedenle kurak iklimlerde kullanılması pek pratik değildir (Leland, 2001).

Sprey şeklinde formülasyonlar ise granüler formülasyonlara göre daha yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Güneş radyasyonundan mikrobiyal pestisidleri korumak için sıvı formülasyonlar dört ana yaklaşım çerçevesinde kullanılmaktadır. (1) Yağ taşıyıcıları ile yağda çözünebilir güneş kremlerinin kullanılması. (2) Yağ-su karışımı emülsiyonların kullanılması. (3) Su taşıyıcıları ile engelleyicilerin veya askıda kalan emicilerin veya suda çözünenlerin

kullanılması. (4) Su taşıyıcıları ile kapsüller içerisinde kullanım (Leland, 2001). Son zamanlarda, LUBILOSA programı ile yağ temelli formülasyonlar başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Lomer vd., 2001).

3. YEREL POPÜLASYONLARIN ÇEŞİTLİLİĞİ VE MİKROBİYAL MÜCADELEDEKİ ÖNEMİ

Entomopatojenik funguslar bütün Dünya’da toprakta, böcek popülasyonlarında ve çeşitli bitkiler ile ilişkili halde bulunabilirler. Entomopatojenik fungusların en önemli rezervuarlarından birisi toprak çevresidir ve toprakta bulunan entomopatojenik funguslar pek çok karasal ekosistemin önemli ve geniş yayımlı üyelerinden bir tanesidir. *Beauveria* sp., *Metarhizium anisopliae*, *Isaria* sp. ve *Paecilomyces* sp. gibi pek çok entomopatojenik fungus türü yaşam döngülerinin önemli bir kısmını toprakta geçirmektedirler (Sevim vd., 2010; Keller ve Zimmerman, 1989; Jackson vd., 2000; Ali-Shtayeh vd., 2002; Bidochka vd., 1998; Chandler vd., 1997). Topraktaki entomopatojenik fungusların doğal varlığının araştırılmasında, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) ve *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) gibi fungal enfeksiyonlara hassas tuzak böcekler veya bazı spesifik funguslar için (*B. bassiana* ve *M. anisopliae* gibi) seçici besiyerler kullanılmaktadır (Meyling ve Eilenberg, 2007; Chase vd., 1986). Ayrıca, arazi çalışmalarında bulunan enfekte böceklerden veya araziden toplanıp laboratuara getirilen ve sonradan enfeksiyon görülen böceklerden de entomopatojenik funguslar izole edilebilir.

Bu tip izolasyon çalışmalarından elde edilen veriler hem yerel tür çeşitliliği hakkında bilgi vermekte hem de yerel izolatların elde edilmesini sağlamaktadır. Bu tip veriler o bölgede yayılış gösteren zararlı böcek popülasyonlarının kontrol altına alınmasında hem konzervatif biyolojik mücadelede hem de inundatif salınım mücadelesinde kullanılmak üzere faydalı bilgiler sağlamaktadır (Meyling ve Eilenberg, 2006). Şu an itibari ile, çevreye salınan fungal biyolojik mücadele etmenleri çevresel yeterlilik eksikliği nedeni ile sıklıkla toprakta tutarsızlık sergilemektedir (Jackson vd., 2000). Bunun haricinde, yerel izolatlar hedef böcek ile ekolojik uyumluluğa sahip olabilir ve egzotik (yabancı) izolatlarla karşılaştırıldığı zaman hedef dışı organizmalar üzerinde daha az riskte etkiye sahip olabilir (Gulsar Banu vd., 2004).

3.1. Türkiye’de Yerel Popülasyonların Belirlenmesine Yönelik Çalışmalar

Türkiye’de yerel popülasyonların belirlenmesine yönelik çalışmalar oldukça sınırlıdır ve olan çalışmaların bir çoğu ise bölgesel anlamda gerçekleştirilmiştir. Sevim vd. (2010) Doğu Karadeniz Bölgesin’de yaptıkları bir survey çalışmasında toplam 301 toprak örneği toplamışlar ve toplamda *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*, *Metarhizium* sp., *Beauveria bassiana*, *B. cf. bassiana*, *Isaria fumosorosea* ve *Eolachovaea* sp. türlerini içeren 62 adet entomopatojenik fungus izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada entomopatojenik fungusların fındık bahçelerinde yaygın olarak bulunabileceği ve fındık zararlılarına karşı kullanılabilirliği ileri sürülmüştür. Aynı çalışmada, izole edilen funguslardan *Eolachovaea* sp. KTU-36 *Melolontha melolontha* L. (Coleoptera: Scarabaeidae) üzerinde %86,6 ölüm oranına neden olmuştur. Yapılan başka bir çalışmada, bu bölgeden izole edilen *B. bassiana* ve *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatları arasındaki genetik çeşitlilik belirlenmiş ve *B. bassiana* izolatları arasında habitat ve coğrafik lokasyon açısından açık bir ilişki tespit edilmiştir (Sevim vd., 2012). Her iki çalışmada belirli entomopatojenik fungusların bu bölgede fındık zararlılarına karşı kullanılabilirliğini gösterilmiştir. Türkiye genelinde yapılan bir çalışmada, toplanan toprak örneklerinden toplam 5 adet *B. bassiana* izolatu elde edilmiştir (Hansoylu 2003). Ayrıca Koz ve Güven (2014) Kahramanmaraş’ın merkez köylerindeki buğday tarlalarındaki toprak örneklerinden toplam 62 adet *B. bassiana* izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Er (2013) Gaziantep, Adıyaman ve Kahramanmaraş antepfıstığı bahçelerindeki toprak örneklerinden *B. bassiana*, *B. brogniartii* ve *M. anisopliae* türlerini içeren toplam 162 entomopatojen izolatu elde edilmiştir. Yapılan bu çalışmalar, entomopatojenik fungusların ülkemizin çeşitli alanlarında yayılış göstermekte olduğunu ve çeşitli zararlılara karşı kullanılma potansiyelinin olduğunu göstermektedir.

3.2. Entomopatojenik Fungusların Türkiye’deki Zararlıların Mücadelesinde Kullanılma Potansiyelleri

Ticari olarak mikrobiyal mücadele etmenlerinin geliştirilmesinde ilk basamak etmenin izolasyonu, karakterizasyonu ve hedef böceğe karşı patojenitesinin belirlenmesidir. Bu amaç doğrultusunda ülkemizde yapılan birçok çalışma bulunmaktadır.

Sevim vd. (2010) çeşitli entomopatojenik fungusların *M. melolontha* L. (Coleoptera: Scarabaeidae)’ya karşı etkinliğini tepsi etmişlerdir ve *Eolachovaea* sp. KTU-36 izolatının laboratuvar koşulları altında %86,6 ölüm oranına sebep olduğunu belirlemişlerdir. Gökçe ve Er (2005) farklı kaynaklardan elde edilen *Paecilomyces* sp. izolatlarını sera beyazsineğine (*Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Aleyrodidae: Homoptera)) karşı test etmişlerdir ve izolatların çoğunun %70’in üzerinde ölüm oranına neden olduğunu tespit etmişlerdir. İskender vd. (2012) üç farklı *B. bassiana* izolatını *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae)’ya karşı test etmişlerdir ve izolatların %90’ın üzerinde ölüme neden olduklarını belirlemişlerdir. Kıvan (2007) 4 farklı *B. bassiana* ve 1 adet *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatının *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae)’e karşı patojenitesini belirlemişlerdir ve bir *B. bassiana* izolatı %82,5 ölüme neden olurken *M. anisopliae* var. *anisopliae* izolatı %100 ölüme neden olmuştur. İnanlı vd. (2012) *B. bassiana* ve *M. anisopliae* funguslarının birer adet ticari preparatlarını domates güvesi (*Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)) üzerinde test etmişlerdir ve *B. bassiana*’dan %66’ya varan ve *M. anisopliae*’den %100’e varan ölüm oranları elde etmişlerdir. Çam vd. (2002) *B. bassiana* fungusunu papates böceğine (*Leptinotarsa decemlineata* Say. (Coleoptera: Chrysomelidae)) karşı test etmişlerdir ve larvalar üzerine 6. gün sonunda %80’in üzerinde ölüm oranı elde etmişlerdir.

Bu çalışmaların dışında ülkemiz ormanların yayılış gösteren çeşitli zararlı böceklere karşıda entomopatojenik fungusların çeşitli izolatları denenmiş ve ümit verici sonuçlar elde edilmiştir. Bu zararlılardan, çam ormanlarında zararlı olan çam kese böceğine (*Thaumetopoea pityocampa* (Schiff.) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae)) karşı (Sevim vd., 2010; Er vd., 2007), ladin ormanlarında zararlı olan dev soymuk böceğine (*Dendroctonus micans* (Kugelann) (Coleoptera: Curculionidae)) karşı (Sevim vd., 2010; Tanyeli vd., 2010), çınar ağaçlarında zararlı olan çınar dantel böceğine (*Corythucha ciliata* (Say) (Hemiptera: Tingidae)) karşı (Sevim vd., 2013) ve kavak ağaçlarında zarar oluşturan kavak küçük tekeböceğine (*Saperda populnea* (L.) (Coleoptera: Cerambycidae)) karşı (Eken vd., 2006) entomopatojenik fungusların pek çok türü test edilmiş ve ileriki çalışmalar için ümit verici sonuçlar elde edilmiştir.

Laboratuarda gerçekleştirilen ve birçok fungus içerisinde virülansı en yüksek olanı seçmek amacıyla yapılan tarama testleri genel de ilk yapılması gereken bir işlemdir. Fakat bunun takibinde ticari preparat geliştirmek için ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir. Bunlardan bir tanesi en etkili fungusun alan uygulamasıdır. Buna yönelik olarak Erler vd. (2013) *M. brunneum* F52 izolatını armut psillidine (*Cacopsylla pyri* L. (Homoptera: Psyllidae)) karşı alan uygulaması ile test etmişleridir ve %88'e varan oranda ölüm elde etmişleridir.

4. TÜRKİYE'DE ZARARLI BÖCEKLER İLE MÜCADELEDE ENTOMOPATOJENİK FUNGUS KULLANIMININ GELECEĞİ

Bitki koruma programlarında kullanılmak üzere fungal biyolojik mücadele etmenlerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalar büyük önem kazanmaktadır. Entomopatojenik funguslar Amerika, Avrupa, Asya ve Avustralya olmak üzere pek çok kıtada üretilmekte, ticarileştirilmekte ve satılmaktadır. Bir dizi fungal biyopestisid üretilmesine rağmen, bu ürünler toplam insektisid marketinin küçük bir kısmını oluşturmaktadır (Bölüm 2.9).

Şimdiye kadar yapılan çalışmalardan da anlaşılabilceği gibi entomopatojenik fungusların ülkemizdeki hem tarım hem de orman zararlıları ile mücadelede büyük bir potansiyele sahip olduğu görülmektedir. Bunun dışında, çevresel faktörler entomopatojenik fungusların etkinliği üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Genelde, entomopatojenik funguslar çimlenme, büyüme ve enfektif yapıların yayılımı için yüksek nem, yağmura ve uygun sıcaklığa ihtiyaç duyarlar. Örnek olarak Hyphomycetes grubu funguslar için 20-25°C başarılı bir mücadele için gereklidir (Inglis vd., 2001). Bu açıdan bakıldığında, ülkemizin birçok bölgesi (özellikle ormanlık alanlar) entomopatojenik fungusların uygulanması için uygun iklim koşullarına sahip görülmektedir.

Ülkemiz tarım ve orman alanlarında etkili bir biyolojik mücadele etmeni bulmak ve bunu ticarileştirmek için bazı protokollerin takip edilmesi gerekmektedir. Öncelikle, yerel izolatların bulunması ve bunların karakterize edilmesi gerekmektedir. Bunu takiben, elde edilen izolatların öldürücü etkilerinin belirli koşullar altında ve alan uygulaması ile zararlı üzerinde denenmesi gerekmektedir. Ayrıca, bu etmenlerin belirli fizyolojik özelliklerinin ve

amaç dışı organizmalar üzerindeki etkilerinin belirlenmesi gerekmektedir. Bunu takiben, uygun kitle üretim tekniklerinin ve uygulama stratejilerinin seçilmesi gerekmektedir. Son olarak ticari olarak geliştirilen etmenlerin üreticilere ulaştırılması ve bu konuda bilgilendirilmesi bu etmenlerin etkili bir şekilde amaç böceklere karşı kullanımı açısından önem arz etmektedir.

5. KAYNAKLAR

- Ali-Shtayeh, M.S., Abdel-Basit, M., Jamous, R. 2002. Distribution, occurrence and characterization of entomopathogenic fungi in agricultural soil in the Palestinian area. *Mycopathologia*, 156, 235-244.
- Anonim, 2008. URL-3.http://www.gouli.110mb.com/my_work.html. Mycoses of Invertebrates.
- Bidochka, M.J., Kasperski, J.E., Wild, Gam. 1998. Occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in soils from temperate and near-northern habitats, *Canadian Journal of Botany*, 76, 1198-1204.
- Bischoof, J.F., Rehner, S.A., Humber, R.A. 2009. A Multilocus Phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* Lineage, *Mycologia*, 101, 512-530.
- Boland, G.J., Kuykendall, L.D. (1998). Plant-Microbe Interactions and Biological Control. In "Formulation microorganisms for Biological Control of Weeds." (S. Green, S.M. Steward-Wade, G.J. Boland, M.P. Teshler, S.H. Liu, eds), CRC press, s. 249- 287, New York.
- Çam, H., Gökçe, A., Yanar, Y., Kadioğlu, İ, 2002 "Entomopatojen fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. ' nin Patates Böceği, *Leptinotarsa decemlineata* Say., üzerindeki etkisi". Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kongresi, Atatürk Üniversitesi, 359-364, Erzurum.
- Castrillo, L.A., Roberts, D.W., Vandenberg, J.D. 2005. The fungal past, present, and future: Germination, ramification, and reproduction. *Journal of Invertebrate Pathology*, 89, 46-56.
- Chandler, D., Hay, D., Reid, A.P. 1997. Sampling and occurrence of entomopathogenic fungi and nematodes in UK soils. *Applied Soil Ecology*, 5, 133-141.
- Chase, A.R., Osborne, L.S., Ferguson, V.M. 1986. Selective isolation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* from artificial potting medium. *Florida entomologist*, 68, 2.
- Clarkson, J.M., Chamley, A.K. 1996. New insights into the mechanisms of fungal pathogenesis in insects. *Trends in microbiology*, 4, 5.

- Couteaudier, Y., Viaud, M., Riba, G. 1996. Genetic nature, stability, and improved virulence of hybrids from protoplast fusion in *Beauveria*. *Microbial Ecology*, 32, 1-10.
- Cross, J.V., Solomon, M.G., Chandler, D., Jarret P., Richardson, P.N., Winstanley, D., Balton, H., Huber, J., Keller, B., Langenruch, G.A., Zimmermann, G. 1999. Biocontrol of Pests of Apples and Pears in Northern and Central Europe: 1. Microbial Agents and Nematodes. *Biocontrol Science and Technology*, 9, 125-149.
- Demirbağ, Z. 2008. Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele, Esen Ofset Matbaacılık (s. 325), Trabzon.
- Driver, F., Milner, R.J., Trueman, J.W.H. 2000. A Taxonomic Revision of *Metarhizium* Based on a Phylogenetic Analysis of rDNA Sequence Data, *Mycological Research*, 104, 134-150.
- Dromph, K. 2003. Collembolans as vectors of entomopathogenic fungi. *Pedobiologia*, 47, 245-256.
- Duperchy, E. 2003. Identification of up-regulated genes of the hyphomycete, *Beauveria bassiana* during the infection of *Leptinotarsa decemlineata*, Yayınlanmamış Doktora Tezi, Roberto-Carola University of Heidelberg, Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Heidelberg, Germany.
- Eilenberg, J., Hajek, A., Lomer, C. 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Biocontrol*, 46, 387-400.
- Eken, C., Tozlu, G., Dane, E., Çoruh S., Demirci, E. 2006. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hypomycetes) to larvae of the small poplar longhorn beetle, *Saperda populnea* (Coleoptera: Cerambycidae). *Mycopathologia*, 162, 69-71.
- Er, M.K. 2013. Gaziantep, Adıyaman ve Kahramanmaraş Antepfıstığı bahçelerinde bulunan entomopatojen fungusların tespiti, *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 4, 2, 155-163.
- Er, M.K., Tunaz, H., Gokce, A. 2007. Pathogenicity of entomopathogenic fungi to *Thaumetopoea pityocampa* (Schiff.) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) larvae in laboratory conditions. *Journal of Pest Sciences*, 80, 235-9.
- Erlor, F., Pradier, T., Aciloglu, B. 2014. Field evaluation of an entomopathogenic fungus, *Metarhizium brunneum* strain F52, against pear psylla, *Cacopsylla pyri*. *Pest Management Science*, 70, 496-501.
- Fang, W., Leng, B., Xiao, Y., Jin, K., Ma, J., Fan, Y., Feng, J., Yang, X., Zhang, Y., Pei, Y. 2005. Cloning of *Beauveria bassiana* Chitinase Gene

- Bbchit1* and Its Application to Improve Fungal Strain Virulence. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 363-370.
- Ferron, P. 1978. Biological control of insects by entomogenous fungi. *Annual Review of Entomology*, 23, 409-42.
- Fuxa, J.R. 1987. Ecological considerations for the use of Entomopathogens in IPM. *Annual review of Entomology*, 32, 225-51.
- Gardner, W.A., McCoy, C.W. (1992). Insecticides and herbicides. In “Biotechnology of Filamentous Fungi: Technology and Products.” (D.B. Finkelstein, C. Ball, eds), s. 335-360, MA: Butterworth-Heinemann Ltd.
- Goettel, M.S., Eilenberg, J., Glare, T. (2005). Entomopathogenic fungi and their role in regulation of insect populations. In “Comprehensive Molecular Insect Science.” (L.I. Gilbert, K. Iatrou, S.S. Gill, eds), s. 361-405, Amsterdam: Elsevier.
- Gokce A, Er MK 2005. Pathogenicity of *Paecilomyces* spp. to the Glasshouse Whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, with some observations on the fungal infection process. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 29: 331-339.
- Gulsar Banu, J., Subahasan, K. ve Iyer, R. 2004. Occurrence and Distribution of Entomopathogenic Nematodes in White Grub Endemic Areas of Kerala, *Journal of Plant Crops*, 32, 333-334.
- Hajek, A.E. 1999. Pathology and Epizootiology of *Entomophaga maimaiga* Infections in Forest Lepidoptera. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63, 814-835.
- Hajek, A.E., Humber, R.A., Elkinton, J.S., May, B., Walsh, S.R.A., Silver, J.C. 1990. Allozyme and Restriction Fragment Length Polymorphism Analyses Confirm *Entomophaga maimaiga* Responsible for 1989 Epizootics in North American Gypsy Moth Populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87, 6979-6982.
- Hajek, A.E., Leger, R.J. St. 1994. Interactions between fungal pathogens and insects hosts. *Annual Review of Entomology*, 39, 293-322.
- Hajek, A.E., Webb, R.E. 1999. Inoculative augmentation of the fungal entomopathogen *Entomophaga maimaiga* as a homeowner tactic to control gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae). *Biological Control*, 14, 11-18.
- Hall, R. A., Papierok, B. 1982. Fungi as Biological Control Agents of Arthropods of Agricultural and Medical Importance, *Parasitology*, 84, 205-240.

- Hansoylu, R.B. 2003. Türkiye topraklarından elde edilen entomopatojen fungus *Beauveria bassiana* (Balls.) Vuill. suşlarının biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılması. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Humber, R. A. (1997). Entomopathogenic Fungal Identification. In: "Manual of Techniques in Insect Pathology." (L.A. Lacey, ed), San Diego, 153-185.
- Humber, R.A. 2008. Evaluation of Entomopathogenicity in Fungi. Journal of Invertebrata Pathology, 98, 262-266.
- İnanlı, C., Yoldaş, Z., Birgücü, A.K. 2012. Entomopatojen Funguslar *Beauveria bassiana* (Bals.) ve *Metarhizium anisopliae* (Metsch.)'nin *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)'nin Yumurta ve Larva Dönemlerine Etkisi, Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 49, 3, 239-242.
- Inglis, G.D., Goettel, M.S., Butt, T.M., Strasser, H. (2001). Use of Hyphomycetous fungi for managing insect pests. In "Fungi as Biocontrol agents." (T.M. Butt, C. Jackson, N. Magan (eds), s. 23-69, UK: CABI publishing.
- İskenser, N.A., Örtücü, S., Yaşar, A. 2012. Pathogenicity of three Isolates of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* to Control *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctidae) Larvae. Kırgızistan-Türkiye Manas Üniversitesi, Fen Bilimleri Dergisi, 13, 15-21.
- Jackson, T.A., Alves, S.B., Pereira, R.M. (2000). Success in biological control of soil-dwelling insects by pathogens and nematodes. In "Biological Control: Measures of success." G. Gurr, S. Wratten (eds), s. 271-296, Kluwer Academic Press, London.
- Keller, S., Schweizer, C., Keller, E., Brenner, H. 1997. Control of white grubs (*Melolontha melolontha* L.) by treating adults with the fungus *Beauveria brongniartii*. Biocontrol Science and Technology, 7, 105-116.
- Keller, S., Zimmerman, G. 1989. Mycopathogens of soil insects. In "Insect- Fungus Interactions." N. Wilding, N.M. Collins, P.M. Hammond, J.F. Webber (eds), s. 239-270, Academic Press, London.
- Kıvan, M. 2007. Pathogenicity of Entomopathogenic Fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Eurygaster integriceps* (Heteroptera: Scutelleridae). Entomologia Generalis, 30, 1, 63-69.
- Koz, C., Güven, Ö. 2014. Kahramanmaraş Merkez Köylerindeki Buğday Tarlalarından İzole Edilen Entomopatojen Funguslar, Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 5, 1, 39-51.

- Lacey, L.A., Goettel, M.S. 1995. Current Developments in Microbial Control of Insect Pests And Prospects for The Early 21st Century. *Entomophaga*, 40, 3-27.
- Leland, J.E. 2001. Environmental-Stress Tolerant Formulations of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* for Control of African Desert Locust (*Schistocerca gregaria*). Yayınlanmamış Doktora Tezi, Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia.
- Lomer, C.J., Bateman, R.P., Johnson, D.L., Langewald, J., Thomas, M. 2001. Biological control locusts and grasshoppers. *Annual Review of Entomology*, 46, 667-702.
- Meyling, N., V. 2008. PCR-Based Characterisation of Entomopathogenic Fungi for Ecological Studies, Vegqure, Copenhagen, 14 S.
- Meyling, N.V., Eilenberg, J. 2007. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control. *Biological Control* 43, 145-155.
- Meyling, N.V., Pell, J.K., Eilenberg, J. 2006. Dispersal of *Beauveria bassiana* by the activity of nettle insects. *Journal of Invertebrate Pathology*, 93, 121-126.
- Milner, R.J., 2000. Current status of *Metarhizium* as a mycoinsecticide in Australia. *Biocontrol News and Information*, 21, 47N-50N.
- Milner, R.J., Soper, R.S., Lutton, G.G., 1982. Field release of an Israeli strain of the fungus *Zoophthora radicans* (Brefeld) Batko for biological control of *Therioaphis trifolii* (Monell) f. *maculata*. *Journal of Australian Entomological Society* 21, 113-118.
- Montesinos, E. 2003. Development, registration and commercialization of microbial pesticides for plant protection. *International Microbiology*, 6, 245-252.
- Muro, M.A., Elliott, S., Moore, D., Parker, B.L., Skinner, M., Reid, W., Boussini, M.E. 2005. Molecular Characterization of *Beauveria bassiana* Isolates Obtained from Overwintering Sites of Sunn Pests (*Eurygaster* and *Aelia* species), *Mycological Research*, 109, 294-306.
- Pantou, M.P., Mavridou, A., Typas, M.A. 2003. IGS Sequence Variation, Group-I Introns and the Complete Nuclear Ribosomal DNA of the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium*: Excellent Tools for Isolate Detection and Phylogenetic Analysis, *Fungal Genetics and Biology*, 38, 159-174.

- Pell, J.K., Eilenberg, J., Hajek, A.E., Steinkraus, D.C., 2001. Biology, ecology and pest management of Entomophthorales. In "Fungi as Biocontrol Agents." T.M. Butt, C.W. Jackson, N. Magan (eds), s. 71-153, CAB International Press, Wallingford.
- Quesada-Moraga, E., Vey, A. 2003. Intra-specific Variation in Virulence and In Vitro Production of Macromolecular Toxins Active Against Locust Among *Beauveria bassiana* Strains and Effects of In Vivo and In Vitro Passage on These Factors. *Biocontrol Science and Technology*, 13, 323-340.
- Rath, A.C. 2000. The Use of Entomopathogenic Fungi for Control of Termites. *Biocontrol Science and Technology*, 10, 563- 581.
- Rehner, S., A., Buckley, E. 2005. A *Beauveria* Phylogeny Inferred from Nuclear ITS and EF1- α Sequences: Evidence for Cryptic Diversification and Links to Cordyceps Teleomorphs, *Mycologia*, 97, 84-98.
- Rehner, S.A., Posada, F., Buckley, E.P., Infante, F., Castillo, A., Vega, F.E. 2006. Phylogenetic Origins of African and Neotropical *Beauveria bassiana* s.l. Pathogens of the Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei*, *Journal of Invertebrate Pathology*, 93, 11-21.
- Roberts, D., W. 1989. Word Picture of Biological Control of Insects by Fungi, *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84, 89-100.
- Roy, H.E., Steinkraus, D.C., Eilenberg, J., Hajek, A.E., Pell, J.K. 2006. Bizarre Interactions and Endgames: Entomopathogenic Fungi and Their Arthropod Hosts. *Annual Review of Entomology* 51ü, 331-57.
- Scholte, E.J., Knol, B.G.J., Samson, R.A., Takken, W. 2004. Entomopathogenic fungi for mosquito control. *Journal of Insect Science*, 4, 19.
- Sevim, A., Demir, I., Höfte, M., Humber, R.A. ve Demirbağ, Z. 2010. Isolation and characterization of entomopathogenic fungi from hazelnut-growing region of Turkey, *Biocontrol*, 55, 279-97.
- Sevim, A., Demir, İ., Sönmez, E., Kocaçevik, S., Demirbağ, Z. 2013. Evaluation of entomopathogenic fungi against the sycamore lace bug, *Corythucha ciliata* (Say) (Hemiptera: Tingidae). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 37, 595-603.
- Sevim, A., Demir, I., Tanyeli, E., and Demirbag, Z., 2010. Screening of Entomopathogenic Fungi against the European Spruce Bark Beetle, *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae), *Biocontrol Science and Technology*, 20, 3-11.
- Sevim, A., Höfte, M., Demirbağ, Z. 2012. Genetic variability of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* isolates obtained

- from the Eastern Black Sea Region of Turkey, *Turkish Journal of Biology*, 36, 255-265.
- Shah, P.A. , Pell, J.K. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61, 413-423.
- Strasser, H., Vey, A., Butt, T.M. 2000. Are There any Risks in Using Entomopathogenic Fungi for Pest Control, with Particular Reference to the Bioactive Metabolites of *Metarhizium*, *Tolypocladium* and *Beauveria* species. *Biocontrol Science and Technology*, 10, 717- 735.
- Tanyeli, E., Sevim, A., Demirbag, Z., Eroglu, M., Demir, I. 2010. Isolation and virulence of entomopathogenic fungi against the great spruce bark beetle, *Dendroctonus micans* (Kugelann) (Coleoptera: Scolytidae). *Biocontrol Science and Technology*, 20, 695-701.
- Viaud, M., Couteaudier, Y., Riba, G. 1998. Molecular Analysis of Hypervirulent Somatic Hybrids of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria sulfurescens*, *Applied and Environmental Microbiology*, s. 88-93.
- Wan, H. 2003. Molecular biology of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*: Insect-cuticle degrading enzymes and Development of a new selection marker for fungal Transformation. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Combined Faculties for the Natural Sciences and for Mathematics of the Ruperto-Carola University of Heidelberg, Germany,.
- Zimmermann ,G. 2007a. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, 17, 553-596.
- Zimmermann, G. 2007b. Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology*, 17, 879-920.