

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



Penicillium mallochii'nin DNA BARKODLAMASI VE
SÜRDÜRÜLEBİLİR BİYOLOJİK MÜCADELEDE PARAZİTOİT
Venturia canescens ile ETKİLEŞİMLERİ

PINAR GÜNER

DOKTORA TEZİ

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Tülin AŞKUN (Tez Danışmanı)
Prof. Dr. Aylin ER (Eş Danışman)
Prof. Dr. Olga SAK
Prof. Dr. Semra İLHAN
Doç. Dr. Hatice YILDIRIM
Dr. Öğr. Üyesi Görkem Deniz SÖNMEZ

BALIKESİR, NİSAN - 2024

ETİK BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak tarafımda hazırlanan “*Penicillium mallochii*’nin DNA BARKODLAMASI VE SÜRDÜRÜLEBİLİR BİYOLOJİK MÜCADELEDE PARAZİTOİT *Venturia canescens* ile ETKİLEŞİMLERİ” başlıklı tezde;

- Tüm bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Kullanılan veriler ve sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tüm bilgi ve sonuçları bilimsel araştırma ve etik ilkelere uygun şekilde sunduğumu,
- Yararlandığım eserlere atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,

beyan eder, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ederim.

PINAR GÜNER

Bu doktora tezi “Sürdürülebilir Tarım (Yenilikçi ve İyi Tarım Uygulamaları dahil)” tematik alanında 100/2000 YÖK Doktora Burs Programı kapsamında gerçekleştirilmiştir. Bu tez çalışması TÜBİTAK 122O398 nolu 1001 projesi ve BAUN 2022/110 nolu BAP projesi ile desteklenmiştir.

ÖZET

***Penicillium mallochii*'nin DNA BARKODLAMASI VE SÜRDÜRÜLEBİLİR
BİYOLOJİK MÜCADELEDE PARAZİTOİT *Venturia canescens* ile
ETKİLEŞİMLERİ
DOKTORA TEZİ
PINAR GÜNER
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: PROF.DR. TÜLİN AŞKUN)
(EŞ DANIŞMAN: PROF.DR. AYLİN ER)
BALIKESİR, NİSAN - 2024**

Fungal biyolojik kontrol ajanlarının ve parazitoitlerin birlikte uygulanması zararlılarla mücadelede etkinliği arttırmaktadır. Bu çalışmada *Penicillium mallochii* ve parazitoit *Venturia canescens* arasındaki etkileşim ve bu iki farklı biyolojik kontrol ajanının *Ephestia kuehniella* üzerindeki kombine biyolojik kontrolü ile ilgili ilk bilgiler sunuldu. Etkileşim çalışmaları öncesinde depo zararlıları *E. kuehniella* ve *Cadra cautella* üzerine farklı dozlarda *P. mallochii* etanol ekstre ve konidial süspansiyon dozlarının uygulanması ile gelişim biyolojisi çalışmaları yapıldı. Bu çalışmalar sonucunda *P. mallochii*'nin insektisidal aktivitesinin varlığı ve yumurta verimini azaltıcı etkisi olduğu gözlemlendi. *P. mallochii*'nin mikotoksin üretmediği ve düşük dozlarda (0,708 mg/mL ve altındaki dozlarda) genotoksik ve sitotoksik etki göstermediği belirlendi. Bağışıklık parametrelerine bağlı yapılan antibakteriyal aktivite çalışmalarında *P. mallochii*'nin *E. kuehniella* hemolenfindeki antimikrobiyal peptit üretimini 24 saat ve 48 saatlik süreler sonunda tetiklediği belirlendi. Toplam hemosit sayısı çalışmalarında ise *E. kuehniella* larvalarının konidia ve ekstrelerinin giderek artan dozlarıyla başa çıkabilmek için önce yeni hemositlerini sentezleyerek immün savunmasını arttırdığı ancak, stres koşullarının devam etmesine bağlı olarak onarım mekanizmalarının da etkilenmesinden dolayı, bir süre sonra larval savunmanın zayıfladığı gözlemlendi. Etkileşim çalışmaları ile üç farklı etkileşim senaryosu altında (parazitlenme sonrası doz uygulaması, doz sonrası parazitlenme ve ergin parazitoitlere doz uygulaması) fungusun parazitoitin ergin öncesi gelişim süresine etkisi, parazitoitlerin hayatta kalma süresi, parazitoitin ekstre ve konidia uygulanmış ve uygulanmamış larvalara tercihi farklı uygulama zamanlarında (1., 4. ve 8. Gün) incelendi. Senaryolar arasından doz sonrası parazitlenme aşamasında; konidial süspansiyonda 10^5 konidia/mL ve ekstre uygulamalarında 0,1 veya 0,5 mg/mL konsantrasyonlarının *P. mallochii*'nin biyolojik mücadele çalışmalarında uygulanabilir etkili dozları olduğu belirlendi.

ANAHTAR KELİMELELER: Sürdürülebilir tarım, *Penicillium mallochii*, *Ephestia kuehniella*, *Cadra cautella*, *Venturia canescens*, entomopatojen fungus, biyolojik kontrol.

Bilim Kod / Kodları : 20313, 20315, 20324, 20325

Sayfa Sayısı : 143

ABSTRACT

DNA BARCODING OF *Penicillium mallochii* AND ITS INTERACTIONS WITH THE PARASITOID *Venturia canescens* IN SUSTAINABLE BIOLOGICAL CONTROL

PH.D THESIS

PINAR GÜNER

BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

BIOLOGY

(SUPERVISOR: PROF.DR. TÛLİN AŞKUN)

(CO-SUPERVISOR: PROF.DR. AYLİN ER)

BALIKESİR, APRIL - 2024

The combination of fungal biological control agents and parasitoids enhances the effectiveness in pest management. This study presents initial information on the interaction between *Penicillium mallochii* and the parasitoid *Venturia canescens*, as well as their combined biological control against *Ephestia kuehniella*. Initially, developmental biology studies were conducted by applying different doses of *P. mallochii* extract and conidial suspension on storage pests *E. kuehniella* and *Cadra cautella*, revealing the presence of fungal insecticidal activity and its egg-reducing effect. Additionally, it was determined that the fungus does not produce mycotoxins and does not exhibit genotoxic and cytotoxic effects at low doses (below 0.708 mg/mL). In immune parameter studies, it was found that *P. mallochii* triggers the production of antimicrobial peptides in *E. kuehniella* hemolymph after 24 and 48 hours. Total hemocyte count studies showed that larvae initially enhance their immune defense by synthesizing new hemocytes, but defense weakens over time. Interaction studies were conducted under three different scenarios (post-parasitization dose application, dose after parasitization, and dose application to adult parasitoids) to assess the effect of the fungus on the pre-adult development of the parasitoid, parasitoid survival time, and the preference of parasitoids for larvae treated with extract and conidia at different application times (1st, 4th and 8th day). Among the scenarios, it was determined that post-parasitization dose application was effective, particularly with conidial suspensions at 10^5 conidia/mL and extract applications at concentrations of 0,1 or 0,5 mg/mL, as viable and effective doses for *P. mallochii*'s biological control efforts.

KEYWORDS: Sustainable agriculture, *Penicillium mallochii*, *Ephestia kuehniella*, *Cadra cautella*, *Venturia canescens*, entomopathogenic fungus, biological control.

Science Code / Codes : 20313, 20315, 20324, 20325

Page Number : 143

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	vi
TABLO LİSTESİ	viii
KISALTMALAR LİSTESİ	x
ÖNSÖZ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1 Depo Zararlıları ile Biyolojik Mücadele	2
1.2 Biyolojik Mücadelede Parazitoitler	3
1.3 Biyolojik Mücadelede Entomopatojen Funguslar	5
1.3.1 Entomopatojenik Mantarların Patojenitesi ve Enfeksiyon Mekanizması	8
1.3.2 Fungal Metabolitlerin Üretimi	10
1.4 Biyolojik Mücadele ve <i>Penicillium</i> Türleri	11
1.5 Fungus Enfeksiyonuna Karşı Konak Savunma Mekanizması	13
1.6 Biyolojik Mücadelede Etkileşim Uygulamaları.....	15
2. MATERYAL VE YÖNTEMLER	19
2.1 Depo Zararlısı Böceklerin Üretilmesi	19
2.1.1 <i>C. cautella</i> ve <i>E. kuehniella</i> (Lepidoptera: Pyralidae)	19
2.2 Larva Parazitoiti Böceklerin Üretilmesi	20
2.2.1 <i>V. canescens</i> Gravenhorst (Hymenoptera: Ichneumonidae)	20
2.3 Fungus Kültürünün Hazırlanması	21
2.4 Klasik İdentifikasyon	21
2.4.1 Mikroskopik ve Makroskopik İnceleme	21
2.5 Moleküler İdentifikasyon	22
2.5.1 Genomik DNA (gDNA) İzolasyonu	22
2.5.1.1 PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Birleşenleri	22
2.5.1.2 PZR' de kullanılan Primerler ve Özellikleri.....	22
2.5.1.3 Agaroz Jel Elektroforezinde Kullanılan Tamponlar	23
2.5.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu	23
2.6 Etanol Ekstrelerinin Hazırlanması	24
2.7 Konidial Süspansiyonların Hazırlanması.....	25
2.8 <i>P. mallochii</i> Dozlarının Belirlenmesi ve Uygulanması	25
2.8.1 Ekstre Dozlarının Belirlenmesi ve Uygulanması	25
2.8.2 Konidial Süspansiyon Dozlarının Belirlenmesi ve Uygulanması	26
2.9 <i>P. mallochii</i> 'nin Depo Zararlısı Böceklerin Gelişim Biyolojisine Etkisi	26
2.9.1 Koza Örme Süresi	26
2.9.2 Puplaşma Süresi	27
2.9.3 Pupal Periyot	27

2.9.4 Ergin Öncesi Gelişim Süresi	27
2.9.5 Ergin Hayat Uzunluğu.....	27
2.9.6 Ağırlık	27
2.9.7 Toplam Yumurta Sayısı	27
2.10 Sitotoksisite Analizleri	28
2.11 Genotoksisite Analizleri.....	28
2.11.1 İn-vitro Komet testi.....	29
2.11.1.1 Doz-Cevap İlişkisi	29
2.11.1.2 Hücre Lizisi ve Elektroforez	30
2.11.1.3 Nicel ve Nitel Değerlendirme Metodu	30
2.12 Mikotoksin Analizleri	31
2.13 Toplam Hemosit Sayılarının Belirlenmesi.....	31
2.14 Hemolenfin Anti-bakteriyal Aktivitesinin Belirlenmesi.....	32
2.14.1 Mikroorganizmalar	32
2.14.2 Hemolenfin Toplanması	32
2.14.3 Disk Diffüzyon Testleri	33
2.15 Etkileşim Deneyleri.....	33
2.15.1 Etkileşim Senaryoları.....	34
2.15.1.1 Parazitlenme Sonrası Doz Uygulamasına (P/D) Bağlı Etkileşim	34
2.15.1.2 Doz Uygulamasından Sonra Parazitlemeye Bağlı Etkileşim (D/P Aşaması).....	35
2.15.1.3 Ergin Parazitotlere Doz Uygulanmasına Bağlı Etkileşim (Ergin Aşaması).....	36
2.15.2 <i>P. mallochii</i> ' nin <i>V. canescens</i> ' in Gelişim Biyolojisine Etkisi.....	37
2.15.2.1 Ergin Öncesi Gelişim Süresi	37
2.15.2.2 Hayat Uzunluğu.....	37
2.15.2.3 Boy Uzunluğu.....	37
2.15.2.4 Ağırlık	37
2.16 İstatistik	38
3. BULGULAR.....	39
3.1 <i>P. mallochii</i> 'nin Morfolojik Özelliklerinin İncelenmesi	39
3.2 Genomik DNA İzolasyonu ve Moleküler İdentifikasyonu (Barkodlama).....	42
3.3 Katı Besiyerinde Ekstre Üretimi	43
3.4 <i>P. mallochii</i> 'nin Patojenitesinin Belirlenmesi	43
3.5 Toksisite Testleri.....	44
3.6 <i>E. kuehniella</i> ve <i>C. cautella</i> 'da Gelişim Biyolojisi Çalışmaları	45
3.6.1 Koza Örme Süresi	45
3.6.2 Puplaşma Süresi	46
3.6.3 Pupal Periyot	47
3.6.4 Ergin Öncesi Gelişim Süresi	48
3.6.5 Ergin Hayat Uzunluğu.....	50
3.6.6 Ağırlık	51
3.6.7 Toplam Yumurta Sayısı	51
3.7 Sitotoksisite Analizleri.....	53
3.8 Genotoksisite Analizleri.....	53
3.8.1 Sitotoksisite – MTT Testi Sonucu	53
3.8.2 İn vitro Komet Testi Sonucu	54
3.9 Mikotoksin Analizleri	55
3.10 Toplam Hemosit Sayılarına Etkinin Değerlendirilmesi.....	55

3.10.1 Etanol Ekstre Uygulamasının Toplam Hemosit Sayılarına Etkileri	55
3.10.2 Konidial Süspansiyon Uygulamasının Toplam Hemosit Sayılarına Etkileri	57
3.11 Hemolenfin Anti-Bakteriyal Aktivite Sonuçları	59
3.12 Etkileşim Deneyleri.....	64
3.12.1 Parazitlenme Sonrası Doz Uygulamasına (P/D) Bağlı Etkileşim.....	64
3.12.1.1 Ergin Öncesi Gelişim Süresi (P/D Aşaması).....	66
3.12.1.2 Hayat Uzunluğu (P/D Aşaması)	69
3.12.1.3 Boy Uzunluğu (P/D Aşaması).....	71
3.12.1.4 Ağırlık (P/D Aşaması).....	73
3.12.2 Doz Uygulaması Sonrası Parazitlenmeye Bağlı Etkileşim (D/P Aşaması)	75
3.12.2.1 Ergin Öncesi Gelişim Süresi (D/P Aşaması).....	78
3.12.2.2 Hayat Uzunluğu (D/P Aşaması)	80
3.12.2.3 Boy Uzunluğu (D/P Aşaması).....	82
3.12.2.4 Ağırlık (D/P Aşaması).....	84
3.12.3 Ergin Parazitlere Doz Uygulanmasına Bağlı Etkileşim (Ergin Aşaması)	86
3.12.3.1 Ergin Öncesi Gelişim Süresi (Ergin Aşaması)	88
3.12.3.2 Hayat Uzunluğu (Ergin Aşaması)	89
3.12.3.3 Boy Uzunluğu (Ergin Aşaması)	90
3.12.3.4 Ağırlık (Ergin Aşaması)	91
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	92
5. KAYNAKLAR (APA)	108
EKLER	141
EK A: Mikotoksin analiz sonuçları	141
EK B: NCBI veri bankasına yüklenen ITS baz dizisi	142
EK C: Filogenetik ağacı oluştururken kullanılan DNA dizilerinin grafik görüntüsü.....	143

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1: EPF enfeksiyon mekanizmasının şematik gösterimi.	10
Şekil 1.2: Böcek bağışıklık sisteminin şematik gösterimi.	15
Şekil 2.1: <i>E. kuehniella</i> kültürleri a-b) Stok ve süksesif kültürler, c) Larva evresi, d) Pup evresi, e) Ergin evresi.....	19
Şekil 2.2: <i>C. cautella</i> kültürleri a-b) Stok ve süksesif kültürler, c) Larva evresi, d) Pup evresi, e) Ergin evresi.....	20
Şekil 2.3: <i>V. canescens</i> kültürleri a-b) Stok ve süksesif kültürler, c-d-e) Konaktan çıkan larva evreleri, f-g-h) Pup evresi aşamaları, ı-i) Ergin çıkış süreci, j-k) Ergin evresi.	21
Şekil 2.4: Etanol ekstresinin hazırlanması.	24
Şekil 2.5: Konidial süspansiyonların hazırlanması.	25
Şekil 2.6: Tek hücre DNA hasar tespiti.	30
Şekil 2.7: Neubauer hemositometresi ve sayım alanı.	32
Şekil 2.8: Etkileşim uygulamaları şematik gösterim.	34
Şekil 2.9: Parazitlenme sonrası doz uygulamasına bağlı etkileşim şematik gösterimi.	35
Şekil 2.10: Doz sonrası parazitlemeye bağlı etkileşimin şematik gösterimi.....	36
Şekil 2.11: Ergin bireylere doz uygulamasına bağlı etkileşim.....	37
Şekil 3.1: <i>P. mallochii</i> 'nin farklı besiyerlerindeki koloni morfolojilerinin üstten görünümü.....	40
Şekil 3.2: <i>P. mallochii</i> 'nin farklı besiyerlerindeki koloni morfolojilerinin alttan görünümü.....	41
Şekil 3.3: <i>P. mallochii</i> mikromorfolojik yapısı a-b) Penisilli ve konidiyofor yapısı, c) Konidia.	42
Şekil 3.4: NCBI veri tabanında nükleotid BLAST benzerlik sonucu.	42
Şekil 3.5: NCBI veri bankasındaki diğer funguslara ait ITS dizileri ile karşılaştırılma sonucunda oluşturulan Neighbor Joining (NJ) "Komşu Birleştirme Metodu" ağacı.....	43
Şekil 3.6: Enfeksiyon sonrası larvaların görünümü (a-b) <i>C. cautella</i> , (c-d) <i>E. kuehniella</i>	44
Şekil 3.7: Etanol ekstresinin L929 hücrelerine 24 saat uygulandığında doz-cevap ilişkisi negatif kontrole göre normalize edilen % hücre canlılığı.....	53
Şekil 3.8: Etanol ekstresinin CHO-K1 hücrelerine 24 saat uygulandığında doz-cevap ilişkisi negatif kontrole göre normalize edilen % hücre canlılığı.	54
Şekil 3.9: Negatif, pozitif kontroller ve ekstre uygulandıktan sonra CHO-K1 hücrelerinde oluşan DNA hasarı (Komet) floresans mikroskop görüntüsü (40X).....	55
Şekil 3.10: Etanol ekstre dozlarının farklı zaman dönemlerinde <i>E. kuehniella</i> larvalarının toplam hemosit sayılarına etkisi.	57
Şekil 3.11: Konidial süspansiyon dozlarının farklı zaman dönemlerinde <i>E.kuehniella</i> larvalarının toplam hemosit sayılarına etkisi.....	58
Şekil 3.12: Kontrol gruplarının disk difüzyon testi sonuçları.	60
Şekil 3.13: Etanol ekstrelerinin disk difüzyon testi sonuçları.....	61
Şekil 3.14: Konidial süspansiyonların disk difüzyon testi sonuçları.	61
Şekil 3.15: Ekstre uygulaması sonucu indüklenen hemolenfin disk difüzyon testi sonuçları.....	62
Şekil 3.16: Konidial süspansiyon uygulaması sonucu indüklenen hemolenfin disk difüzyon testi sonuçları.....	63

Şekil 3.17: Doz ve zamana bağlı olarak parazitoit çıkış sayıları (P/D aşaması-ekstre).....	66
Şekil 3.18: Doz ve zaman bağlı olarak parazitoit çıkış sayıları (P/D aşaması-konidia).	66
Şekil 3.19: Doz ve zamana bağlı olarak parazitoit çıkış sayıları (D/P aşaması-ekstre).....	77
Şekil 3.20: Doz ve zamana bağlı olarak parazitoit çıkış sayıları (D/P aşaması-konidia). ..	77
Şekil 3.21: Ergin bireylere doz uygulanmasına bağlı parazitoit çıkış sayısı (ekstre).	87
Şekil 3.22: Ergin bireylere doz uygulanmasına bağlı parazitoit çıkış sayısı (konidia).....	87

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1: PZR’de kullanılan birleşenler ve konsantrasyonları.	22
Tablo 2.2: Kullanılan primerler in nükleotid dizileri ve çalışma sıcaklıkları.....	22
Tablo 2.3: (0,5)xTBE (Tris-Borate) tampon.....	23
Tablo 2.4: PZR amplifikasyonlarında kullanılan program.	23
Tablo 3.1: <i>E. kuehniella</i> ’da <i>P. mallochii</i> uygulamasına bağlı LD değerleri.	44
Tablo 3.2: <i>C. cautella</i> ’da <i>P. mallochii</i> uygulamasına bağlı LD değerleri.....	45
Tablo 3.3: <i>P. mallochii</i> ’nin <i>E. kuehniella</i> ve <i>C. cautella</i> ’nın koza örme süresine etkisi. ..	46
Tablo 3.4: <i>P. mallochii</i> ’nin <i>E. kuehniella</i> ve <i>C. cautella</i> ’nın puplaşma süresine etkisi.	47
Tablo 3.5: <i>P. mallochii</i> ’nin <i>E. kuehniella</i> ve <i>C. cautella</i> ’nın pupal periyoduna etkisi.	48
Tablo 3.6: <i>P. mallochii</i> ’nin <i>E. kuehniella</i> ve <i>C. cautella</i> ’nın ergin öncesi gelişim süresine etkisi.....	49
Tablo 3.7: <i>P. mallochii</i> ’nin <i>E. kuehniella</i> ve <i>C. cautella</i> ’nın ergin hayat uzunluğuna etkisi.	50
Tablo 3.8: <i>P. mallochii</i> ’nin <i>E. kuehniella</i> ve <i>C. cautella</i> ’nın ergin ağırlığına etkisi.....	51
Tablo 3.9: <i>P. mallochii</i> ’nin <i>E. kuehniella</i> ve <i>C. cautella</i> ’nın toplam yumurta sayısına etkisi.....	52
Tablo 3.10: Etanol ekstresinin ve kontrollerin “Kuyruk %DNA” sonuçları, kromozomal DNA varlığı ve komet oluşumu.	54
Tablo 3.11: Etanol ekstresinin toplam hemosit sayısına ($\times 10^6$ hücre/mL) etkisi.	56
Tablo 3.12: Farklı deney grupları (ekstre), zaman ve etkileşimlerinin <i>E. kuehniella</i> larvasının toplam hemosit sayılarına etkilerini gösteren ANOVA tablosu.	56
Tablo 3.13: Konidial süspansiyonun toplam hemosit sayısına ($\times 10^6$ hücre/mL) etkisi.	58
Tablo 3.14: Farklı deney grupları (konidia), zaman ve etkileşimlerinin <i>E. kuehniella</i> larvasının toplam hemosit sayılarına etkilerini gösteren ANOVA tablosu.	58
Tablo 3.15: Toplanan hemolenf miktarları.	59
Tablo 3.16: Kontrol gruplarının anti-bakteriyel aktivitesinin belirlenmesi.....	60
Tablo 3.17: Ekstre dozlarının anti-bakteriyel aktivitesinin belirlenmesi.....	60
Tablo 3.18: Konidial süspansiyon dozlarının anti-bakteriyel aktivitesinin belirlenmesi. ..	61
Tablo 3.19: Ekstre uygulaması sonucu indüklenen hemolenfin anti-bakteriyel aktivitesinin belirlenmesi.	62
Tablo 3.20: Konidial süspansiyon uygulaması sonucu indüklenen hemolenfin anti-bakteriyel aktivitesinin belirlenmesi.	63
Tablo 3.21: <i>V. canescens</i> ’nin yumurta evresine (parazitlenmeden 1 gün sonra) <i>P. mallochii</i> uygulanmasına bağlı LD değerleri.....	64
Tablo 3.22: <i>V. canescens</i> ’nin 1. larva evresine (parazitlenmeden 4 gün sonra) <i>P. mallochii</i> uygulanmasına bağlı LD değerleri.	65
Tablo 3.23: <i>V. canescens</i> ’nin 3. larva evresine (parazitlenmeden 8 gün sonra) <i>P. mallochii</i> uygulanmasına bağlı LD değerleri.	65
Tablo 3.24: <i>V. canescens</i> ’te <i>P. mallochii</i> ’nin ergin öncesi gelişim süresine etkisi (P/D)..	68
Tablo 3.25: Farklı deney grupları (kontrol ve doz uygulanmış), zaman ve etkileşimlerinin <i>V. canescens</i> ’in ergin öncesi gelişim süresine etkilerini gösteren ANOVA tablosu (P/D).	68
Tablo 3.26: <i>P. mallochii</i> ’nin <i>V. canescens</i> ’in hayat uzunluğu süresine etkisi (P/D).....	70

Tablo 3.27: Farklı deney grupları (kontrol ve ekstre dozu uygulanmış), zaman ve etkileşimlerinin <i>V. canescens</i> 'in ergin hayat uzunluğuna etkilerini gösteren ANOVA tablosu (P/D).	70
Tablo 3.28: <i>P. mallochii</i> 'nin <i>V. canescens</i> 'in boy uzunluğuna etkisi (P/D).....	72
Tablo 3.29: Farklı deney grupları (kontrol ve ekstre dozu uygulanmış), zaman ve etkileşimlerinin <i>V. canescens</i> 'in boy uzunluğuna etkilerini gösteren ANOVA tablosu (P/D).	72
Tablo 3.30: <i>P. mallochii</i> 'nin <i>V. canescens</i> 'in ağırlığına etkisi (P/D).....	74
Tablo 3.31: Farklı deney grupları (kontrol ve ekstre dozu uygulanmış), zaman ve etkileşimlerinin <i>V. canescens</i> 'in ağırlığına etkilerini gösteren ANOVA tablosu (P/D).	74
Tablo 3.32: <i>V. canescens</i> 'de doz uygulamasından 1 gün sonra parazitlemeye bağlı LD değerleri.....	75
Tablo 3.33: <i>V. canescens</i> 'de doz uygulamasından 4 gün sonra parazitlemeye bağlı LD değerleri.....	76
Tablo 3.34: <i>V. canescens</i> 'de doz uygulamasından 8 gün sonra parazitlemeye bağlı LD değerleri.....	76
Tablo 3.35: <i>P. mallochii</i> 'nin <i>V. canescens</i> 'in ergin öncesi gelişim süresine etkisi (D/P)..	79
Tablo 3.36: Farklı deney grupları (kontrol ve doz uygulanmış), zaman ve etkileşimlerinin <i>V. canescens</i> ergin öncesi gelişim süresine etkilerini gösteren ANOVA tablosu (D/P).	79
Tablo 3.37: <i>P. mallochii</i> 'nin <i>V. canescens</i> 'in ergin hayat uzunluğuna etkisi (D/P).....	81
Tablo 3.38: Farklı deney grupları (kontrol ve doz uygulanmış), zaman ve etkileşimlerinin <i>V. canescens</i> ergin hayat uzunluğuna etkilerini gösteren ANOVA tablosu (D/P).	81
Tablo 3.39: <i>P. mallochii</i> 'nin <i>V. canescens</i> 'in ergin boy uzunluğuna etkisi (D/P).	83
Tablo 3.40: Farklı deney grupları (kontrol ve doz uygulanmış), zaman ve etkileşimlerinin <i>V. canescens</i> ergin boy uzunluğuna etkilerini gösteren ANOVA tablosu (D/P).....	83
Tablo 3.41: <i>P. mallochii</i> 'nin <i>V. canescens</i> 'in ağırlığına etkisi (D/P).....	85
Tablo 3.42: Farklı deney grupları (kontrol ve doz uygulanmış), zaman ve etkileşimlerinin <i>V. canescens</i> ergin ağırlığına etkilerini gösteren ANOVA tablosu (D/P).....	85
Tablo 3.43: <i>V. canescens</i> 'nin ergin bireylerine <i>P. mallochii</i> uygulanmasına bağlı LD değerleri.....	86
Tablo 3.44: <i>P. mallochii</i> 'nin <i>V. canescens</i> 'in ergin öncesi gelişim süresine etkisi (Ergin aşaması).....	88
Tablo 3.45: <i>P. mallochii</i> 'nin <i>V. canescens</i> 'in ergin hayat uzunluğuna etkisi (Ergin aşaması).....	89
Tablo 3.46: <i>P. mallochii</i> 'nin <i>V. canescens</i> 'in ergin boy uzunluğuna etkisi (Ergin aşaması).....	90
Tablo 3.47: <i>P. mallochii</i> 'nin <i>V. canescens</i> 'in ergin ağırlığına etkisi (Ergin aşaması).	91

KISALTMALAR LİSTESİ

AMP	: Antimikrobiyal Peptidler
CAT	: Katalaz
CDA	: Czapek-Dox Agar
CHO-K1	: Hemstır Yumurtaılık Hücre Hattı
DMEM	: Dulbeco's Minimum Essential Medium
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
EMS	: Ethyl methansulfonate
EPF	: Entomopatojen Fungus
FBS	: Fetal Bovin Serum
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GST	: Glutasyon-S-transferaz
IGP	: Birlik içi avcılık (Intraguild predation)
IPM	: Entegre Zararlı Yönetimi
L929	: Fare Fibroblast Hücre Hattı
MEA	: Malt Extract Agar
MHA	: Mueller Hinton Agar
MTT	: (3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi
PDA	: Potato Dextrose Agar
PO	: Profenoloksidaz
PPO	: Polifenol oksidaz
SDA	: Sabouraud Dextrose Agar
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SXT	: Sulfametaxozole trimethoprim
TE	: Tetracycline
YEA	: Yeast Extract Agar

ÖNSÖZ

Tez çalışmam süresince destek veren 100/2000 YÖK Doktora Bursları Sürdürülebilir Tarım (Yenilikçi ve iyi Tarım Uygulamaları dahil) Programına, BİDEB 2211/A Genel Yurtiçi Doktora Burs Programı ve 2250 Lisansüstü Bursları Performans Programına teşekkür ederim.

Yüksek lisans, doktora eğitimimin her aşamasında bana yol gösteren ve hayatımın her anında yanımda olan, ilgisini, bilgisini ve sevgisini esirgemeyen, mesleki ve hayat tecrübesiyle bana ışık tutan değerli danışman hocam Prof. Dr. Tülin AŞKUN'a

Tez çalışmam boyunca desteğini hep hissettiğim, doktora eğitimimin her aşamasında sonsuz bilgisiyle ve sevgisiyle hep yanımda olan, mesleki yönden kendisini örnek aldığım değerli eş danışman hocam Prof. Dr. Aylin ER'e

Tez izleme komisyonunda bulunan ve sunumlarıma özveriyle katılarak değerli fikirleriyle ve destekleriyle tezime katkıda bulunan Balıkesir Üniversitesi Fen -Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi değerli hocam Prof. Dr. Olga SAK'a

Tez izleme komisyonunda bulunan ve sunumlarıma özveriyle katılarak değerli fikirleriyle ve moleküler analiz çalışmalarında verdiği destekleriyle tezime katkıda bulunan Adıyaman Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü öğretim üyesi değerli hocam Dr. Öğretim Üyesi Görkem Deniz SÖNMEZ' e teşekkürlerimi sunarım.

Tezim boyunca ve hayatımın her anında her zaman yanımda olan, acı tatlı birçok olay yaşadığımız, beraber ağlayıp beraber kahkahalara boğulduğumuz, laboratuvar çalışmaları sürecinde birlikte çalıştığımız ve istatistiksel çalışmalarıma verdiği destekleri için canım arkadaşım Erinç ÇELİK BİÇER'e

Desteklerini ve sevgilerini her zaman hissettiğim, benden bir an bile şüphe etmeyen canım kardeşlerim Pelin DOĞRUL ve Vasfi Can ÇELİKBOYUN'a

Şimdi yanımda olmasa da uzaklardan bile çok gurur duyduğunu hissettiğim, canım babam Özdemir ÇELİKBOYUN'a,

Hayatım boyunca beni her zaman destekleyen, sevgisini, güvenini daima hissettiğim, eğitimimi tamamlayabilmem için her türlü fedakarlığı yapan, her zaman yanımda olan canım annem Tülin ÇELİKBOYUN'a

Doktora sürecinde bana destek olmaktan hiç vazgeçmeyen, her anımda yanımda olan, elimi sımsıkı tutan, birlikte tüm zorlukları yendiğimiz, canım eşim Sinan GÜNER'e teşekkür ederim.

Ve küçük adamım Sina Çınar GÜNER, her zaman bana mutluluk verdiğin, yüzümü güldürdüğün, ailemize katıldığın ve doktora sürecinde yanımda olduğun için çok teşekkür ederim.

Balıkesir, 2024

PINAR GÜNER

1. GİRİŞ

Dünya nüfusundaki hızlı artış, tarımsal üretimin daha da arttırılması gerektiğini ve nüfus artışına göre planlanan tarımsal verim stratejilerinin yeterli olmayacağını göstermektedir. Birleşmiş Milletler dünya nüfusunun 2050 yılında 9,15 milyara yaklaşacağını tahmin etmektedir. Bu durum önümüzdeki 30 yılda gıda ürünlerinin hızla tükeneceğini göstermektedir (Grafton vd., 2015). Artan tarım faaliyetleri, biyoçeşitliliğin zarar görmesine, iklim değişikliğine, toprak verimliliğinde düşüşe, enerji, su ve toprak kaynaklarının sürdürülemez kullanımına, sentetik gübre kullanımının artışına, toprak erozyonuna ve çevre kirliliğine neden olmaktadır (Bajzelj vd., 2014; Canter, 2018; Lacetera, 2018).

Tahıllar besin değeri yüksek ve kolay yetiştirilebildiği için dünyada ve ülkemizde temel besin kaynağı olarak tüketilmektedir. Buğday (yıllık 20 milyon beş yüz bin ton) ve arpa (yıllık 8 milyon üç yüz bin ton) ülkemizde en çok üretilen ve tüketilen tahıllardandır (TUİK, 2020). Türkiye ve Dünya’ da tarım ürünleri arasında ilk sıralarda yer alan tahıllar (Dörtok ve Aksoy, 2018; Teke, 2019), uzun süre kalitesi bozulmadan depolanmak zorundadır (Kumar ve Kalita, 2017). Depolanmış tahıllarla beslenen böcekler, yılda 420 milyon tona varan kayıplara neden olmaktadır (Nikolaou vd., 2021) ve meydana gelen kayıp ortalaması dünya geneli için %25–30 olarak belirtilmektedir (Uygun, 2013; Kırpık vd.,2019). Tahılları ve gıda ürünlerini istila eden iki eklem bacaklı sınıfı araknidler (Arachnid) ve böcekler (Insect) olarak adlandırılmaktadır (Nikolaou vd., 2021). Böcekler arasında kın kanatlılar (Coleoptera), güveler ve kelebekler (Lepidoptera) takımlarına ait türler önemli zararlıları kapsamaktadır. Bu gruplarda yer alan *Sitophilus* spp., *Tribolium* spp., *Plodia interpunctella* (Hübner), *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) ve *Oryzaephilus surinamensis* (L), *Stegobium paniceum* (L) ve *Tenebrioides mauritanicus* (L) depolanmış tahılların bazı önemli zararlılarıdır (Emekçi ve Ferizli, 2000). Lepidoptera sınıfına ait zararlıların istilası nedeniyle tahılların ağırlığında ve kalitesinde düşüş gözlenmektedir. Bu zararlılar ürünlerin yağ asidi yüzdesini artırdığı için ve saldıkları ürik asit nedeniyle tahılın acılaşmasına neden olurken aynı zamanda dışkıları yoluyla tahıl kirliliğine neden olurlar (Chirault vd., 2015; Nikolaou vd., 2021).

Un güvesi *E. kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), un, irmik, kepek ve buğdayla beslenerek ve salgıladıkları ağlar ile fabrikalardaki makinaların işleyişinde doğrudan ve dolaylı olarak zarara neden olan önemli bir depo zararlısıdır. (Rees, 2007). *C. cautella* Walker (Lepidoptera: Pyralidae), polifag bir depo zararlısıdır. Özellikle kurutulmuş incir,

kestane, kuru kayısı, ceviz, antepfıstığı, badem ve susam gibi ürünlerde zarara neden olmaktadır. Beslenme ve ağ üretimlerine bağlı olarak tahıl tanelerinde kümeleşmeye veya bulaşmalara neden olmaktadır (Tunca, 2005). İki depo zararlısı böcek türünün laboratuvarında kültüre alınabildiği, yetiştirilmenin ekonomik ve pratik olduğu, buna ek olarak predatör ve parazitoit üretiminde kullanıldığı bilinmektedir (Mamay ve Mutlu, 2019).

1.1 Depo Zararlıları ile Biyolojik Mücadele

Sağlıklı, dengeli ve yeterli beslenme için özellikle depo ürünlerinde zararlı böceklerin oluşturduğu ürün ve kalite kaybının azaltılması gerekmektedir (Güneş ve Turmuş, 2020). Ülkemiz, çeşitli ürünlerin özellikle tahılların ve kurutulmuş meyvelerin üretiminde ve ihracatında dünyada önemli bir yere sahiptir. Hasattan önce ve sonra depo zararlılarının oluşturduğu nicel ve nitel etkiler artan tüketici bilinci ile kabul edilmez bir hal almıştır (Boxall, 2001).

Tarım ürünlerinin üretimi ve depolanması sırasında kullanılan pestisit kalıntılarının izin verilebilir maksimum miktarları aştığı, bununla birlikte insan sağlığını tehdit ettiği, doğal düşmanlarının popülasyonlarını/etkinliğini azalttığı bilinmektedir. Ayrıca ihraç edilen birçok ürünün kalıntı miktarının yüksek olması sebebiyle geri dönmesi de milli ekonomiyi olumsuz etkilemektedir (Chauzat vd., 2002). Bu nedenle depo zararlılarının etkin kontrolünde, zararlı yoğunluğu izlenerek doğru ve etkili mücadele yöntemine karar verilmelidir. Kullanılan sentetik kimyasal pestisitlerin memeliler için risk oluşturması, doğal dengenin bozulması, zararlı böcek popülasyonlarında kimyasala direnç oluşması ve ürünlerdeki kimyasal kalıntıların artması araştırmacıları depo zararlılarına karşı mücadelede yeni ve doğal ürünler araştırmaya yöneltmiştir (Aslam vd., 2002; Salem vd., 2007; Mahdian ve Rahman, 2008; Çelik Biçer vd., 2023).

Biyolojik mücadele, içerisinde kimyasallara karşı güvenli alternatiflerin yer aldığı sürdürülebilir tarım tekniklerine uygun, çevreye, insan ve hayvan sağlığına duyarlı bir mücadele yöntemidir (Chen vd., 2018; Guru-Pirasanna-Pandi vd., 2018). Biyolojik mücadele çalışmalarında son yıllarda insektisidal ve herbisidal başta olmak üzere çeşitli biyolojik aktiviteleri bulunan tıbbi bitkilere olan ilgi artmıştır (Ito vd., 2018; Trivedi vd., 2018; Khan vd., 2019). Bitkiler dışında doğada zararlıları doğal olarak kontrol altında tutan birçok faktör bulunmaktadır. Bunlar arasında memeliler, kuşlar, nematodlar, virüsler, funguslar, böcekler, akarlar, balıklar, salyangozlar, bakteriler, sümüklü böcekler ve protozoalar vb. canlı grupları bulunmaktadır. Biyolojik mücadelede başka bir sınıflama ile

bu canlılar; parazitoitler, parazitler, predatörler, entomopatojenler ve antogonistler adı altında gruplandırılırlar (Uygun vd., 2016).

Depolarda biyolojik mücadele çalışmalarında, zararlı kontrolünde makro-biyolojik kontrol ajanlarının (predatörler ve parazitoitler gibi) kullanımına ilişkin araştırmalar, zararlıların kontrol altına alınması için gereken sürenin uzun olması nedeniyle sınırlıdır. Ayrıca bu çalışmalar önemli sayıda faydalı böceğin zamanlaması ve salınımı konusunda hassasiyet gerektirmektedir (Flinn ve Scholler 2012; Rumbos ve Athanassiou, 2017). *Venturia canescens* Gravenhorst (Hymenoptera: Ichneumonidae), *Lariophagus distinguendus* Forster (Hymenoptera: Pteromalidae) ve *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) depo zararlılarının doğal düşmanları olarak bilinmektedir (Rumbos ve Athanassiou, 2017; Güner vd., 2023a). Bu kontrol ajanları hasat sonrası depolanan mahsullerin korunmasında etkin bir şekilde kullanılmaktadır (Whiting, 2005). Tarihsel olarak, depolanan ürün zararlılarına karşı böcek patojenlerinin kullanımı, bakteriyel patojen *Bacillus thuringiensis*'in Akdeniz un güvesi *E. kuehniella* izolasyonu ve tanımlanmasıyla başlamıştır (Rumbos ve Athanassiou, 2017).

Entomopatojenik mantarlar (EPF) ise, böcekleri ve diğer eklembacaklıları enfekte etme ve öldürme konusunda etkili mikroorganizmaların olduğu grupları içerir. Oluşan böcek enfeksiyonlarının %60'ından fazlasının EPF kaynaklı olmasından dolayı EPFler zararlı kontrolü için en güçlü doğal seçeneklerden biridir (Zaim ve Guillet, 2002).

1.2 Biyolojik Mücadelede Parazitoitler

Artan pestisit kullanımı nedeniyle direnç problemi de artmaktadır. Buna bağlı olarak biyolojik mücadelede parazitoitlerin günümüzdeki etkin yönetim stratejileri dikkate alınarak uygulaması yapılmaktadır (Rahman vd., 2007). Parazitoitler farklı dönemlerinde özellikle ergin öncesi gelişim dönemlerini tamamlamak veya ergin dönemde beslenebilmek için çeşitli zararlı türlerini kullanan gruplardır (Godfray, 1994; Ueno, 1998; Lauziere vd., 2000). Parazitoitler özellikle Hymenoptera ve Diptera takımları içerisinde yer alırlar. Parazitoitlerin biyolojik mücadelede kullanımı sırasında başarılı olabilmek için hareket yeteneği, konağı fark etme, hayatta kalma (uzun yaşam), parazitlenme yeteneği ve üreme gücü gibi özelliklerinin bulunması gereklidir. Parazitoitlerde konağı bulmak ve yumurtasını konağın vücudunun içine veya üzerine bırakmak dışının görevidir. Buna ek olarak parazitoitlerde yumurtaların açılması ile çıkan bireyleri ergin oluncaya kadar konaklarını öldürmezler ve

larva dönemlerinde asalak olmalarına rağmen ergin dönemlerinde serbest olarak yaşarlar. Ergin dönemde oldukça aktif oldukları için konaklarını arayıp bulma ve yumurta koyma imkanları yüksektir (Mackauer, 1986; Harvey vd., 1994). *C. cautella* ve *E. kuehniella*'nında aralarında bulunduğu depo zararlılarının birçok doğal düşmanı mevcuttur. Bu türlerin doğal düşmanları arasında; *Rhynocoris punctiventris* Herrich-Schaeffer (Heteroptera: Reduviidae), *Cephalonomia tarsalis* Ashmead (Hymenoptera : Bethyridae), *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae), *Euchalcida nigripes* Fonscolombe (Hymenoptera: Chalcididae), *Diadegma chrysosticta* Gmelin (Hymenoptera: Ichneumonidae), *Mintho praeceps* Scopoli (Diptera: Tachinidae), *Mesostenus transfuga* Gravenhorst (Hymenoptera: Ichneumonidae), *Pachyrepoideus vindemiane* Rondani (Hymenoptera: Pteromalidae), *V. canescens*, *Microbracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) ve *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) yer almaktadır (Lauziere vd., 2000).

V. canescens özellikle depolarda zararlı böceklerin larvaları ile mücadelede kullanılan soliter endoparazitoit bir türdür (Salt, 1975). Eşeysiz üreyebilen, primer sinovijenik (Harvey vd., 2001), koinobiont (Corbet, 1968), obligat, arhenotoki ve thelytoki formları bulunan bir böcektir (Salt 1976; Kılınçer vd., 2010). *V. canescens*'in konak olarak 23 tür üzerinde geliştiğini, bu parazitoitin doğal konaklarının Pyralidae, Tineidae ve Yponomeutidae familyası bireyleri olduğu bilinmektedir. Corbet ve Rotheram'ın (1965) araştırma sonucuna göre 25°C sıcaklıkta laboratuvar koşullarında *V. canescens*'in gelişimini 25 günde tamamlamaktadır. Parazitoitin gelişim aşamaları incelendiğinde yumurta dönemine 0-2.75 günde, 1. larva dönemini 2.75-6.5 günde, 2. larva dönemini 6.5-7.5 günde, 3.larva dönemini 7.5- 8.5 günde, 4.larva dönemini 8.5-10 günde, 5.larva dönemini 10-14 günde, pupa dönemini 14-21 günde, ergin dönemini 21. günde ulaştığı ve kokondan çıkışlarının ise ortalama 25. günde gerçekleştiği belirlenmiştir. Ergin parazitoitler enerji kaynağı açısından yüksek olan bal ve benzeri yiyeceklerle beslenirler. Ergin beslenmesinin, yumurta sayısı ve döl verimi üzerindeki etkileri farklı çalışmalarla ortaya konulmuştur (Özkan, 2007; Eliopoulos, 2007; Farahani vd., 2021).

Parazitoitler konaklarının yerlerini konakları beslenirken mandibulalarından salgıladıkları kairomonlar vasıtasıyla tespit ederler (Corbet, 1971; Castelo vd., 2003). Parazitoit *V. canescens*'te de diğer birçok Hymenoptera takımı üyesi tür gibi konağı bulma davranışı göstermesine yarayan öne doğru uzatılmış ve sürekli olarak hareket halinde olan antenleri

bulunmaktadır. Bunun yanında ovipozitörleri de duyuşsal olarak konağın belirlenmesini ve kabulünü sağlayacak şekilde özelleşmiştir (Gullan ve Cranston, 2012). *V. canescens*'in ergin ıkışı *E. kuehniella*'da daha yüksek olmaktadır (Harvey ve Vet, 1997). *V. canescens* konaklarının genellikle beşinci evre larvalarını parazitlemektedir (Harvey ve Thompson, 1995; zkan, 1999). Gelişmediği türlerde konak savunma mekanizması olan kapsüllenme gerekçe olarak bildirilmiştir (Salt, 1975). Laboratuvar koşullarında birçok konakta çok kolay yetiştirilmesi, gelişme süresinin kısa oluşu, thelytokie şeklinde parthenogenetik üremenin görülmesi nedeniyle *V. canescens* bir test böceği olarak nitelendirilmektedir (zkan 1999; Harvey vd., 2001).

1.3 Biyolojik Mücadelede Entomopatojen Funguslar

Sürdürülebilir tarım kapsamında biyolojik mücadele uygulamalarında amaç zararlılarla mücadelede zararlıyı tamamen ortadan kaldırmak yerine zararlının zarar seviyesini en aza indirmektir. Zararlı böceklerin biyolojik mücadelesinde en çok kullanılan mikrobiyal kontrol ajanları arasında virüsler, bakteriler, funguslar, protozoalar ve nematodlar yer almaktadır. Bu ajanlar arasındaki en avantajlı grubu tre özgü etki gösterdiği için entomopatojenler oluşurmaktadır. Entomopatojenler doğal hayata, hedef dışındaki insan ve canlılara toksik etki göstermez. Bu grupta yer alan kontrol ajanlarının ürettikleri toksinler tür ve cins düzeyinde etkili olmakla birlikte yararlı böceklere zarar vermezler (Sharma vd., 2023).

Depolanmış rn zararlılarına karşı en etkili alternatif mücadele etmenlerinden birisi EPF kullanımıdır. Entomopatojen kelimesi Yunanca kelimelerden köken alıp böcekler anlamına gelen “entomon” ve içinde ortaya çıkan anlamına gelen “genes” kelimeleri kullanılarak türetilmiştir. Bu nedenle entomopatojen kelimesinin etimolojik anlamı “böceklerde ortaya çıkan mikroorganizmalar”dır (Sandhu, 2012; Güner vd., 2023a). EPF, böcekler ve diğer eklembacaklılarla çeşitli ilişkiler kuran (parazitik, komnalistik, patojenik ve saprofitik) mantar cinslerinden oluşur (Demirbağ vd., 2008). Mantarlar aleminde en az 100 cinse ait 1000'den fazla EPF türü bulunmaktadır (Chen vd., 2021). Bunların oğu Ascomycota ve Zygomycota ierisindeedir. Ascomycota'da bulunan birçok EPF türü Hypocreales, Zygomycota ve Entomophthorales takımlarına dahil edilmektedir (Roy vd., 2006). EPF'nin sistematik durumuna bakılarak ortaya çıkan gruplandırmada entomopatojenik veya entomoparazitik mantarlar Blastocladiomycota (*Coelomyces* spp., *Coelomyxidium simulii*), Entomophthoromycotina, Kickxellomycotina (Harpellales ve Asellariales), Eurotiomycetes (*Ascospaera* ve diğer cinsler), Laboulbeniomyces (ektoparazitik

Ascomycetes), Dothideomycetes (Myriangium), Sordariomycetes (çoğunlukla Hypocreales'te) ve Pucciniomycetes içinde yer almaktadır (Humber, 2008).

Toprak önemli bir EPF kaynağıdır ve topraktaki EPF biyolojik kontrol açısından büyük önem taşımaktadır (Jackson ve Saville, 2000). Toprakta EPF'nin aşırı çoğalması ve yayılması toprak içeriğine bağlı olarak değişiklik gösterir. Organik madde seviyesi yüksek ve kumdan daha fazla kil içeren topraklar daha belirgin bir EPF dağılımına sahipken, alkali ve kumlu topraklar daha az EPF içerir (Elkhateeb, 2021). Biyolojik mücadele etmeni olarak funguslar kullanırken böceklerin doğrudan ya da dolaylı davranışları da etkidir. Böcekler ve EPFler arasındaki etkileşimlerde böceğin patojene teması, ondan kaçması ve diğer konaklar arasında patojenlerin yayılması önemlidir. Böceğin davranışları enfeksiyonun oluşup oluşmayacağını etkileyebilir aynı zamanda enfeksiyon oluşma ihtimalini değiştirebilir (Talwar, 2005). Enfeksiyon süreci fungal patojenlerin sporları kadar metabolitleri ile de ilgilidir. Biyo-krom (bassianin ve tenellin) ya da dibezokinin (oosporin) gibi pigmentler böcek vücudunda renk değişiminden sorumludur. EPF çeşitli sekonder metabolitler üretir ve bunlar böceklerde toksin gibi davranırlar (Deacon, 1983).

Konak canlılar toprakta EPFler dışında birçok patojen ile etkileşim halindedir. Toprağın yapısında entomopatojenler dışında fırsatçı veya saprofit olarak tanımlanan türler de bulunmaktadır. Bu türler arasında *Fusarium*, *Aspergillus* ve *Penicillium* cinslerine ait türler bulunmaktadır (Teetor-Barch ve Roberts, 1983). *Aspergillus flavus* virülansı oldukça düşük olan geniş konak aralığına sahip fırsatçı bir patojendir (Yu vd., 2005). *Fusarium* spp. böcek kadvralarında bulunan patojenitesi düşük olan bir fungustur (Teetor-Barch ve Roberts, 1983; Yu vd., 2005).

Fırsatçı funguslar, zayıf ya da yaralı konak böcekleri kolayca enfekte ederler. Günümüze kadar yapılmış çalışmalarda *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Aschersonia* spp., *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Cladosporium* spp., *Clonostachys rosea*, *Conidiobolus* spp., *Entomophthora* sp., *Erynia radicans*, *Fusarium* spp., *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp., *Lecanicillium* (=Verticillium) spp., *Trichoderma harzianum* ve *Zoophthora radicans* EPF türleri olarak bildirilmiştir (Torres-Barragan vd., 2004; Anwar vd., 2017; Anwar vd., 2021). *Fusarium* ve *Penicillium* türlerinin çeşitli bitkilerde hastalıklara neden olduğu bilinmekle beraber bazı türlerinin ise böcekleri hastalandırıp ölümlerine neden olan EPF olduğu bildirilmiştir (Al-Keridis, 2015; Jaber ve Ownley, 2017). Ayrıca, entomopatojen *Fusarium* türlerinin Hemiptera ve Diptera

takımından bazı böceklerde daha yüksek seviyede, Lepidoptera ve Coleoptera takımından bazı böceklerde ise daha düşük seviyede enfeksiyona neden oldukları ve kadavralar üzerinde saprofit olarak yaşayabildikleri bildirilmiştir (Jaber ve Ownley, 2017).

EPFler integümente penetrasyondan sonra çoğalarak hifleri vasıtasıyla böcekleri öldürebilirken, *Fusarium*, hifleri tarafından üretilen ve bir siklodepsipeptid toksini olan beauvericin, *Penicillium* ise ürettiği penisilik asit gibi toksinlerle de ölümlere neden olabilmektedir (Louw ve Korsten, 2014). Ayrıca *Cladosporium* ve *Fusarium* gibi EPFlerin sadece biyopestisit olarak değil, aynı zamanda bitkide endofit olup bitki hastalıklarına karşı antagonist, bitki büyüme düzenleyici ve rizosfer kolonizasyonu gibi henüz tam olarak ortaya çıkarılamamış farklı ekolojik rolleri de üstlenebildikleri bildirilmiştir (White vd., 1990). Wildey vd. (2002) yaptıkları çalışmada *B. bassiana* suşlarının *E. kuehniella* üzerinde etkili olduğunu ve *B. bassiana*'ın pestisitlere karşı etkili alternatif biyokontrol ajanı olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda *B. bassiana*, *C. cautella*'nın tüm gelişim evreleri üzerine etkilidir (Alwaneen vd., 2020a).

Bitki ile beslenen böceklerin mücadelesinde ticari şekilde üretilmiş *M. anisophile* izolatlarının, arılara karşı risklerinin olmadığı saptanmış ve biyolojik mücadele etmeni olarak uygulanabilir olduğu belirtilmiştir (Uzuner vd., 2017). El-Adawy vd., (2012) yaptığı çalışmada *E. kuehniella* larvalarının *M. anisopliae*, *Verticillium lecanii* ve *B. bassiana*'ya duyarlı olduğu belirlemiştir.

Irak'ın Kuzey bölgelerinde Gara dağlarında bazı bitkilerin üzerinde yaşayan böceklerde EPF ve fırsatçı fungusların birlikte bulunduğu belirlenmiştir. Çalışmada *A. flavus*, *Aspergillus niger*, *B. bassiana*, *Alternaria alternata*, *Curvularia* sp., *Fusarium* spp., *Humicola* sp., *Penicillium* spp., *Rhizopus stolonifer*, *Ulocladium atrum*, *Trichoderma* spp. izole edilmiştir. Ayrıca önemli bir buğday zararlısı olan süneden (*Eurygaster integriceps*) *B. brongniartii* izole edilmiştir (Assaf vd., 2011).

Kocatürk vd. (1994) yaptıkları çalışmada Orta Anadolu bölgesinde hububatın önemli zararlısı olan *Aelia rostrata*'nın kışlaklardaki gelişimini etkileyen EPFler tespit etmişlerdir. Bu çalışmada izole edilen türlerden *B. bassiana*'nın önemli bir böcek patojeni olduğu *Mucor* spp., *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp.'nin ise kımılda düşük seviyede de olsa ölümlere neden olduğu belirlenmiştir. Memişoğlu ve Özer (1994) ise yaptıkları çalışmada kışlaklardan toplanan ölü *Eurygaster maura* üzerinde *Beauveria* sp., *Mucor* sp.,

Cladosporium sp., *Penicillium* spp., *Alternaria* sp., *Stemphylium* spp. ve *Aspergillus* spp. tespit etmişlerdir.

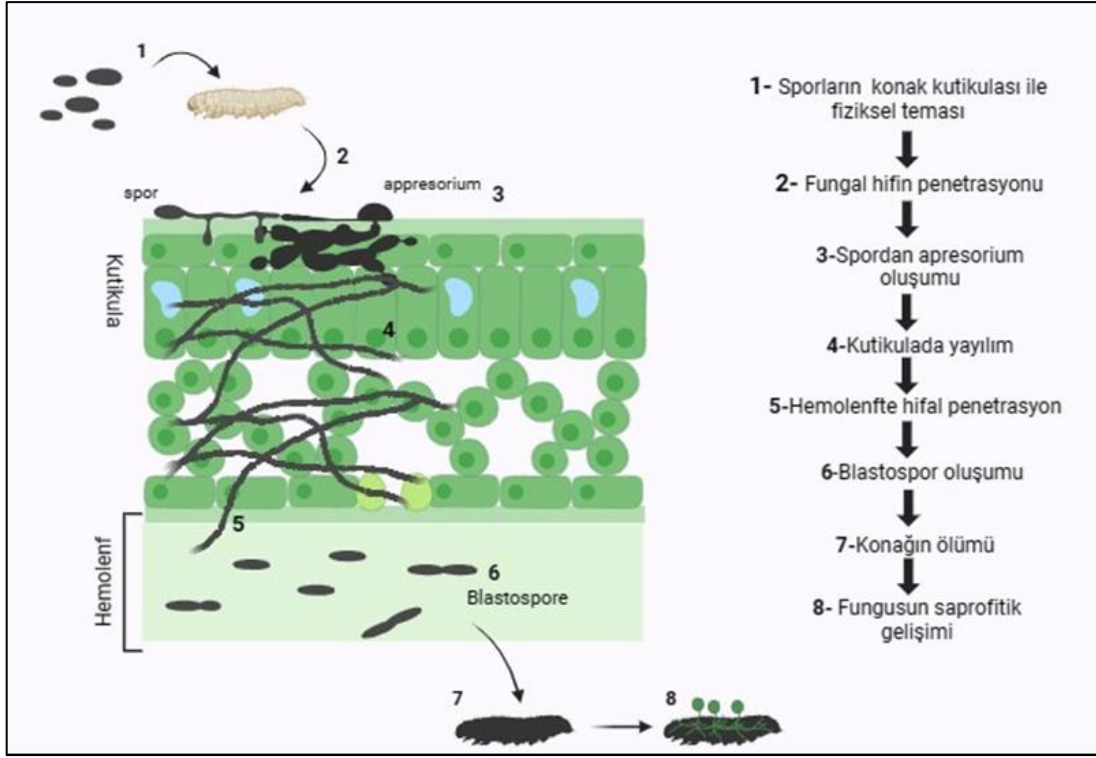
1.3.1 Entomopatojenik Mantarların Patojenitesi ve Enfeksiyon Mekanizması

Dimorfik mantarın maya formuna dönüşmesi, insan, bitki ve böceklerde patojenitelerinin ve virülanslarının artmasına neden olur (Gauthier, 2015). İnsanda, patojenik mantarlarda sıcaklık (toprakta 22–25°C'den konakta 37°C'ye kadar) dimorfik geçiş için en önemli faktörken, CO₂, sistein ve östradiol gibi diğer faktörler de hem dönüşüm hem de büyüme için etkilidir (Klein ve Tebbets, 2007). Bitki patojenlerinde nitrojen kaynakları, bazı dallı zincirli amino asitler, lipoksijenazlar ve siklooksijenazların enzim aktivitesi maya-misel dimorfizmine katkıda bulunan önemli yapıları oluşturur (Berrocal vd., 2012; Naruzawa ve Bernier, 2014). Böcek patojeni mantarlarda, enfeksiyonun başlangıcında germ tüplerinden hiflere, daha sonraki evrelerde ise hiflerden miselyuma geçişi oluşturan yapıların mekanizmaları yeterince aydınlatılamamıştır (Boucias vd., 2016). Bununla birlikte, hemoselde bulunan yüksek ozmotik basıncın ilk değişikliği tetikleyebileceğine dair kanıtlar vardır. Patojenler, konak organizmada gelişme ve çoğalma sağlamak için yüksek bir metabolik hıza ihtiyaç duyarlar. Bu durum konakta oksidatif strese ve patojenler tarafından üretilen toksik maddelerin ve yan ürünlerin ortaya çıkmasına neden olur (Butt vd., 2016).

EPFlerin yaşam döngüleri genellikle konaklarının gelişme süresi ile eş zamanlıdır (Shah ve Pell, 2003). EPFler, konaklarını sadece bağırsaktan değil, aynı zamanda böceklerin solunum deliklerinden ve deri yüzeyinden de enfekte edebilirler. Bu özellik, fungusların beslenme aktivitelerinden bağımsız olarak böceklere doğrudan bulaşabilmesine ve dolayısıyla konak tarafından yenmesine gerek kalmadan etkili olmasını sağlamaktadır (Shah ve Pell, 2003; Castrillo vd., 2005). EPF enfeksiyonu, mantar konidiasının böcek kütikülüne bağlanmasıyla başlar. Konidia ve böcek kütikülü arasındaki hidrofobik ve elektrostatik etkileşimler yoluyla devam eder. Mantar sporu, konak kütikülün herhangi bir yerine yapışabilir. Kütikülün bileşenleri böcekten böceğe ve ayrıca böceğin gelişim aşamasına bağlı olarak farklılık gösterir (Ye vd., 2021). *B. bassiana* konidiasının en dış kısmında, protein hidrofobinlerle kaplı hidrofobik yapılar vardır. *B. bassiana*'daki iki hidrofobin (Hyd1 ve Hyd2) ve hidrofobik rodletler konidia hidrofobikliğinden sorumludur (Cho vd., 2007). Sucul ortamlarda yaşayan EPFlerde bağlanma sürecini zoosporların kese oluşumu takip etmektedir (Castrillo vd., 2005).

Enfeksiyonun ikinci aşaması, kütiküle bağlı mantar sporunun çimlenmesidir. Spor çimlenmesi sıcaklık, pH, nem, oksijen ve besin varlığından etkilenir. Mantar ve mantar türüne göre değişmekle birlikte çimlenme için gerekli optimum sıcaklık 20-30°C arasındadır (Skinner vd., 2014). Geniş konak dağılımına sahip mantarların çimlenme için konak kütikülündeki spesifik karbon ve nitrojen kaynaklarına ihtiyaç duymadığı, dar konak aralığına sahip mantarların ise çimlenmek için böcek kütikülündeki spesifik bileşiklere ihtiyaç duyduğu gözlemlenmiştir (Ortiz-Urquiza vd., 2013).

Enfeksiyonun üçüncü aşaması penetrasyondur. Mantar appresorium adı verilen bir yapı oluşturarak kütiküle mekanik bir baskı uygular. Bu yapıda mantarın sentezlediği kütikül parçalayıcı enzimler ile mantarın konağın kütikülüne daha kolay nüfuz etmesini sağlar (Ortiz-Urquiza ve Keyhani, 2013; Soliman, 2020). Konak böceğin epikütikülü proteinler, lipidler, steroller ve yağ asitlerinden oluşur. Kütikülü parçalayan enzimler; lipaz, proteaz ve kitinaz mantarın konağa girişinde önemli rol oynar. Mantar tarafından sentezlenen lipaz enzimi, epikütikuladaki lipidleri ve lipoproteinleri parçalar (Pedrini vd., 2007). Lipazlar aynı zamanda mantar ile konak kütikül yüzeyi arasındaki hidrofobik etkileşimi de artırır (Santi vd., 2010). Mantar tarafından sentezlenen proteolitik enzimler, böcek kütikülündeki proteinleri parçalayarak kitin fibrillerinin ortaya çıkmasına neden olur. Kitinaz enzimi böcek kütikülündeki kitini parçalayarak mantarın böceğin kütikülünde ilerlemesini sağlar. Hemolenften geçen mantar burada çoğalır ve maya benzeri hücreler (blastosporlar) oluşturur. Mantarın çoğalması konak böceğin doku bütünlüğünün bozulmasına yol açar. Bu sırada mantar, böceğin bağışıklık sistemini zayıflatan ikincil metabolitleri sentezler. Ayrıca mantar trehalaz enzimini sentezler ve böceğin hemolenfide bulunan önemli bir disakkarit olan trehalozu enerji kaynağı olarak kullanır. Böylece böceğin beslenmesi kesintiye uğrar (Litwin vd., 2020). *Metarhizium acridum*'da yapılan bir çalışmada trehalaz sentezinden sorumlu ATM1 geninin inaktivasyonu sonucunda mantarın virülansında önemli bir azalma gözlemlenmiştir (Jin vd., 2015). Son olarak, mantar ölü böcek üzerinde sporlanır ve yeni oluşan sporlar başka bir konağa bulaşabilir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1: EPF enfeksiyon mekanizmasının şematik gösterimi (Biorender.com).

1.3.2 Fungal Metabolitlerin Üretimi

İmmün sistemi baskılayıcı bileşikler olarak bilinen (Altimira vd., 2022) veya mantar patojenitesini kolaylaştırabilen (Zhang vd., 2020) toksik sekonder metabolitlerin üretimi önemli bir adımdır. Sekonder metabolitler, birçok farklı kimyasal yapıya sahip ribozomal olmayan peptidleri ve poliketitleri içerir. Sekonder metabolitlerin kesin rolü bilinmemektedir, ancak bu yapıların mantar suşlarının virülansı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Zhang vd., 2020).

EPF, konaklarını farklı metabolitler üreterek birçok farklı şekilde öldürürler (Zimmermann, 2007b). Deuteromycetes patojenlerinin, mantar toksinlerinin konak ölümünde rol oynadığına dair ikinci dereceden kanıtlara sahip çok sayıda çalışma mevcuttur. Sitotoksinlerin hif penetrasyonundan önce hücresel bozulmalara neden olduğu düşünülmektedir. Böceklerde kısmi veya genel felç, uyuşukluk ve azalmış sinirlilik gibi davranışsal semptomlar, nöromusküler toksinlerin etkisiyle tutarlıdır (Sandhu vd., 2012). *Beauveria*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Metarhizium*, *Paecilomyces* ve *Verticillium* gibi biyolojik kontrol ajanlarında kimyasal olarak farklı toksik metabolitler tanımlanmıştır. Bu metabolitlerden bazılarının önemli patojenite faktörleri olduğu bilinmektedir (Strasser vd., 2000).

Şimdiye kadar birçok araştırmacı *Beauveria* türleri ve *M. anisopliae* tarafından üretilen metabolitlere odaklanmıştır. Çünkü bu iki mantar en önemli mikrobiyal kontrol ajanlarıdır. *Beauveria* spp. beauvericin, bassianin, bassianolide, oosporin ve destruxin-B gibi *in vivo* ve *in vitro* birçok toksik bileşik üretir (Zimmermann, 2007a). Ayrıca *Metarhizium* spp.'de destruxins (28 tip), sitokalsin-C ve hidroksifungerin-A ve B gibi metabolitler yer almaktadır. Şimdiye kadar EPFlerin enfeksiyon sırasında herhangi bir toksin üretilip üretilmediği veya toksinin virülans için gerekli olup olmadığı belirlenememiştir. Quesada-Moraga ve Vey (2003), *B. bassiana*'nın çekirgelere karşı patojenik olabilmesi için toksin üretimine ihtiyaç duymadığını belirtmişlerdir. Bazı durumlarda toksin üretiminden şüphelenilse de kesin olarak belirlenememiştir. *Coelomycidium*, *Coelomomyces* cinsi ve Entomophthorales takımına ait bazı mantarların bazı çok zayıf toksinleri bildirilmiştir. Ancak, büyük olasılıkla, bu mantarlar, yaşamsal dokuları istila ederek konaklarını öldürmektedir (Goettel vd., 2005). Ayrıca mantar enfeksiyonu, ateş yükselmesi, aktivitede artış veya azalma, yarı kimyasallara azalmış yanıt ve üreme davranışında değişiklikler gibi konak hareketlerinde değişikliklere neden olabilir (Roy vd., 2006). *B. bassiana* ve *Paecilomyces fumosoroseus* enfeksiyon sırasında sentezledikleri beauvericin, bassianolids, ennalin, oosporin gibi sekonder metabolitlerle böceğin bağışıklık sistemini yenerek ölüme neden olurlar (Kidanu, 2020).

1.4 Biyolojik Mücadele ve *Penicillium* Türleri

Penicillium, Latince küçük fırça anlamına gelen 'penicillus' kelimesinden gelmektedir. *Penicillium* türleri doğada en yaygın bulunan grup olup küçük, dirençli ve hafif konidiaları ile geniş bir yayılıma sahiptir. *Penicillium* türleri toprak kökenlidir ve şu ana kadar izole edilen türlerin birçoğu topraktan elde edilmiştir. *Penicillium* türleri insanlarla dolaylı ve doğrudan etkileşim halindedir. Bazı türler insan kaynaklı her türlü ürünün bozulmasına neden olurken, bazı türler meyveleri çürütür veya yiyecekleri bozar, bazıları mikotoksin üretir. *Penicillium* cinsi doğal ekosistem, tarım alanları, biyoteknoloji gibi birçok alanda kullanılmasıyla da önemlidir (Pitt, 2000). Bazı *Penicillium* türleri penisilin adı verilen antibiyotiği üreterek insan hayatına direkt fayda sağlar ve bu antibiyotiğin bulaşıcı hastalık kontrolü için önemlidir. *Penicillium* türlerinin, ekolojik ilişkilerini anlamak, zararlarını azaltmak, patojenite ve yararlılık potansiyellerinden yararlanmak için doğru tür tanımlamalarına önem verilmelidir (Leitao, 2009).

Penicillium cinsindeki mantarların da entomopatojenik davranışları olduğu rapor edilmiş ve *P. corylophilum* ve *P. janthinellum* gibi bazı türlerin sivrisineklere karşı etkili biyokontrol ajanları olduğu öne sürülmüştür (da Costa ve Oliveira, 1998). Nicoletti vd., (2023) yaptıkları çalışmada böceklerin üzerinden izole edilen *Penicillium* türlerini listelemiştir. Bu liste incelendiğinde böcekler üzerinde tespit edilen *Penicillium* türlerine ait penisilli yapılarının kontaminasyon veya böcekler tarafından yutulmadan kaynaklandığı düşünülse de bu durumdan farklı olarak *P. brocae* (Peterson vd., 2003), *P. mallochii* ve *P. guanacastense* (Rivera vd., 2012), *P. costaricense* ve *P. camponotum*, *P. infrabuccatum* ve *P. fundyense*'nin böcekler ile patojeniteleri ilk kez rapor edilmiştir (Visagie vd., 2016).

Bazı *Penicillium* türlerinin de antifungal bileşikler üreterek topraklarda bitkileri fitopatojenlerinden koruyucu etki gösterdikleri bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* ve *Trichoderma* cinslerine ait 70 izolatin antibiyotik aktiviteleri test edilerek bunlar arasından bakterisidal, fungisidal, insektisidal etkiye sahip olanları belirlemeye çalışılmıştır. Söz konusu çalışmada, *in vitro* koşullarda, en yüksek aktivitenin *Penicillium oxalicum*, *Penicillium. decumbens* ve *T. harzianum* izolatları ile sağlandığı tespit edilmiş, antibiyotik üretme yetenekleri ile iyi bilinen *Penicillium* cinsi fungusların izolatlarının birçoğunun pozitif sonuçlar verdiğini belirtilmiştir (Santamarina vd., 2002).

Marmara bölgesinde 2009 yılı yaz döneminde yapılan çalışmada domates, patlıcan ve hıyar sera alanlarında bulunan afitler (*Myzus persicae* Sulz.) ve aynı seralardaki ölü böcekler üzerinden elde edilen fungus izolatlarını test etmişlerdir. Elde edilen EPF türlerinden *Clodosporium clodosporioides* ve *Penicillium italicum* türlerinin afitler üzerinde %80'nin üzerinde ölüm meydana getirdiğini saptamışlardır (Boztaş vd., 2009). Başka bir çalışmada *P. citrinum* ve *Penicillium chrysogenum*'un böcek patojeni olduğu, *P. chrysogenum*'un ise Afrika sıtma sivrisinekleri (*Anopheles gambiae* Giles; Diptera: Culicidae) için patojen bir tür olduğu belirlenmiştir (Malassigne vd., 2020).

İlgili literatürlerin kapsamlı incelemesi sonucunda *Penicillium* türlerinin/suşlarının sıklıkla çeşitli böcek türleri ile ilişkilendirildiği ve onlara karşı böcek öldürücü özellikler sergiledikleri tespit edilmiştir. Çalışmamızda kullanılan *Penicillium mallochii* Rivera, Urb & Seifert, ilk olarak Kosta Rika'da *Rothschildia lebeau* Guerin-Méneville (Lepidoptera: Saturniidae) ve *Citheronia lobesis* Rothschild (Lepidoptera: Saturniidae) gibi tırtıllardan

izole edilen nadir bir mantardır (Rivera vd., 2012). Ayrıca *P. mallochii* Brezilya'da *Triplectides* sp.'den de izole edilmiştir. (Teixeira vd., 2022).

1.5 Fungus Enfeksiyonuna Karşı Konak Savunma Mekanizması

EPF potansiyel konakları enfekte ettiğinde, böcekler hem temas öncesi hem de temas sonrasında bunları tespit etmek ve bunlardan kaçınmak için stratejiler geliştirmiştir (Ma vd., 2024). Funguslarla temas öncesinde eklembacaklıların koku veren bağlayıcı proteinleri, EPF tarafından yayılan uçucu organik bileşiklere aktif olarak yanıt verebilir. Bu durum böceğin bağışıklık tepkisini daha da değiştirir ve patojen üzerinde itici etkileri tetikleyerek konak savunmasını modüle eder. Bu yetenekler böcek türleri arasında ve farklı gelişim aşamaları arasında farklılık gösterir.

Japon böceği (*Popillia japonica*) larvalarının yüksek konsantrasyonda *M. anisopliae* içeren topraktan kaçındığı gözlemlenmiştir (Villani vd., 1994). *Anthocoris nemorum*, *B. bassiana*'nın varlığını tespit edip ve aktif olarak fungustan kaçınabilir (Meyling ve Pell, 2006) Termitler ve karıncalar gibi sosyal böcekler, EPFyi tespit etme ve kaçınma davranışlarıyla yanıt verme yeteneğine sahiptir. *Reticulitermes flavipes* termitleri, *M. anisopliae* sporları ile kaplanmış termitleri tespit ederek alarm ve toplanma reaksiyonları gösterebilir (Myles, 2002). *Macrotermes michaelseni* termiti de benzer yeteneklere sahiptir (Mburu vd., 2011; Mburu vd., 2012). *Coptotermes lacteus*, *M. anisopliae* içeren substratlarda kısa tüneller oluşturarak mantarla daha fazla teması önlemek için bunları kapatarak bir kaçınma tepkisi gösterir (Staples ve Milner, 2000).

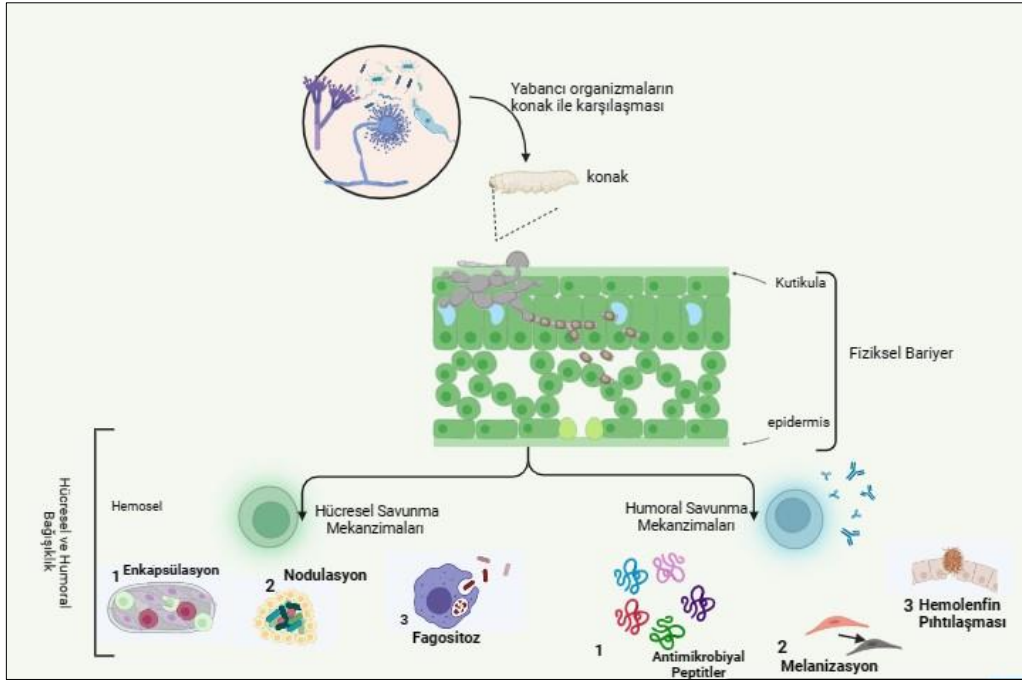
Funguslarla temas sonrasında ise başarılı bir enfeksiyon için, mantarın olumsuz fiziksel/kimyasal faktörlerin ve böceğin bağışıklık sisteminin üstesinden gelmesi gerekir. Omurgalı hayvanlar hem doğal hem de edinsel bağışıklık sistemine sahipken böcekler ve diğer omurgasızlar sadece doğal bağışıklık sistemine sahiptirler (Strand, 2008). Böceklerde yabancı organizmalara karşı ilk bariyer integüment sistem ve bağırsaklar tarafından sağlanır (Lavine ve Strand, 2002). Böceğin fizikokimyasal bariyerlerini aşıp vücut boşluğu içerisine giren patojen ve parazitler, böceğin kendinden olmayanı algılaması sonucu bağışıklık tepkileriyle karşı karşıya kalmaktadırlar.

Böcekler, kendilerini patojenlere karşı savunmak için hem hücresel hem de humoral tepkilerden oluşan karmaşık bir bağışıklık tepkisi sergilerler (Cooper ve Eleftherianos, 2017; de Oliveira Barbosa Bitencourt vd., 2020). Böceklerde mikro veya makro organizmalarla

enfeksiyon sonucu ortaya çıkan humoral bağışıklık tepkilerinin yanında hemositlerin morfolojik ve yapısal değişiklikleri sonucu hemosit aracılı gerçekleştirilen hücresel bağışıklık tepkileri de ortaya çıkmaktadır (Lavine ve Strand, 2002; Strand, 2008). Hücresel bağışıklık tepkilerinde fagositoz, enkapsülasyon ve nodül oluşumu gibi savunma mekanizmaları da hemositler tarafından gerçekleştirilir (Schmidt vd., 2001; Beckage ve Gelman, 2004). Humoral savunma sürecinde ise melanizasyon, hemolenfin pıhtılaşması ve antimikrobiyal peptitlerin sentezi olmak üzere üç tip reaksiyon gerçekleşmektedir (Vilmos, ve Kurucz, 1998) (Şekil 1.2).

Humoral yanıt, patojenik mikroorganizmaların yüzeylerinde patojenle ilişkili moleküler modellerin (PAMP'ler) tanınmasını içerir, bu da lektinlerin, profenoloksidaz kaskadının indüklenmesiyle ve çeşitli moleküler gruplar olan antimikrobiyal peptitlerin (AMP'lerin) biyosenteziyle sonuçlanır (Hultmark, 2003; Pal ve Wu, 2019). Bakteriler, mantarlar ve protozoonlar gibi patojenik mikroorganizmalar böceklerdeki fiziksel bariyerleri aştığında sitotoksik peptit ve proteinlerle karşılaşır (Garcia-Lara vd., 2005). Bu sitotoksik moleküller temel olarak yağ dokuda sentezlenmektedir (Vilmos, ve Kurucz,1998) ancak yapılan çalışmalarda epidermis hücrelerinde (Brey vd., 1993; Lee ve Brey, 1995) orta bağırsakta (Russell ve Dunn, 1996) tükürük bezlerinde (Kylsten vd., 1992), üreme sisteminde (Rosetto vd., 1996) ve hemositlerde de (Gillespie vd., 1997) sentezlendikleri gösterilmiştir.

Böcekler anti-fungal bileşiklerin, reaktif oksijen türlerinin (ROS) sentezini artırarak humoral bağışıklık, melanizasyon ve fagositoz dahil doğuştan gelen bağışıklık faktörlerini aktive ederek fungusa karşı etkiye bulunur (Zibae vd., 2012). Melanin, böceğin hücresel savunma sisteminde (patojen kapsülleme) ve antimikrobiyal peptitlerin sentezinde yer alır (Langfelder vd., 2003). *B. bassiana* tarafından sentezlenen bir metabolit olan oosporein, profenoloksidazın (PO) polifenol oksidaza (PPO) bölünmesini engelleyerek, profenoloksidazın aktivasyonunu ve antifungal peptit Gallerimisinin ekspresyonunu inhibe ederek konak böceğin bağışıklık sistemini baskılar (Feng vd., 2015). *B. bassiana* tarafından sentezlenen MCL1 proteini, böceğin hemolenfinde yer alan hemosit hücrelerinden kaçmasını sağlar (Wang vd., 2021).



Şekil 1.2: Böcek bağışıklık sisteminin şematik gösterimi (Biorender.com).

Omurgalılar gibi böceklerin de enzimatik ve enzimatik olmayan savunma sistemleri vardır. Enzimatik sistemin ana elemanları süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon-S-transferaz (GST) enzimleridir (Krishnan ve Kodrik., 2006). Bu nedenle böceklerin çevre koşullarına başarılı bir şekilde uyum sağlamaları, etkili detoksifikasyon mekanizmaları ve bu maddelerin vücutlarından uzaklaştırılması ile sağlanmaktadır (Wu vd., 2004). Bu detoksifikasyon enzimlerinin rolü, böcekleri insektisitlerin, çeşitli bitki metabolitlerinin veya entomopatojenik mikroorganizmaların olumsuz etkilerinden korumakla sınırlı değildir. Böceklerde detoksifikasyon enzimlerinin inhibisyonunun veya aktivitelerinde meydana gelen değişikliklerin nedenleri arasında günümüzde ksenobiyotikler arasında yer alan EPFlere bağlı enfeksiyonlar da yer almaktadır (Kolchevskaya ve Kolchevkii, 1988; Serebrov vd., 2006).

1.6 Biyolojik Mücadelede Etkileşim Uygulamaları

Böcek patojenleri, parazitoitler ve predatörler arasındaki etkileşimler Birlik içi avcılık (Intraguild predation =IGP) olarak adlandırılmaktadır. İki türün bir konağı veya avı paylaşması veya birbirleriyle trofik bir etkileşime (parazitizm veya av) girmesi durumunda ortaya çıkar (Rosenheim vd., 1995; Gonzalez vd., 2016). Bu etkileşimler biyolojik kontrol ajanlarının ve hedef zararlıların popülasyon dinamiklerini etkilemektedir (Labauda ve Griffin, 2018).

Entomopatojenler ve diğler biyolojik kontrol ajanları arasındaki etkileşimler, spesifik biyolojik kontrol ajanlarının yanı sıra bunların konsantrasyonlarına, uygulama zamanına ve konak türüne bağılı olarak sinerjistik, nötr veya antagonistik olabilmektedir (Beline, 2018). Sinerjistik etkileşimler, zararlı popülasyonunun toplam bireysel ölümlerinden daha yüksek bir ölüm oranıyla sonuçlanır. Doğal düşmanlar etkileşime girmediğinde nötr etkileşimler meydana gelir ve dolayısıyla toplam ölüm düzeyi, her bir ajanın neden olduğu birleşik bireysel ölümlere eşdeğerdir. Antagonistik etkileşimler, toplam ölüm oranının, doğal düşmanlardan birinin tek başına hareket ettiği duruma göre daha az olması durumunda ortaya çıkar (Straub vd., 2008; Rashki vd., 2009). EPF ile diğler doğal düşmanlar (parazitoitler ve predatörler) arasındaki etkileşimlere ilişkin çalışmalar dünya çapında önemli araştırma konuları arasında yer almaktadır (Roy vd., 2006; Ormond vd., 2011; Martins vd., 2014; Bayissa vd., 2016).

Başarılı parazitizm için gerekli süreç genellikle üç aşamaya ayrılır: (a) konak seçimi, (b) konak uygunluğu ve (c) konağın düzenlenmesi. Parazitoitlerin konak seçiminin çeşitli kimyasal ve fiziksel faktörler tarafından yönlendirildiği açıktır. Konak uygunluğu ise hormonal ve beslenme koşulları da dahil olmak üzere konak savunma mekanizması, patojen enfeksiyonu, diğler parazitoitler ile rekabet gibi çeşitli faktörlere bağılıydı. Konağın düzenlenmesi ise parazitoitlere konağın izin vereceği fizyolojik ve ekolojik değişiklikler olarak bilinir (Vinson ve Iwantsch, 1980).

Zararlılarla mücadelede EPF ile diğler biyolojik kontrol ajanları arasındaki IGP etkileşimi ve uyumluluk ile ilgili çalışmalar, predatörlerden daha çok parazitoitler ile ilgilidir (Mesquita ve Lacey 2001; Rashki vd., 2009; Jarrahi ve Safavi 2016). Çoğu deney mantarlarla yapılmış olsa da viral ve bakteriyel biyokontrol ajanlarının parazitoitlerle uyumluluğu da analiz edilmiştir. *B. bassiana*, *Trichogramma pretiosum* (Araujo vd., 2020), *Tamarixia triozae* (Tamayo-Mejía vd., 2015), *E. formosa* (Oreste vd., 2016) ve *Trichogramma atopovirilia* (Araujo vd., 2020) ile en sık yapılan kombinasyonların tümünde yer almıştır. *Trichogramma pretiosum* (Araujo vd., 2020) ve *E. formosa* (Oreste vd., 2016) en çok araştırılan parazitoitler olmuştur, bunları *A. colemani* (Fernández-Grandon vd., 2020), *C. flavipes* (Santos vd., 2022) ve *Diaeretiella rapae* (Martins vd., 2014) izlemiştir. Mikroorganizmalar açısından, *B. bassiana* (Araujo vd., 2020; Akbari vd., 2020; Aguila vd., 2021) en çok çalışılan mantar olmuştur, onu *M. anisopliae* (Ibarra-Cortes vd., 2018; Fernández-Grandon vd., 2020) ve *L. muscarium* (Aqueel vd., 2013) izlemiştir. *B. thuringiensis* (Allahyari vd., 2020) en sık

kullanılan bakteridir. Virüslerden, *Spodoptera exigua* çoklu nükleopolyhedrovirüsü (SeMNVP) (Cai vd., 2012) ve *Spodoptera frugiperda* çoklu nükleopolyhedrovirüsü (SfMNVP) (Escribanovd., 2001) en sık parazitöitlerle birlikte test edilenler arasındadır.

Çeşitli bulgular, EPF ve parazitöitlerin/predatörlerin bir arada var olabildiklerini ve farklı zararlı türlerini kontrol altında tutabildiklerini göstermiştir. Ancak, EPFler bazı parazitöitler üzerinde yetişkin veya larva yaşamını ve diğer biyolojik parametreleri üzerindeki zararlı etkilerinin olduğunu da göstermiştir (Nielsen vd., 2005; Mas vd., 2019). Bu nedenle, entomopatojenin parazitöitlerin davranışsal ve biyolojik parametreleri üzerindeki olası öldürücü veya ölümcül olmayan etkilerinin bilgisi çok önemlidir; birçok çalışma bu etkileşimleri bildirmiştir (Powell vd., 1986, Brobyn vd., 1988, Askary ve Brodeur 1999, Mesquita ve Lacey, 2001, Kim vd., 2005; Rashki vd., 2009, Aiuchi vd., 2012, Emami vd., 2013).

Son çalışmalarda Mohamed ve Hatcher (2017) parazitöit *Aphidius colemani* (Dalman, 1820) (Hymenoptera: Braconidae) ve *L. muscarium*'un *M. persicae* ile mücadelesinde birlikte kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Benzer şekilde, *B. bassiana* ve *Metarhizium brunneum* Petch sonuçları, aralarında herhangi bir olumsuz etkileşim olmaksızın *A. colemani* ile uyumlu kullanılabileceği yönündedir (Jaber ve Araj, 2017). Roy ve Pell (2000), EPF ile diğer doğal düşmanlar arasındaki etkileşimler üzerine yaptıkları çalışmada predatörlerin ve parazitöitlerin, EPFyi taşıyarak ve enfekte konakların artan hareketine neden olarak epizootiklerin gelişimine katkıda bulunabileceğini belirlemişlerdir. Quesada-Moraga vd., (2022), yaptıkları çalışmada EPF ile parazitöitler arasındaki uyumluluğu değerlendirmiş ve karışık sonuçlar elde etmişlerdir. Bu çalışma sonucunda, parazitöitlerin fungusu taşıdığı, hatta sinerjistik etkileşimler gösterdiği belirlenmiştir. Buna ek olarak, EPF uygulamalarının parazitöitlerin fizyolojisini etkileyebileceğini, ömürlerini kısaltabileceğini ancak parazitleme oranlarını artırabileceği belirlenmiştir. Ayrıca, Roy ve Pell (2000) tarafından, salınım zamanlarının uygun şekilde ayarlandığı durumlarda kombinasyonun faydalı olduğu, ajanların uygulama zamanlamasının ve sırasının kritik olduğu belirlenmiştir.

Tez çalışması kapsamında gelecek nesiller için sürdürülebilir üretim ihtiyacının garanti altına alınması ve iyi tarım uygulamalarına yardımcı olacak çok disiplinli tekniklerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bununla birlikte *P. mallochii*'nin hem depo zararlısı böceklerden *E. kuehniella* ve *C. cautella* larvaları üzerine etkisi hem de parazitöit (yararlı böcek) *V. canescens* ile etkileşimleri araştırılmıştır. Etkilerin incelenebilmesi için *P.*

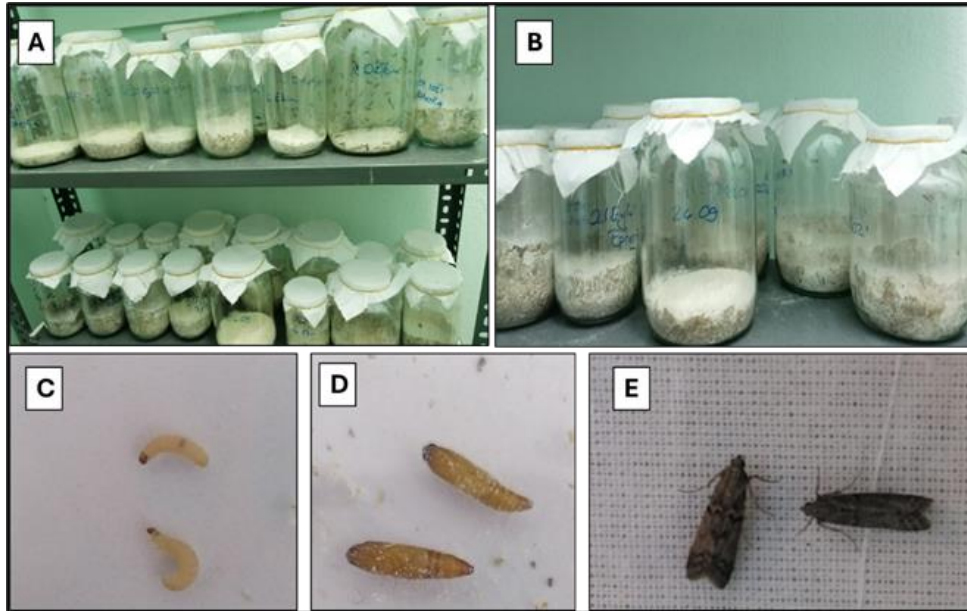
mallochii'nin iki farklı depo zararlısının gelişim biyolojisi üzerindeki etkileri kriter olarak kullanıldı. Bu çalışma *P. mallochii*'nin insektisidal aktivitesinin varlığının araştırıldığı ilk çalışmadır. İsektisidal aktivite çalışmaları dikkate alınarak yapılan etkileşim çalışmalarında ise paylaşılan konağa yapılan uygulamanın zamanlaması değiştirilerek parazitoit ve fungus arasındaki konak içi etkileşimlerin sonucu üzerindeki değişiklikler değerlendirildi. Bu çalışmalara ek olarak *P. mallochii*'nin kullanılabilceği en iyi doz değerinin belirlenebilmesi için genotoksisite, sitotoksisite ve mikotoksin çalışmaları yapıldı. Fungal ekstrelerin/konidiaların parazitoit böceklerle etkileşimi ve uyumluluğu biyolojik kontrol çalışmalarına katkı sağlayarak tehlikeli pestisit kullanımını azaltacaktır.

2. MATERYAL VE YÖNTEMLER

2.1 Depo Zararlısı Böceklerin Üretilmesi

2.1.1 *C. cautella* ve *E. kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae)

Konak olarak önemli bir depo zararlısı olan Lepidoptera takımının Pyralidae familyasına ait *C. cautella* (incir güvesi) ve *E. kuehniella* (un güvesi) kullanıldı. Güvelere ait laboratuvar stok ve süksesif kültürlerinin kaynağını, araştırma laboratuvarımızda bulunan ve içinde larva, pup ve erginlerinin bulunduğu çekirdek kültürler oluşturdu (Şekil 2.1 ve 2.2). Bu kültürlerden her gün (hafta sonu hariç) dişi ve erkek erginler alınıp içerisinde besin bulunan çeşitli hacimlerdeki cam kavanozların içine bırakılarak hava sirkülasyonu için kavanozların ağzı bez ile kapatıldı. İncir güvesini beslemek amacıyla %40 mısır unu, %40 ince kepek ve %20 pekmezden oluşan un karışımı, un güvesini beslemek için ise %40 buğday unu, %20 mısır unu, %20 arpa unu ve %20 ince kepekten oluşan un karışımı kullanıldı. Çekirdek, stok ve süksesif kültürler $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, $\%65\pm 5$ nispi nem ve 12:12 saat (Aydınlık: Karanlık) foto-periyot şartları devam ettirilen laboratuvarında yetiştirildi (Boz, 2013; Shakarami vd., 2015). Laboratuvarın sıcaklığı 9000 BTU klima ve termostatlı radyatör kullanılarak, nispi nemi ise radyatörün her iki yanına asılan içi su dolu plastik kaplarla sağlandı. Laboratuvara ait sıcaklık ve nem değerleri TFA 30.5013 marka dijital iç-dış oda termo-higrometresi ve maksimum-minimum termometre ile devamlı olarak takip edildi (Usta, 2021).



Şekil 2.1: *E. kuehniella* kültürleri a-b) Stok ve süksesif kültürler, c) Larva evresi, d) Pup evresi, e) Ergin evresi.

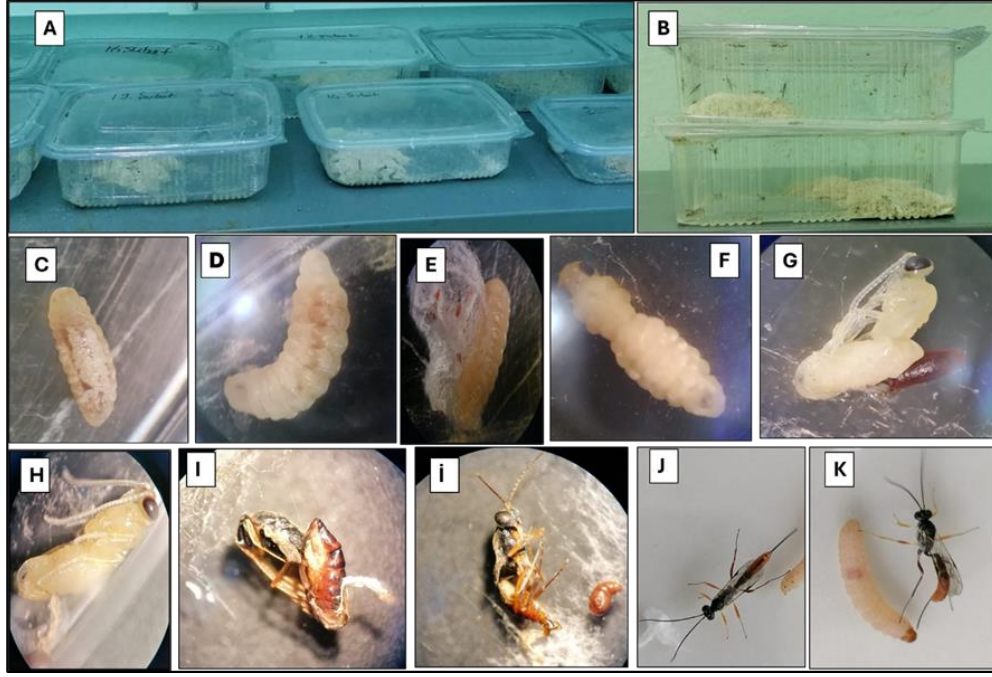


Şekil 2.2: *C. cautella* kültürleri a-b) Stok ve süksesif kültürler, c) Larva evresi, d) Pup evresi, e) Ergin evresi.

2.2 Larva Parazitoiti Böceklerin Üretilmesi

2.2.1 *V. canescens* Gravenhorst (Hymenoptera: Ichneumonidae)

Çalışmalarda kullanılan parazitoit *V. canescens* Hymenoptera takımının Ichneumonidae familyasına aittir. *V. canescens*'in laboratuvar stok ve süksesif kültürlerinin kaynağını, araştırma laboratuvarımızda bulunan *V. canescens* erginleri oluşturdu (Şekil 2.3). Erginlerin beslenmeleri için %50 oranında sulandırılmış çiçek balı çözeltisi emdirilmiş nohut büyüklüğündeki pamuklar kullanıldı. Ergin parazitoitler konak *E. kuehniella* son evre larvalarının bulunduğu 0,5 Lt'lik şeffaf plastik kutulara yerleştirildi (Özkan, 1999; Boz, 2013). Kutuların içinde hava akımının sağlanabilmesi için yanlarına toplu iğne ile eşit sayıda delikler açılarak, parazitoit kültürü $25\pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklık, 65 ± 5 nispi nem ve 12:12 saat (Aydınlık: Karanlık) fotoperiyot şartları devam ettirilen bir laboratuvarında yetiştirildi. Laboratuvarın sıcaklığı 9000 BTU klima ve termostatlı radyatör kullanılarak, nispi nemi ise radyatörün her iki yanına asılan içi su dolu plastik kaplarla sağlandı. Laboratuvara ait sıcaklık ve nem değerleri TFA 30.5013 marka dijital iç-dış oda termohigrometresi ve maksimum-minimum termometre ile devamlı olarak takip edildi (Özkan, 1999; Boz, 2013).



Şekil 2.3: *V. canescens* kültürleri a-b) Stok ve süksesif kültürler, c-d-e) Konaktan çıkan larva evreleri, f-g-h) Pup evresi aşamaları, i-i) Ergin çıkış süreci, j-k) Ergin evresi.

2.3 Fungus Kültürünün Hazırlanması

Fungus kültürünün hazırlanmasında Malt Extract Broth (CM0057B) ve Agar (Oxoid, CM 59) kullanıldı. Tanılama da kullanılan besiyerleri ise Czapek-Dox-Agar (CDA, Millipore, 70185), Sabouraud Dextrose Agar (SDA, Millipore, 1.05438), Malt Extract Agar (MEA, Oxoid, CM 59), Potato Dextrose Agar (PDA, Millipore, P6685) ve Yeast Extract Agar (YEA, Merck) dir. Petriler, fungusun makroskopik ve mikroskopik özelliklerini belirlemek ve konidial süspansiyon/ekstre hazırlanması için kullanıldı (Raper ve Thom, 1949; Domsch vd., 1980; Samson vd., 1981). Stok kültür, Balıkesir Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Mantar Herbariumunda CB-16 kod numarası ile derin dondurucuda (-20°C) MEA ortamında muhafaza edildi.

2.4 Klasik İdentifikasyon

2.4.1 Mikroskopik ve Makroskopik İnceleme

Fungus kültürünün klasik yöntemlerle tanılanmasında CDA, MEA, PDA, YEA ve SDA kullanılarak hazırlanan petri kaplarındaki besiyerlerinin yüzeyine üç nokta yöntemi kullanılarak aşılama yapıldı ve petriler 28°C'de 14 gün inkübe edildi. Tanılama amacıyla, makroskopik incelemede, koloni çapı, koloni yüzey rengi, tekstürü, koku, koloni alt yüzey rengi, zonasyon ve eksüda gibi morfolojik özellikleri incelendi. Mikroskopik yapılarının (spor, fiyalid, konidioforlar, konidia, kleztotezyum, varsa eşeyli üreme sonucu oluşmuş

yapıların varlığı) incelenmesi için Scotch tape (Larone, 1995) ve Lam lamel kültür tekniğine (Fujita, 2013) göre hazırlanan preparatlar kullanıldı. Scotch tape yöntemi için preparat hazırlanırken lam üzerine bir damla Lactophenol Cotton Blue (Sigma, Aldrich) çözeltisi damlatıldı.

2.5 Moleküler İdentifikasyon

2.5.1 Genomik DNA (gDNA) İzolasyonu

İzolatlardan genomik DNA izolasyonu için Plant DNeasy (Qiagen Inc.) kiti kullanıldı ve kit protokolü takip edildi. Bunun için küfler 10 gün süre ile uygun sıcaklık (28 °C) ve koşullarda inkübe edildi. Yaklaşık 100 mg misel havanda sıvı azot ile ezildi ve kit prosedürü takip edilerek DNA izolasyonu tamamlandı.

2.5.1.1 PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Birleşenleri

PZR’de kullanılan birleşenler ve konsantrasyonları Tablo 2.1’de belirtildi.

Tablo 2.1: PZR’de kullanılan birleşenler ve konsantrasyonları.

Kullanılan PZR Birleşeni	Miktar/Konsantrasyon
NH4SO4 Tamponu	10 X
DMSO	%10
MgCl2 3 µL	25 mM
ITS-4	50 pmol/µL
ITS-5	50 pmol/µL
dNTP 0.8 µL	10 mM
DNA	10 ng
Taq DNA Polimeraz	1.5 Ünite
dH2O	Kalan miktar 50 µL’ ye tamamlanır
Toplam	50 µL

2.5.1.2 PZR’ de kullanılan Primerler ve Özellikleri

Kullanılan primerler Macrogen (Kore) firmasından temin edildi. Liyofilize olarak temin edilen primerler 1 mL dH₂O içerisinde çözülerek stok hazırlandı. Her bir primerden, son konsantrasyonu 50 nmol olacak şekilde çalışma solüsyonu hazırlandı. Çalışmada kullanılan primerlerin nükleotid dizileri ve çalışma sıcaklıkları Tablo 2.2’de verildi.

Tablo 2.2: Kullanılan primerler in nükleotid dizileri ve çalışma sıcaklıkları.

Primer Nükleotid Dizisi(5’-3’)	Çalışma Sıcaklığı	Referans
ITS-4 TCCTCCGCTTATTGATATGC	50 °C	Sang vd.,1995
ITS-5 GGAAGGAGAAGTCGTAACAAG	50 °C	White vd., 1990

2.5.1.3 Agaroz Jel Elektrofrezinde Kullanılan Tamponlar

Agaroz jel elektrofrezinde Tris-borate ve EDTA solüsyonları Tablo 2.3'te belirtilen konsantrasyonlarda kullanıldı.

Tablo 2.3: (0,5)xTBE (Tris-Borate) tampon.

Stok solüsyon	Son Konsantrasyon
1 M Tris-borate	0,045 M
0,5 M EDTA (pH 8)	0,001 M

2.5.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu

İzole edilen gDNA kalıp olarak kullanılarak, PZR (polimeraz zincir reaksiyonu) ile izolatların identifikasyonları için, *ITS* nükleer ribozomal DNA *ITS* (internal transcribed spacer) gen bölgesi çoğaltıldı. PZR toplam reaksiyon hacmi 50 µL olacak şekilde Tablo 2.1'de belirtilen birleşenler kullanılarak bir PZR tüpüne eklendi. Karışıma son olarak enzim eklendi. PZR'de kullanılacak malzemeler çalışma esnasında buz üzerinde muhafaza edildi. PZR amplifikasyonları Progene Thermal Cycler (Techne, UK) cihazında ve Tablo 2.4'te belirtilen programa göre yapıldı.

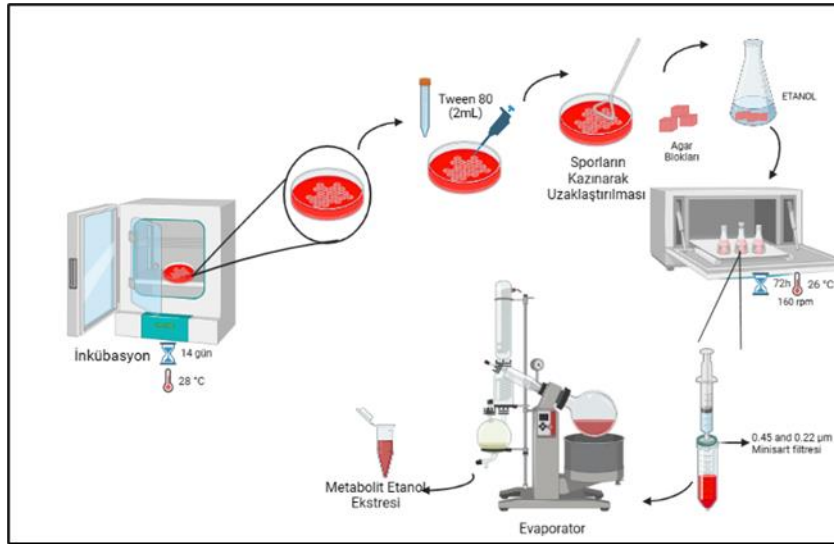
PZR ürünlerinden 5 µL alınarak 0,5 mg/L Etidyum bromür içeren %0.8 (w/v) agaroz jel hazırlanarak oluşturulan kuyulara 6X yükleme boyası Thermo Scientific™ (U.S.) ile yüklendi ve agaroz jel elektrofrez yapıldı. Markör olarak Thermo Scientific™ GeneRuler SM0133 (U.S.) kullanıldı. Örnekler, elektrofrez yürütülerek ve UV transilimünatör ile görüntülendi. PZR ürünleri ticari olarak dizileme yapan Macrogen (Kore) aracılığı ile hizmet alımı şeklinde dizilendi. Elde edilen DNA dizilerinin düzenlenme, contig oluşturma ve hizalanma işlemleri BioEdit (Hall, 1999) filogenetik analizi PAUP4.0b10 4-(Swofford, 2002) gibi bu amaçla tasarlanmış yazılımlar aracılığıyla yapıldı.

Tablo 2.4: PZR amplifikasyonlarında kullanılan program.

Basamak	Sıcaklık	Zaman	Devir Sayısı
Ön ısıtma	94 C °	5 dk.	1 devir
1. döngü	94 C °	45 sn.	35 devir
2. döngü	50 C °	45 sn.	
3. döngü	72 C °	2 dk.	
Final Uzama	72 C °	10 dk.	1 devir
Saklama	4 C °	∞	

2.6 Etanol Ekstrelerinin Hazırlanması

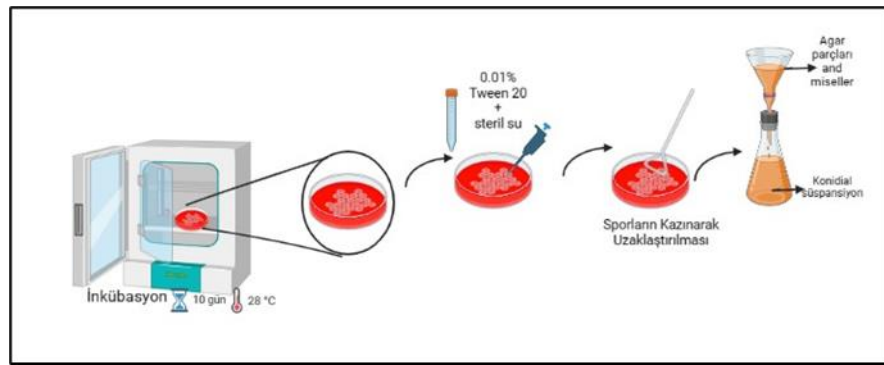
Fungustan etanol ekstresi hazırlamak için MEA kullanıldı ve 28°C'de 14 gün boyunca inkübe edildi (Velmurugan vd., 2010). İnkübasyon süresi ve koloni gelişimi tamamlandıktan sonra her bir petriye 2 mL Tween 80 ilave edilerek, sporları kazınarak uzaklaştırıldı. Sporları alınan agarlar daha küçük parçalara ayrıldı. Etanol içeren (w/v: 1/2) bir balon içine 20 petriden toplanan agar blokları (100 g) ilave edildi ve fungus metabolitlerinin çözücüye geçmesini sağlamak için çalkalayıcıda (ZHWHY-211D) 26°C'de 160 rpm'de 72 saat çalkalandı. Daha sonra elde edilen solüsyon 0,45 ve 0,22 µm Minisart filtrelerden (Supelco) geçirildi. Çözücü, dönerli buharlaştırıcı (IKA RV 10 basic) ile buharlaştırılarak ve konsantre etanol ekstresi elde edildi (Şekil 2.4). Hazırlanan ekstre, liyofilizatör (CHRIST ALPHA 1–2 LD) ile liyofilize edildi (Velmurugan vd., 2010; Bouhri vd., 2020). Ekstre -20°C'de derin dondurucuda kullanılıncaya kadar saklandı.



Şekil 2.4: Etanol ekstresinin hazırlanması (Biorender.com).

2.7 Konidial Süspansiyonların Hazırlanması

Konidial süspansiyonun hazırlanması için fungus karanlıkta 28°C'de 14 gün boyunca MEA'da yetiştirildi. İnkübasyon süresi ve koloni gelişimi tamamlandıktan sonra petri kutularına %0,01 Tween 20 ile hazırlanan 10 mL steril su ilave edilerek cam baget ile dikkatlice kazınarak sporlar elde edildi. Süspansiyon hazırlanırken 4 katlı gazlı bezden 50 mL'lik steril tüplere süzülerek misel ve agar parçaları uzaklaştırıldı (Şekil 2.5). Süspansiyonun konidia sayısı mikroskop altında Thoma lamı üzerinde sayılarak, gerekli konsantrasyonlarda dilüsyonlar yapıldı ve 1 mL'de 1×10^9 konidia olacak şekilde ayarlandı (Fancelli vd., 2013).



Şekil 2.5: Konidial süspansiyonların hazırlanması (Biorender.com).

2.8 *P. mallochii* Dozlarının Belirlenmesi ve Uygulanması

2.8.1 Ekstre Dozlarının Belirlenmesi ve Uygulanması

P. mallochii etanol ekstresinin *C. cautella* ve *E. kuehniella*'nın gelişim biyolojisini nasıl etkilendiğini gözleyebilmek için doz aralığı belirleme ön çalışmaları yapıldı. Ekstrenin toksik etkilerini belirlemek amacıyla kontrol grubuna ek olarak 6 farklı konsantrasyon (0,1, 0,5, 1, 2, 5, 10 mg/mL) hazırlandı. Konsantrasyonlar hazırlanırken, *P. mallochii* etanol ekstraktı 0,5 g olacak şekilde tartıldı ve 10 mL PBS (Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi) içerisinde çözüldü. Ana stok konsantrasyonu 50 mg/mL olarak elde edildi. Çalışmada kullanılacak konsantrasyonlar ana stoktan seyreltmeler yapılarak hazırlandıktan sonra, topikal aplikasyon yöntemiyle son evre larvaların dorseline (protorakstan başlayarak dorsal boyunca bir çizgi halinde) 5 µL olarak mikropipet ile uygulandı (Luo vd., 2015; Luo vd., 2017). Deneyler üç tekrarlı olacak şekilde yapıldı ve PBS kontrol grubu olarak kullanıldı. Bu çalışmalar sonucunda, probit analizi ile etanol ekstresinin canlılar için öldürücü değerleri belirlenerek LD₅₀ ve LD₉₉ değerleri hesaplandı.

2.8.2 Konidial Süspansiyon Dozlarının Belirlenmesi ve Uygulanması

P. mallochii konidial süspansiyon dozlarından 1×10^7 konidia/mL tek doz olarak son dönem böcek larvalarının (25 ± 4 mg) toraks dorsaline mikropipet yardımıyla topikal aplikasyon yöntemi ile her bir bireye 5 μ L olarak uygulandı (Safavi vd., 2010). Konidial süspansiyon dozlarına bağlı olarak *C. cautella* ve *E. kuehniella*'nın gelişim biyolojisinin nasıl etkilendiğini gözleyebilmek için doz aralığı belirleme ön çalışmaları yapıldı. Fungal sporların toksik etkilerini belirlemek amacıyla kontrol grubuna ek olarak beş farklı konsantrasyon (1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 ve 1×10^9 konidia/mL) hazırlandı, topikal aplikasyon yöntemiyle son evre larvaların dorsaline (protorakstan başlayarak dorsal boyunca bir çizgi halinde) 5 μ L konidial süspansiyon mikropipet ile uygulandı.

Doz uygulanan böcekler $26 \pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklıkta karanlık oda koşullarında üç gün süre ile gözlem altına alındı. İnceleme sonucu ölen larvalar fungal gelişim gerçekleşmeden önce White Tuzağı'ndan uyarlanan bir tuzak üzerine yerleştirildi. Bu tuzağı oluşturmak için, orta boy (9 cm çaplı) petri kaplarının içerisine küçük boy (6 cm çaplı) petri kabı konularak üzerine 7 cm çapında filtre kâğıdı yerleştirildi. Petri kaplarına 15 mL saf su ilave edildikten sonra, küçük petri kaplarının üzerindeki filtre kağıtlarına larvalar yerleştirildi. Larvalar, nemli filtre kâğıtlarının bulunduğu petri kaplarında $26 \pm 2^\circ\text{C}$ ayarlı inkübatörde 7-10 gün inkübasyona bırakıldı (Orozco vd., 2014). Yaşamaya devam eden larvalar için ise gelişim biyolojisi çalışmalarına devam edildi. Deneyler üç tekrarlı olacak şekilde yapıldı ve PBS kontrol grubu olarak kullanıldı. Bu çalışmalar sonucunda, probit analizi ile konidial süspansiyon dozlarının canlılar için öldürücü değerleri belirlenerek LD_{50} ve LD_{99} değerleri hesaplandı.

2.9 *P. mallochii*'nin Depo Zararlısı Böceklerin Gelişim Biyolojisine Etkisi

Farklı konsantrasyonlarda (0,1, 0,5, 1, 2, 5, 10 mg/mL) etanol ekstresi ve farklı konsantrasyonlarda konidial süspansiyon (10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 konidia/mL) dozları uygulanan *E. kuehniella* ve *C. cautella* larvaları 60x15 mm ölçülerde plastik petrilere alındı. Petrilere $26 \pm 2^\circ\text{C}$ 'ye ayarlı (%65 \pm 5 nem oranı olan) 12:12 oranlarında fotoperiyot uygulanan etüv içerisine konuldu. Uygulanan maddelerin gelişim biyolojisine etkilerini belirlemek amacıyla 40 gün boyunca her gün için gözlem çizelgeleri tutuldu.

2.9.1 Koza Örme Süresi

Deney grubu (farklı konsantrasyonlardaki etanol ekstresi ile konidial süspansiyon uygulanmış) ve kontrol grubu larvalarda; her larvanın petriye alındığı andan itibaren kozayı

tam olarak tamamlamasına kadar geçen süre (gün) koza örme süresi olarak kaydedildi. Her birey için günlük değişimler ayrı ayrı takip edildi.

2.9.2 Puplaşma Süresi

Deney grubu (farklı konsantrasyonlardaki etanol ekstresi ile konidial süspansiyon uygulanmış) ve kontrol grubu larvalarda; larvaların petriye alındığı andan itibaren pup oluncaya kadar geçen süre (gün) puplaşma süresi olarak kaydedildi. Her birey için günlük değişimler ayrı ayrı takip edildi.

2.9.3 Pupal Periyot

Deney grubu (farklı konsantrasyonlardaki etanol ekstresi ile konidial süspansiyon uygulanmış) ve kontrol grubu larvalarda; larvaların pup olarak geçirdiği süre pupal periyot olarak kaydedilerek her birey için günlük değişimler ayrı ayrı takip edildi.

2.9.4 Ergin Öncesi Gelişim Süresi

Deney grubu (farklı konsantrasyonlardaki etanol ekstresi ile konidial süspansiyon uygulanmış) ve kontrol grubu larvalarda; larvaların ergin birey oluncaya kadar geçirdiği süre (gün) ergin öncesi gelişim süresi olarak belirlendi.

2.9.5 Ergin Hayat Uzunluğu

Deney grubu (farklı konsantrasyonlardaki etanol ekstresi ile konidial süspansiyon uygulanmış) ve kontrol gruplarında larvalardan erginleşen bireylerin her gün aynı saatte petriyerdeki günlük değişimleri takip edilerek her bireyin ergin olduktan sonra ölümüne kadar geçen süreleri (gün) ergin hayat uzunluğu olarak belirlendi.

2.9.6 Ağırlık

Deney grubu (farklı konsantrasyonlardaki etanol ekstresi ile konidial süspansiyon uygulanmış) ve kontrol gruplarında larvalardan erginleşen bireylerin ağırlıkları tartılarak mg olarak belirlendi.

2.9.7 Toplam Yumurta Sayısı

Deney grubu (farklı konsantrasyonlardaki etanol ekstresi ile konidial süspansiyon uygulanmış) ve kontrol gruplarında larvalardan erginleşen dişi bireyler tespit edildiğinde petri içine sarı renkli zigzag şeklinde katlanmış kağıtlar yerleştirilerek dişilerin yumurta bırakması sağlandı. Ergin dişilerin bıraktığı yumurtalar bireyler ölene kadar her gün aynı saatte sayılarak yumurta verimi tespit edildi.

2.10 Sitotoksisite Analizleri

Çalışmamızda kullanılan fungusa ait etanol ekstresinin sitotoksisite testleri Tübitak MAM'da GEN162 Sitotoksisite Testleri (ISO 10993-5) referansı ile hizmet alımı olarak yaptırıldı. Sitotoksisite; canlı hücreler üzerindeki toksik etki oranıdır ve toksik olduğu düşünülen maddenin, uygun hücre kültüründe, hücre çoğalma oranı dikkate alınarak belirlenir. Bu test; morfolojik olarak hücresel hasarın gözlenmesi, hücresel hasarın çeşitli ölçüm yöntemleri ile belirlenmesi, hücresel büyümenin belirlenmesi, hücresel metabolizmadaki herhangi bir değişikliğin belirlenmesi amacıyla yapılmaktadır. Sitotoksisite testleri "OECD Akut Oral Sistemik Toksikite Testleri için başlangıç dozu belirlenmesi için Sitotoksisite testlerinin uygulanması test kılavuzu no:129'da yer alan standartlar dikkate alınarak yapıldı.

Çalışmada yeni bileşikleri test etmek ve memeli sistemine uygunluğu dolayısıyla L929 (NCTC clone 929) fare fibroblast hücre soyu kullanıldı. Besiyeri olarak Dulbecco's Minimum Essential Medium (DMEM, Sigma Cat# D0547, lot# SLBH5487) ve katkı maddeleri %10 Fetal bovin serum (FBS, heat inactivated, Gibco, #10500-064)+ 1% antibiotic-antimycotic solüsyon (Gibco, #15240-062),+ 1% GlutaMax (Gibco, #35050061), 1% Sodium Pyruvate (Gibco, #11360070) kullanıldı. Etanol ekstresi için 200 mg örnek 1 mL serum içeren besiyeri (DMEM) içinde çözülerek, (200 mg/mL) hazırlandı. Daha sonra 200 mg/mL-0.2 mg/mL doz aralığında 1:2 oranında dilüsyonları hazırlandı. L929 hücre hattı 12×10^3 hücre/kuyu olacak şekilde 96'lık kuyulara ekilerek 24 saat 37°C, %5 CO₂'de inkübe edildi. Hazırlanmış olan örnekler hücrelerin üzerine eklendi ve 24 saat 37°C, %5 CO₂'de inkübe edildi. 5 mg/mL MTT (3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide, Sigma #5655) içeren besiyeri kuyulara eklenerek 4 saat inkübasyondan sonra oluşan formazan kristallerini çözmek için kuyulara 100 µL DMSO eklenerek çalkalayıcıya bırakıldı. 96'lık wellplate canlılık testi için mikropate okuyucuda 570 nm ve 650 nm referans dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.

2.11 Genotoksisite Analizleri

Çalışmamızda kullanılan etanol ekstresinin genotoksisite testleri Tübitak MAM'da Gen 203 Genotoksisite Testi *in-vitro* Komet testi referansı ile hizmet alımı olarak yaptırıldı. Genotoksisite testi, *In-vitro* Komet testi: Tek hücre DNA hasar tespiti, genotoksik ajanların memeli hücrelerde DNA zincir kırıklarını ölçme esasına dayanır. Hücreler, mikroskop lamı üzerine kaplanan agaroz jel içerisine gömülerek deterjan ve yüksek tuz konsantrasyonuyla

hücrelerin bütün membranları parçalanır ve DNA serbest hale geçer. Bu serbest hale geçen DNA'da olası genotoksisite nedeniyle oluşan kırıklar elektriksel alanda ve yüksek pH'da yürütüldükten sonra florofor bir madde ile boyanarak floresan mikroskop altında incelenir. DNA'nın hasar görmeyen bazı kısımları tam olarak görülmekteyken, hasarlı kısımları kayan bir kuyruklu yıldız şekli gösterir. Bu oluşan kuyruk kısmı ile baş kısmının oranı genotoksik etkiyi belirlenmesinde kullanılır.

Komet testi OECD TG 489 *In-vivo* Memeli Alkalin Komet testi ve komet testi: tek hücre DNA hasarı tespiti metodu Nature protokolü (Olive ve Banath, 2006) ve validasyon çalışmaları (Tice vd., 2000) dikkate alınarak gerçekleştirildi. *In vitro* komet testi validasyon çalışmalarında önerilen Çin memeli hücrelerinden hemstir yumurtalık hücre soyu (CHO-K1) temsil etmeye uygunluğu dolayısıyla seçildi. Besiyeri olarak Dulbecco's Modified Eagle Medium: Nutrient Mixture F-12 (DMEM/F12) (Sigma Cat # 6421-500 m L, RNBD2526) +%10 fetal bovin serum (FBS) (Biochrom AG Cat #S0115, lot#1241W)+ penisilin streptomisin (Sigma, Cat #P4333-20 mL, lot #SLBC1092, %25 Tripsin-EDTA (Gibco Cat#25200-056, lot #1161201) kullanıldı. Etanol ekstresi için 200 mg örnek 1 mL serum içeren besiyeri (DMEM) içinde çözülerek, (200 mg/mL) hazırlandı. Daha sonra 200 mg/mL-0,2 mg/mL doz aralığında 1:2 oranında dilüsyonları hazırlandı.

Komet testi için örneğin uygulama dozunun, hücre canlılığının %70'ten az olmayan dozu uygulanması gerekmektedir. Bu nedenle öncelikle ekstre CHO-K1 hücrelerine uygulanarak MTT testi yapıldı. CHO-K1 hücre hattı 12×10^3 hücre/kuyu olacak şekilde 96'lık kuyulara ekilerek 24 saat 37°C, %5 CO₂'de inkübe edildi. Hazırlanan örnekler hücrelerin üzerine eklendi ve 24 saat 37°C, %5 CO₂'de inkübe edildi. 5 mg/mL MTT (3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide, Sigma #5655) içeren besiyeri kuyulara eklenerek 4 saat inkübasyondan sonra oluşan formazan kristallerini çözmek için kuyulara 100 µL DMSO eklenerek çalkalayıcıya bırakıldı. 96'lık wellplate canlılık testi için mikroplate okuyucuda 570 nm ve 650 nm referans dalga boyunda absorban ölçümü yapıldı.

2.11.1 İn-vitro Komet testi

2.11.1.1 Doz-Cevap İlişkisi

CHO-K1 hücreleri sayılarak 40×10^3 hücre/kuyu olacak şekilde 24'lük kuyulara ekildikten sonra 37°C'de, %5 CO₂ koşullarında 24 saat inkübe edildi. Pozitif kontrol "Ethyl methansulfonate" (EMS) 40 mM ve negatif kontrol olarak çözücü solüsyon DMEM besiyeri kullanıldı. Hazırlanan örnek 0,02 mg/mL konsantrasyonunda 24 kuyulu tepsilere hücrelerin

üzerine eklenerek 24 saat 37°C, %5 CO₂'de inkübe edildi. Ekstre ile inkübe edilen test hücreleri ve kontrol hücreleri tripsinize edildikten sonra pipetaj yapılarak hazırlanan homojen hücre süspansiyonu hemositometre ile sayılarak ve 16 x 10³ hücre/mL yoğunlukta olacak şekilde PBS içerisinde hücre süspansiyonu hazırlandı.

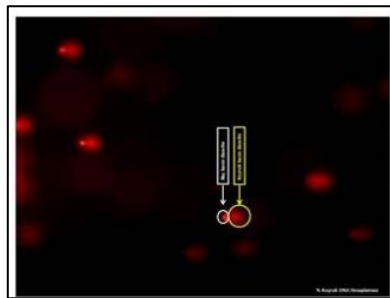
2.11.1.2 Hücre Lizisi ve Elektroforez

Bu yöntem, düşük erimeli agarozdaki hücre süspansiyonunun lam üzerindeki %1'lik agaroz üzerine ekilmesi ve elektriksel alanda göç ettirilmesi prensibine dayanmaktadır. Lamlar ilk olarak %1 agaroz ile kaplandı. Kontrol ve örneğe maruz kalan PBS içerisindeki hücre süspansiyonundan 16x10³ hücre 200 µL içerisinde alınarak low melting agaroz ile belli oranda karıştırılıp lam üzerine yayıldı. Daha sonra, lamlar agaroz içerisinde bulunan hücrelerin membranlarını patlatmak amacıyla lizis tampona alınmış ve gece boyunca +4°C'de karanlıkta bekletildi. Ertesi gün üç defa alkalın yürütme tamponunda (pH ≥ 13) 20'şer dakika süreyle yıkandı. 13 V, 0,03 mA'de 25 dakika elektroforez yapılmış ve arkasından distile su ile yıkandı. Lamların üzerindeki hücelere 100'er µL 1/1000 seyreltilmiş floresan SYBR Gold nükleik asit jel boya solüsyonu eklenerek 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Lamlardaki hücrelerin görüntüsü flüoresans mikroskop ile 495 nm/537 nm dalga boylarında 40x objektif ile görüntülendi.

2.11.1.3 Nicel ve Nitel Değerlendirme Metodu

Slaytların flüoresans mikroskop ile görüntüleri alındıktan sonra “% kuyruk DNA” değerleri NIH Image J programı aracılığıyla hesaplandı. “Baş kısım dansite” ve “kuyruk kısım dansite” bölgeleri Şekil 2.6'de gösterildiği gibi işaretlenmiş olup “entegre DNA miktarı hesaplandı.

Elde edilen veriler: % Kuyruk DNA = 100 x Kuyruk DNA dansitesi /Hücre DNA dansitesi formülünde yerine konarak ve 50'şer adet hücre incelenerek hesaplandı. Deneyler üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi.



Şekil 2.6: Tek hücre DNA hasar tespiti.

2.12 Mikotoksin Analizleri

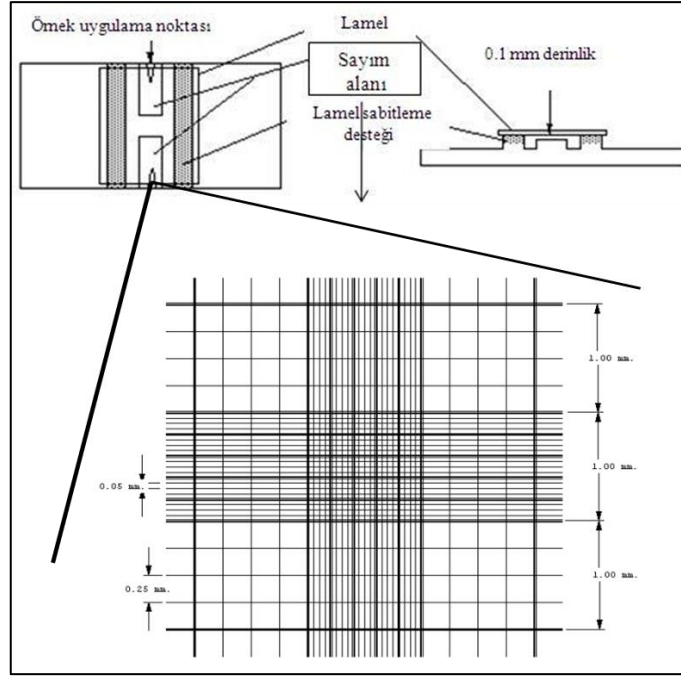
P. mallochii için Mikotoksin analizleri Tubitak MAM'a G116 Aflatoksin (B1, B2, G1, G2) (AOAC 999.07, AOAC 999.31, D.05.G116, işletme içi metot-HPLC FLD, Okratoksin A (Rhone- Diagnostics Tech.Instr.-Ochratoxin A Analysis in Cereals, D.05.G119, işletme içi metot-HPLC UV) referansı ile hizmet alımı olarak yaptırıldı.

2.13 Toplam Hemosit Sayılarının Belirlenmesi

E. kuehniella'ya farklı konsantrasyonlardaki etanol ekstresi ve konidial süspansiyon uygulanmasının toplam hemosit sayısına etkilerinin belirlendiği çalışmalarda etanol ekstresi için 10, 5, 2, 1, 0,5 ve 0,1 mg/mL konidial süspansiyon için ise 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 ve 1×10^9 konidia/mL dozları taze olarak hazırlandı. Dozlar bekletilmeden larvalara topikal aplikasyon yöntemiyle toraks dorsalinden mikropipet yardımıyla uygulandı. Uygulama yapılan bireyler 60x15 mm ölçülere sahip plastik petrilere alınıp uygulama saatleri dolana kadar $26 \pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklık $65 \pm 5\%$ nem oranına sahip 12:12 oranlarında foto-periyot uygulanan etüvlerde bekletildi. Doz uygulamasından 24 ve 48 saat sonrasında larvalardan hemolenf alınıp hemosit sayıları belirlendi (Er, 2011).

Kontrol gruplarını herhangi bir işleme tabi tutulmamış bireylerden oluşan gruplar ve PBS uygulanmış gruplar oluşturdu. Deney grupları oluşturulurken her bir doz ve kontrol grubu için 3 tekrar halinde toplam 30'ar larva kullanıldı. Toplam hemosit sayılarının belirlenebilmesi için larvalar birinci arka bacak üzerinden ince uçlu iğne (lanset) ile delindi ve 4 μL hemolenf mikrokapiler tüp (Sigma) yardımıyla alındı. Elde edilen hemolenf örneği buz üzerinde bekletilen ve içerisinde 36 μL antikoagulant (0,098 M NaOH, 0,186 M NaCl, 0,017 M Na_2EDTA ve 0,041 M Sitrik asit, pH = 4,5) bulunan ependorf tüplerine aktarıldı. 1: 10 oranında seyreltilmiş hücre süspansiyonu mikropipet yardımıyla birkaç kez çekilip bırakılmak suretiyle karıştırıldı. Hücre süspansiyonundan 10 μL mikropipet ile çekilerek 0,100 mm derinliğe sahip Neubauer hemositometresine (Improved Neubauer Hemocytometer; Superior, Germany) yüklendi. Hemositler Olympus BX51 marka mikroskopta sayılarak 1mL hemolenfteki hemosit sayısı belirlendi (Şekil 2.7). Mililitredeki toplam hemosit sayısının hesaplanması için aşağıdaki formülden yararlanıldı (Er, 2011).

$$\text{Hücre sayısı / mL} = \text{Büyük karede sayılan hücre sayısı} \times \text{Sulandırma katsayısı} \times 10^4$$



Şekil 2.7: Neubauer hemositometresi ve sayım alanı.

2.14 Hemolenfin Anti-bakteriyel Aktivitesinin Belirlenmesi

2.14.1 Mikroorganizmalar

Antibakteriyel aktivite için Gram (+) bakterilerden *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P), *Bacillus cereus* (CCM 99) ve Gram (-) bakterilerden *Klebsiella pneumoniae* (CCM 26 2318), *Escherichia coli* (ATCC 11230), *Proteus vulgaris* (ATCC 6897) kullanıldı. Tüm mikroorganizma stokları Balıkesir Üniversitesi, Fen–Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarında saklanmaktadır.

2.14.2 Hemolenfin Toplanması

E. kuehniella'ya farklı konsantrasyonlardaki etanol ekstresi (10, 5, 2, 1, 0,5 ve 0,1 mg/mL) ve konidial süspansiyon (1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 ve 1×10^9 konidia/mL) uygulaması için dozlar taze olarak hazırlandı. Dozlar bekletilmeden larvalara topikal aplikasyon yöntemiyle toraks dorsalinden mikropipet yardımıyla uygulandı. Uygulama yapılan bireyler 60x15 mm ölçülere sahip plastik petrilere alınıp uygulama saatleri dolana kadar $26 \pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklık $\%65 \pm 5$ nem oranına sahip 12:12 oranlarında foto-periyot uygulanan etüvlerde bekletildi (Güner vd., 2023b). Doz uygulamasından 24 ve 48 saat sonrasında larvaların birinci arka bacak üzerinden ince uçlu iğne (lanset) ile delinerek hemolenfler mikrokapiler tüp (5 μL , Hirschmann) yardımıyla alındı. Toplanan hemolenflerin bulunduğu eppendorf tüpleri işlem devam ederken buz üzerinde tutuldu. Eppendorf tüplerine melanizasyonu engellemek amacıyla 0,001 g 1-phenyl-2-thiourea (Merck, CAS 103-85-5) ilave edildi (Zupko vd., 1993;

Du vd., 2020, Radwan vd., 2022; Scieuzo vd., 2023). Kontrol gruplarını herhangi bir işleme tabi tutulmamış bireyler ve 24 ve 48 süre ile PBS uygulanmış gruplar oluşturuldu. Her bir doz ve kontrol grubu için hemeolenf toplanması farklı zamanlarda her biri 20 larvadan oluşan üçer tekrarda yapıldı.

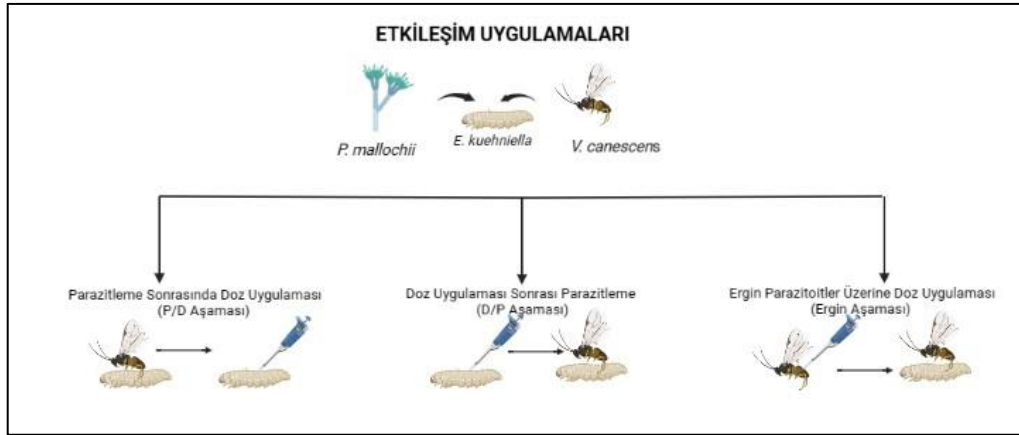
2.14.3 Disk Diffüzyon Testleri

Kalitatif antibakteriyal aktivite testleri Mueller Hinton Agar (MHA, Merck) kullanılarak disk difüzyon yöntemi (Kirby-Bauer) ile yapıldı. Çalışmada kullanılan bakterilerin 24 saatlik taze kültürlerinden 0,5 McFarland standardına eşdeğer bulanıklıkta süspansiyon hazırlandı (El-Saadony vd., 2021). Deney ve kontrol gruplarına ait hemolenf örnekleri 6 mm'lik steril boş kâğıt disklerle (Oxoid, CT0998B/Blank discs) 10 µL olarak emdirildi. Hazırlanan bakteri süspansiyonu petrilerin yüzeyine yayıldıktan sonra hemolenf emdirilen kâğıt diskler aralarında 2 cm kalacak şekilde pens yardımıyla petri yüzeyine yerleştirildi. Petriler $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edildi. Süre sonunda besiyeri üzerinde oluşan inhibisyon zonları mm olarak değerlendirilerek ve standart antibiyotik diskleri ile karşılaştırıldı (Marshall ve Arenas, 2003). Pozitif kontrol grubu olarak standart antibiyotiklerden Sulfametaxozole trimethoprim (Oxoid, CT0052B/SXT-25 µg), Tetracycline (Oxoid, CT0054B/TE-10 µg), konidial süspansiyon ve ekstre dozlarının farklı konsantrasyonları negatif kontrol grubu olarak ise PBS ve saf su kullanıldı.

2.15 Etkileşim Deneyleri

Entegre Zararlı Yönetimi (IPM) yaklaşımı, yerel ve istilacı zararlıların kontrolü için geniş çapta desteklenmekte ve kullanılmaktadır, öte yandan IPM' nin çeşitli bileşenlerinin kullanımını birbiri üzerinde sinerjik, destekleyici veya antagonistik bir etkiye sahiptir. Bu çalışmada, iki farklı biyolojik kontrol ajanının (parazitoit: *V. canescens* ve fungus: *P. mallochii*) aynı konak (*E. kuehniella*) üzerinde birlikte kullanımlarının oluşturduğu etkiyi gözlemleyebilmek için etkileşim deneyleri yapıldı. Ayrıca bu çalışma ile *V. canescens*'in *P. mallochii*'ye duyarlılığı doğrudan ve dolaylı enfeksiyon yaklaşımlarıyla değerlendirildi. Etkileşim deneylerinde *P. mallochii* konidial süspansiyon ve ekstre dozları ayrı ayrı uygulandı. Her uygulama kendi içinde üç etkileşim senaryosu şeklinde planlandı. Bu senaryolardan ilki parazitoitin larvayı parazitleme davranışı sonrasında doz uygulaması (P/D Aşaması), ikinci aşama larvaya doz uygulaması sonrası parazitleme (D/P Aşaması), üçüncü aşamada ise ergin parazitoitler üzerine doz uygulaması şeklindedir (Ergin Aşaması) (Şekil

2.8). Bu senaryolar altında parazitoitin ergin öncesi gelişim süresi, ergin hayat uzunluğu, ergin boyu ve ağırlığı üzerindeki değişimler değerlendirildi.

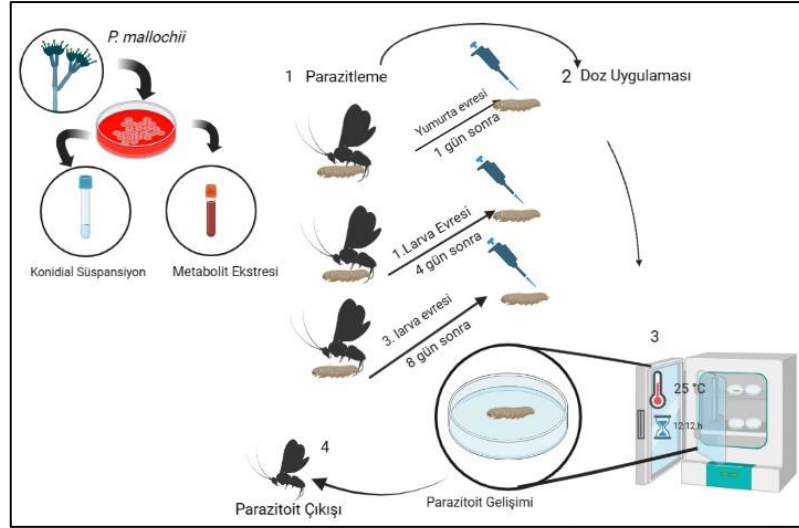


Şekil 2.8: Etkileşim uygulamaları şematik gösterim (Biorender.com).

2.15.1 Etkileşim Senaryoları

2.15.1.1 Parazitleme Sonrası Doz Uygulamasına (P/D) Bağlı Etkileşim

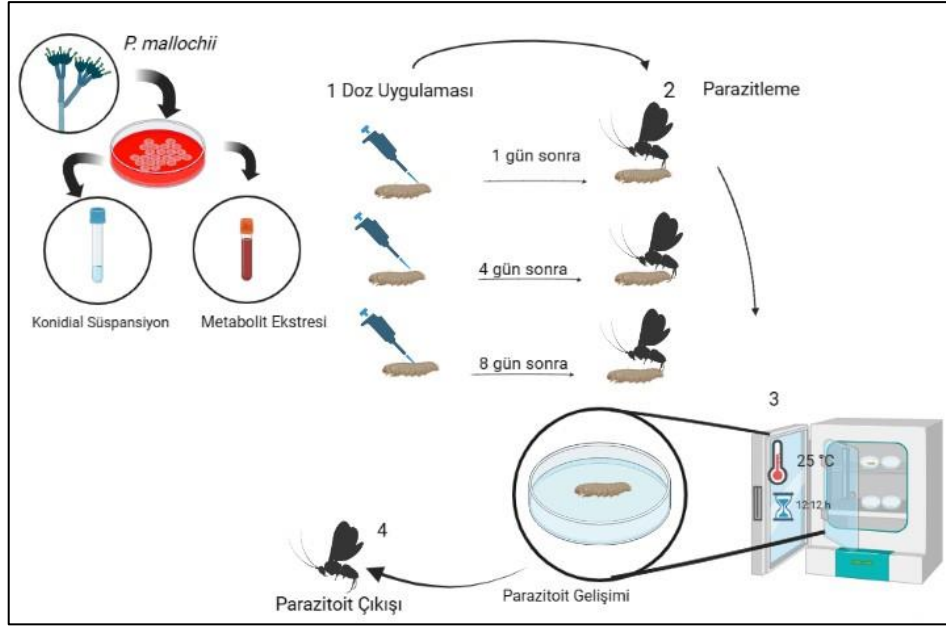
Bu aşamada *E. kuehniella* son evre larvaları ile ayrı ayrı bir araya getirilen parazitoitlerin parazitleme davranışı (konağı araştırma, konak ile temas, konağı delme ve yumurtanın konağa hazırlanışı) gözlemlendi. Parazitleme sırasında her bir son evre larvaya tek bir dişinin yumurta bırakması sağlandı. Parazitlenen larvalarda parazitoitin yumurta, 1. larva ve 3. larva evrelerinde olması için parazitleme sonrası 1., 4. ve 8. günlerde farklı konsantrasyonlarda (0,1, 0,5, 1, 2, 5, 10 mg/mL) etanol ekstresi ve farklı konsantrasyonlarda (10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 konidia/mL) konidial süspansiyon dozları ayrı ayrı uygulandı. Larvalar 60x15 mm ölçülerde plastik petrilere alınıp $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 'ye ayarlı (%65 \pm 5 nem oranı olan) 12:12 oranlarında fotoperiyot uygulanan etüv içerisine konuldu ve doz uygulaması sonrası parazitoit çıkış sayıları ve parazitoitin biyolojik gelişimi takip edildi (Şekil 2.9). Parazitoitler ile ilgili bütün deneyler farklı zamanlarda üç kez tekrar edildi.



Şekil 2.9: Parazitleme sonrası doz uygulamasına bağlı etkileşim şematik gösterimi (Biorender.com).

2.15.1.2 Doz Uygulamasından Sonra Parazitlemeye Bağlı Etkileşim (D/P Aşaması)

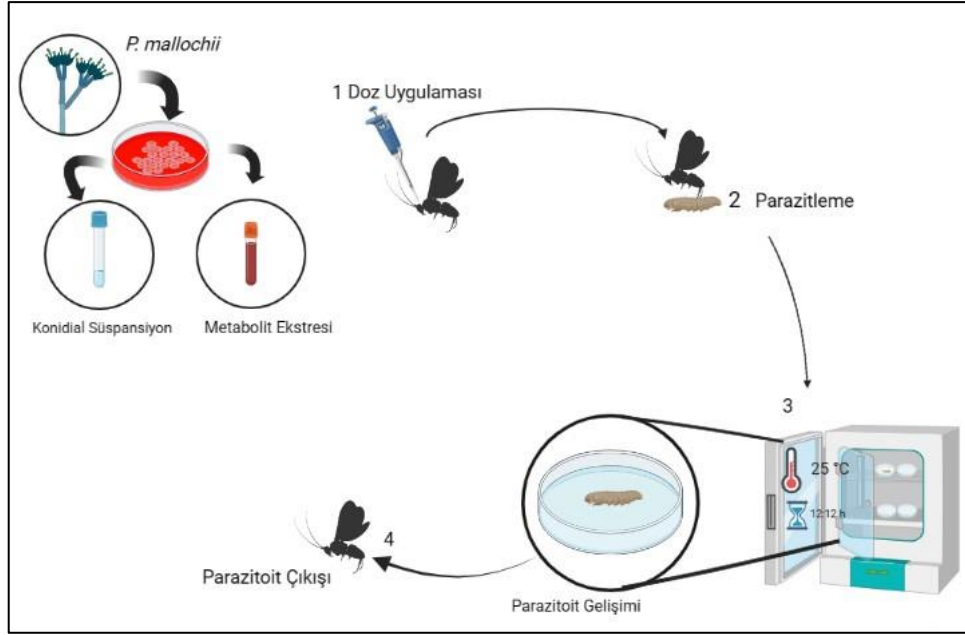
Bu aşamada farklı konsantrasyonlarda (0,1, 0,5, 1, 2, 5, 10 mg/mL) etanol ekstresi ve farklı konsantrasyonlarda (10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 konidia/mL) konidial süspansiyon dozlarına ayrı ayrı maruz bırakılmış son evre konak larvaları doz uygulamasından sonraki 1., 4. ve 8. günlerde parazitoitlere ait dişi bireyler ile bir araya getirildi. *V. canescens*'in doz uygulanmış konaklara karşı temizlenme, konağı araştırma, konak ile temas, konağı delme, konaktan sakınma, konağı araştırmama ve konaktan kaçma gibi parazitoit davranışları gözlemlendikten sonra, bu davranışların devamında, parazitleme davranışı gözlenen böcekler ile biyolojik özellik deneyine devam edilirken, parazitlenmeyen konaklar biyolojik özellik deneyinden çıkarıldı. Parazitlenen larvalar 60x15 mm ölçülerde plastik petrilere alınıp $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 'ye ayarlı ($\%65 \pm 5$ nem oranı olan) 12:12 oranlarında fotoperiyot uygulanan etüv içerisine konuldu. Parazitoit çıkış sayıları ve parazitoitin biyolojik gelişimi takip edildi (Şekil 2.10). Parazitoit bireyler ile ilgili bütün deneyler farklı zamanlarda üç kez tekrar edildi.



Şekil 2.10: Doz sonrası parazitlemeye bağlı etkileşimin şematik gösterimi (Biorender.com).

2.15.1.3 Ergin Parazitoitlere Doz Uygulanmasına Bağlı Etkileşim (Ergin Aşaması)

Bu aşamada ise farklı konsantrasyonlarda (0,1, 0,5, 1, 2, 5, 10 mg/mL) etanol ekstresi ve farklı konsantrasyonlarda (10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 konidia/mL) konidial süspansiyon dozlarına ayrı ayrı maruz kalan parazitoitler hiçbir işlem uygulanmamış konak canlılar ile bir araya getirilerek parazitlenme davranışı (temizlenme, konağı araştırma, konak ile temas, konağı delme, konaktan sakınma, konağı araştırmama ve konaktan kaçma) gözlemlendi. Parazitlenme davranışı gözlenen böcekler ile biyolojik özellik deneyine devam edilirken, parazitlenmeyen konaklar biyolojik özellik deneyinden çıkarıldı. Parazitlenen larvalar 60x15 mm ölçülerde plastik petrilere alınıp $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 'ye ayarlı (%65 \pm 5 nem oranı olan) 12:12 oranlarında fotoperiyot uygulanan etüv içerisine konuldu ve parazitoit çıkış sayıları ve parazitoitin biyolojik gelişimi takip edildi (Şekil 2.11). Parazitoit bireyler ile ilgili bütün deneyler farklı zamanlarda üç kez tekrar edildi.



Şekil 2.11: Ergin bireylere doz uygulamasına bağlı etkileşim (Biorender.com).

2.15.2 *P. mallochii*' nin *V. canescens*' in Gelişim Biyolojisine Etkisi

2.15.2.1 Ergin Öncesi Gelişim Süresi

Tasarlanan üç senaryonun her biri için ergin öncesi gelişim süresi için başlangıç, konağın parazitlendiği an kabul edilerek, ergin parazitoitin çıktığı güne kadar devam eden süreç ergin öncesi gelişim süresi olarak kabul edildi (Özkan 1999).

2.15.2.2 Hayat Uzunluğu

Tasarlanan üç senaryonun her biri için konaklardan çıkan ergin parazitoitlerin ergin oldukları gün ile öldükleri gün kaydedilerek bu süre (gün) ergin hayat uzunluğu olarak belirlendi (Özkan, 1999).

2.15.2.3 Boy Uzunluğu

Tasarlanan üç senaryonun her biri için konaklardan çıkan ergin parazitoitlerin boy uzunluğu, baştan abdomen ucuna kadar alınarak belirlendi. Deney ve kontrol grupları için boy uzunlukları ayrı ayrı ölçülerek belirlendi (Tüven, 2006).

2.15.2.4 Ağırlık

Tasarlanan üç senaryonun her biri için konaklardan çıkan ergin parazitoitlerin ağırlığı deney ve kontrol gruplarındaki her birey için ayrı ayrı tartılarak mg olarak belirlendi (Özkan, 1999).

2.16 İstatistik

E. kuehniella ve *C. cautella*'ya farklı dozlarda *P. mallochii* ekstre ve konidial süspansiyon uygulanmasına bağlı olarak elde edilen verilerin her biri için Tek Yönlü Varyans Analizi Testi (ANOVA) uygulandı. *V. canescens*'e farklı dozlarda *P. mallochii* ekstre ve konidial süspansiyon uygulanmasına bağlı olarak elde edilen verilerin zamana bağlı etkilerini değerlendirmek için Çift Yönlü Varyans Analizi Testi (ANOVA) yapıldı. Toplam hemosit sayıları ile ilgili elde edilen veriler için Tek Yönlü Varyans Analizi Testi (ANOVA) ve bağımsız iki örneklem t testleri yapıldı. Ortalamalar arası farkın önem kontrolünde Tukey HSD Testi kullanıldı (SPSS 18.0., Chicago, IL). Değerlendirmelerde 0.05 güven sınırı esas alındı.

3. BULGULAR

3.1 *P. mallochii*'nin Morfolojik Özelliklerinin İncelenmesi

Makromorfolojik özelliklerin belirlenebilmesi için fungus; farklı besiyerlerinde (MEA, SDA, CDA, YEA ve PDA) 14 gün boyunca 28°C'de inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda petrilerdeki kolonilerin makroskopik olarak büyüklüğü (cm cinsinden), şekli, üstten ve alttan rengi, eksudasyon ve pigmentasyon olup olmadığı belirlendi. Fungusun besiyerindeki koloni özellikleri binoküler araştırma mikroskobu (OPTİKA 1000PH; Olympus CX23) ile incelendi.

Malt Ekstrakt Agarda 28°C' de inkübe edilen koloniler iki haftada 3,5 cm çapa ulaşır koyu gri-turuncu, koloni kenarları düzensiz, kıvrımlı, merkezde 1,5 cm'lik daha açık gri bir zon oluşturdu. Koloni tersi sarı, turuncu sarı ve koyu turuncu ışınal renklerden oluşmaktadır. Merkezde ise turuncu kahverengi zon mevcuttur.

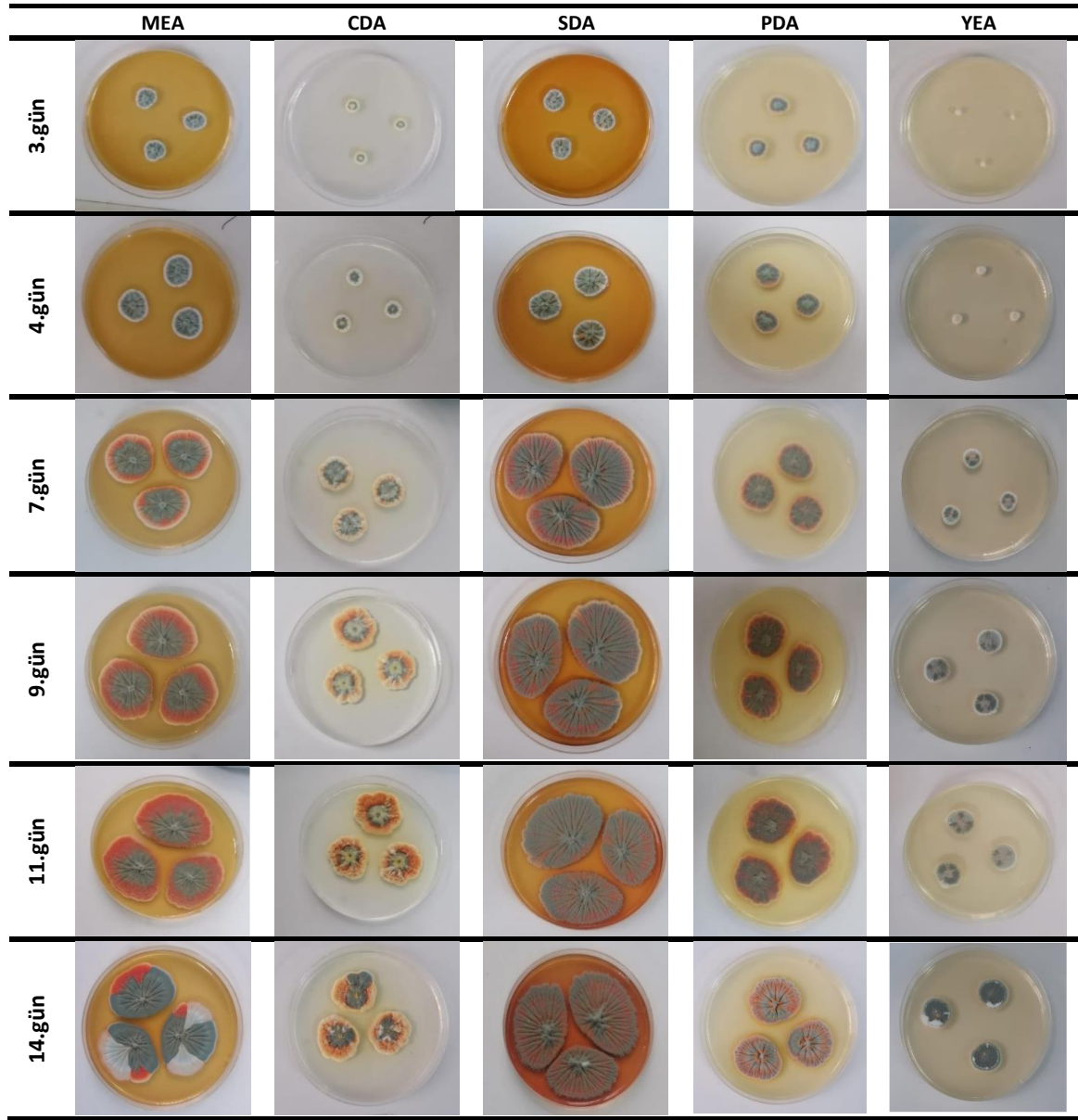
Czapek Dox Agarda 28°C'de inkübe edilen koloniler iki haftada 2,6 cm çapa ulaştı. Kenarlarda 0,5 cm beyaz bazal miselyum oluştu. Kenardan merkeze renk geçişleri zonlar halinde sarı-turuncudan-griye ve merkezde koyu griye döndüğü belirlendi. Turuncu-kırmızımsı renkli eksüda gözlemlendi. Koloni alt yüzey rengi kenardan merkeze yavru ağzı-turuncu zonlar oluşturdu.

Sabouraud Dekstroz Agarda 28°C'de inkübe edilen koloniler iki haftada 4,5 cm çapında, düzgün kenarlı, kadifemsi, pileli, ışınal koloniler oluşturdu. Kenarda 0,5 cm genişliğinde beyaz bazal miselyum görüldü. Kenardan merkeze doğru renkler turuncu, gri-turuncu ve merkezde grafit grisidir. Eksüda turuncu kırmızı renklidir. Koloni tersi turuncu- pembesi ve ışınal pileli olarak gözlemlendi.

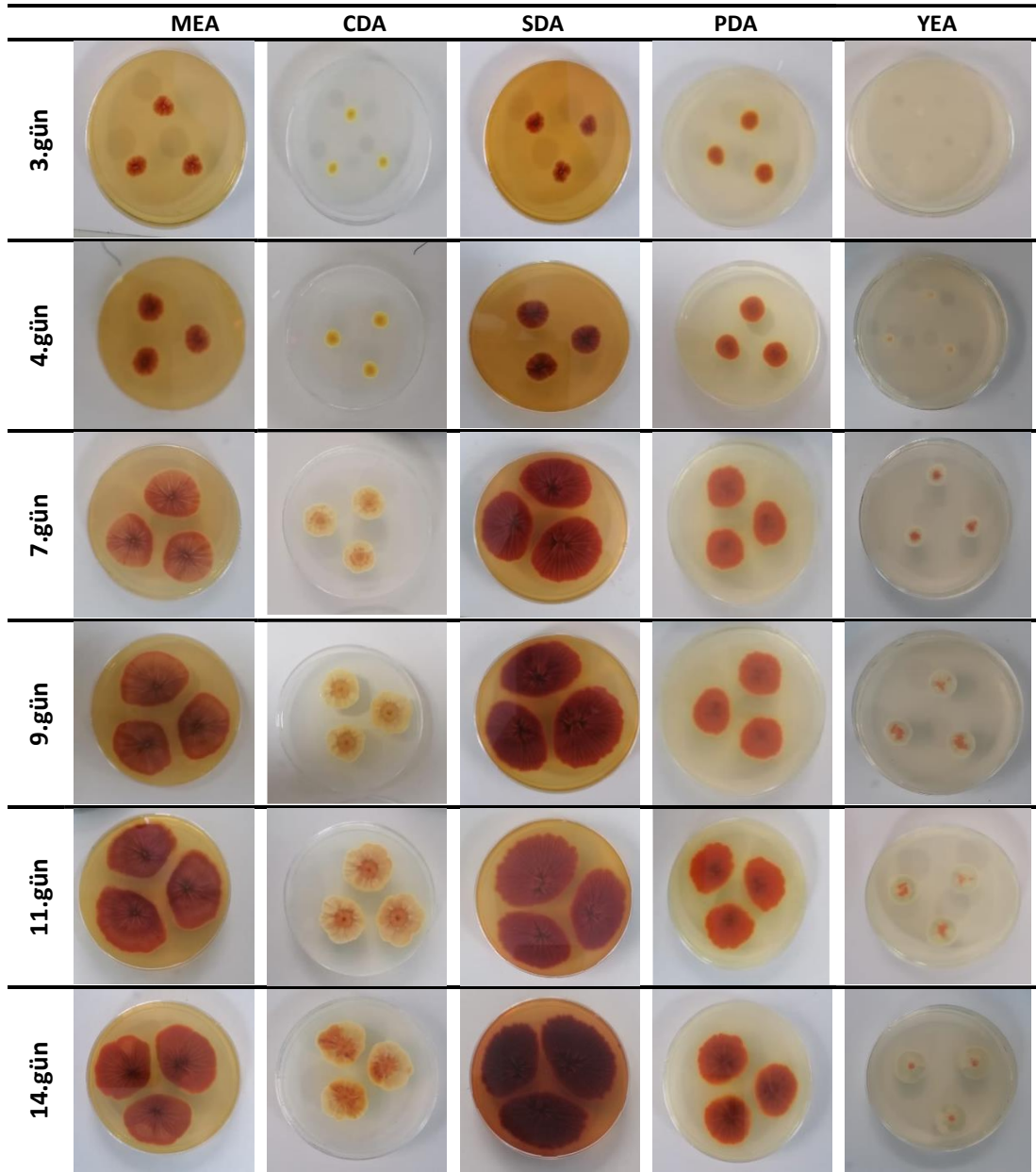
Patates Dekstroz Agarda 28°C'de inkübe edilen koloniler iki haftada 3 cm çapına ulaştı ve düzgün kenarlı, kadifemsi, kenarda 0,2-0,3 cm çapında beyaz ince bazal miselyum oluşturdu. Kenarlardan merkeze koloni renginde gül kurusu, pembemsi kırmızı ve merkeze doğru koyu grafit grisi tonlarında ışınal renklenme görüldü. Koloni alt rengi ise parlak turuncu renkli olarak belirlendi.

Yeast Ekstrakt Agarda 28°C'de inkübe edilen koloniler iki haftada 2 cm çapa ulaştı. Kenarlarda 0,5 cm beyaz bazal miselyum oluştu. Koloni kenarlı düzgün, koloni rengi grafit

grisi ve ortada turuncu renklenmeler görüldü. Koloni alt rengi ise merkeze turuncu renkli kenarlarda bej renginde renklenme gösterdi (Şekil 3.1 ve 3.2).

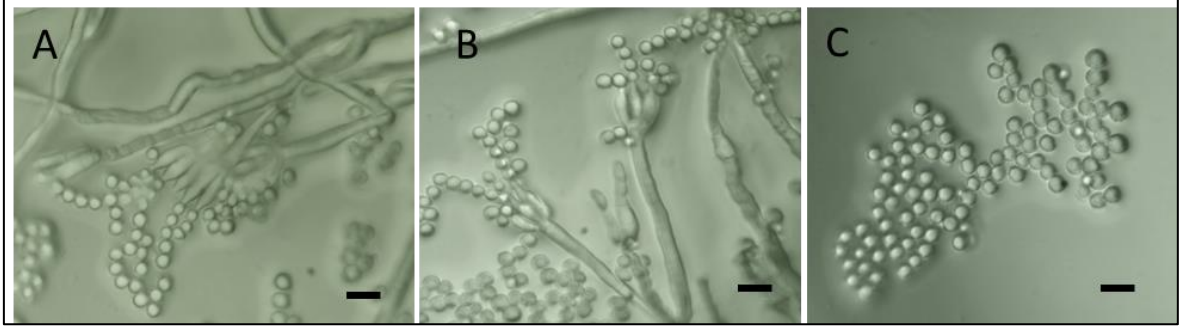


Şekil 3.1: *P. mallochii*'nin farklı besiyerlerindeki koloni morfolojilerinin üstten görünümü.



Şekil 3.2: *P. mallochii*'nin farklı besiyerlerindeki koloni morfolojilerinin alttan görünümü.

Penicilli monovertisillat, konidiyoforlar düzgün septalı uzunluğu $80-120 \times 2-4 \mu\text{m}$ arasında değiştiği belirlendi. *P. mallochii*'nin konidiasının sert, pürüzsüz ve globoz/subgloboz, $2,5-3,5 \times 2-2,5 \mu\text{m}$ boyutlarında, metulanın $15-45 \times 1,5-2 \mu\text{m}$, fiyalidlerin ise $7-10(16) \times 2-3(4) \mu\text{m}$ olduğu belirlendi (Şekil 3.3).



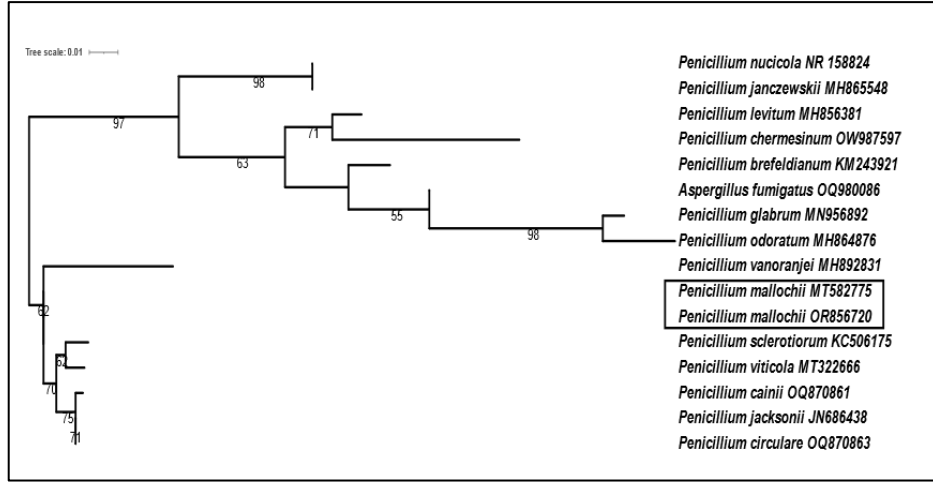
Şekil 3.3: *P. mallochii* mikromorfolojik yapısı a-b) Penisilli ve konidiyofor yapısı, c) Konidia. (Barlar: 5µm).

3.2 Genomik DNA İzolasyonu ve Moleküler İdentifikasyonu (Barkodlama)

Yapılan PZR sonuçları için beklenen ITS bölgesine ait ~510 bp uzunluğundaki bölge çoğaltıldı. DNA dizileme sonuçlarının değerlendirilmesi amacıyla elde edilen diziler BioEdit (Hall, 1999) biyolojik dizi sıralama editörü ile analiz edildi ve çift yönlü yapılan dizileme ile elde edilen diziler karşılaştırılarak 432 bp uzunluğunda dizi elde edildi. Elde edilen dizi NCBI veri tabanında (Sayers vd., 2022) nükleotid BLAST yapılarak kontrol edildi. MT529889 NCBI kayıt numaralı *Penicillium mallochii* ile %100 benzerlik gösterdiği görüldü (Şekil 3.4). Bu sonucu desteklemek ve fungus suşunun diğer yakın diziler arasındaki konumunu göstermek amacı ile yapılan NJ ağacının da açıkça gösterdiği gibi (Şekil 3.5) fungus suşu *P. mallochii* olarak belirlendi ve NCBI gen bankasına OR856720 kayıt numarası ile kaydedildi.

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Penicillium mallochii strain DUCC5742 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene	Penicillium mallo...	791	791	100%	0.0	100.0%	555	MT529889.1
Penicillium mallochii strain DUCC5735 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene	Penicillium mallo...	791	791	100%	0.0	100.0%	496	MT529775.1
Penicillium sp. strain V-77 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal	Penicillium sp.	791	791	100%	0.0	100.0%	545	MT529790.1
Penicillium mallochii isolate VGZ190 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene a	Penicillium mallo...	791	791	100%	0.0	100.0%	565	MT416214.3
Trichomonascus ciferrii isolate ZC-9 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene an	Trichomonascus...	791	791	100%	0.0	100.0%	542	MT410704.3
Penicillium mallochii strain ZZ58-2-3 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed sp	Penicillium mallo...	791	791	100%	0.0	100.0%	573	MN944416.1
Penicillium sclerotiorum isolate Endosymbiotic fungi internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal	Penicillium scler...	791	791	100%	0.0	100.0%	534	MK942602.1

Şekil 3.4: NCBI veri tabanında nükleotid BLAST benzerlik sonucu.



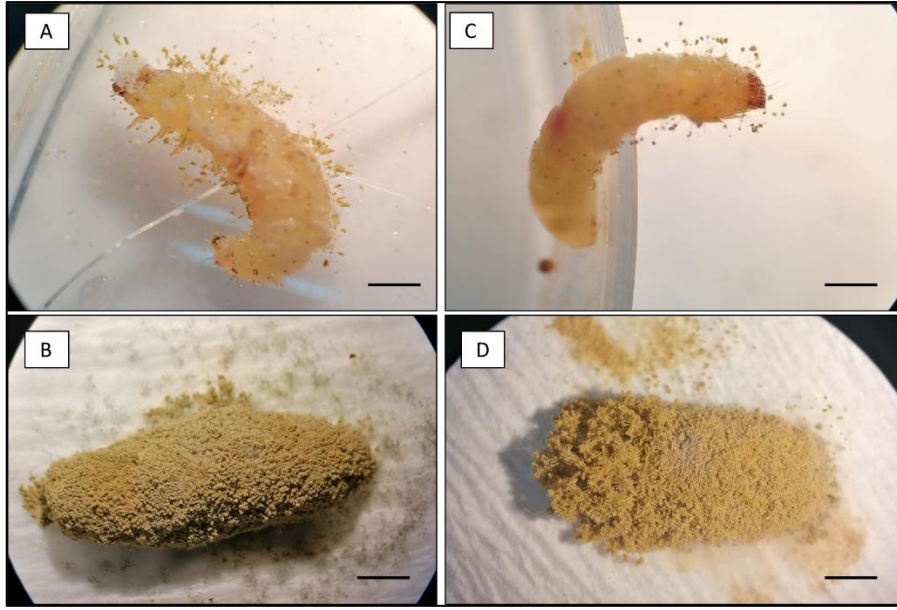
Şekil 3.5: NCBI veri bankasındaki diğer funguslara ait ITS dizileri ile karşılaştırılma sonucunda oluşturulan Neighbor Joining (NJ) “Komşu Birleştirme Metodu” ağacı.

3.3 Katı Besiyerinde Ekstre Üretimi

MEA kullanılarak hazırlanan petrilardan elde edilen kırmızı-turuncu renkli agar parçaları ve etanolden oluşan karışımdan ekstraksiyon sonucunda turuncu renkte, macun kıvamında ve suda çözünür özellikte ekstre elde edildi.

3.4 *P. mallochii*'nin Patojenitesinin Belirlenmesi

P. mallochii'nin patojenitesinin belirlenmesi için, fungusa ait 1×10^7 konidia/mL'lik konidial süspansiyon dozu, tek doz olarak son dönem böcek larvalarının (*C. cautella* ve *E. kuehniella*) toraks dorsaline mikropipet yardımıyla topikal aplikasyon yöntemi ile her bir bireye 5 μ L olarak uygulandı ve etkinlikleri laboratuvar şartlarında takip edildi. Larvaların ölümü, konidial süspansiyon ile muameleden 48 saat sonra başladı. Enfekte olmuş larvalar, *P. mallochii* konidial süspansiyonu ile muameleden 72 saat sonra tamamen yeşil misel ile kaplandı (Şekil 3.6).



Şekil 3.6: Enfeksiyon sonrası larvaların görünümü (a-b) *C. cautella*, (c-d) *E. kuehniella*. (barlar: 1cm).

3.5 Toksikite Testleri

Fungusa ait ekstreler ve konidial süspansiyonların uygulamasından yaklaşık 45 günlük süre sonunda; deneylerde kullanılacak doz aralığını belirlemek ve LD₅₀ ve LD₉₉ değerlerini hesaplamak için probit analizi kullanıldı. Probit ölüm doğrularından yararlanılarak larval LD₅₀ değeri konidia için *E. kuehniella*'da 10^{5.861} konidia/mL, ekstre için 0,606 mg/mL (Tablo 3.1), *C. cautella*'da ise konidia için 10^{8.448} konidia/mL, ekstre için 3,107 mg/mL olarak tespit edildi (Tablo 3.2).

Tablo 3.1: *E. kuehniella*'da *P. mallochii* uygulamasına bağlı LD değerleri.

<i>P. mallochii</i>	N	X ² (sd)	Eğim ± SH	Öldürücü doz (min.–mak.) (konidia/mL/larva)
Konidial Süspansiyon	180	1.715(3)	6.414 ± 1.279	LD ₅₀ = 10 ^{5.861} (10 ^{5.171} -10 ^{6.353})
				LD ₆₀ = 10 ^{6.420} (10 ^{5.850} -10 ^{6.690})
				LD ₇₀ = 10 ^{7.076} (10 ^{6.539} -10 ^{7.835})
				LD ₈₀ = 10 ^{7.929} (10 ^{7.273} -10 ^{9.217})
				LD ₉₀ = 10 ^{9.286} (10 ^{8.266} -10 ^{11.774})
				LD ₉₉ = 10 ^{13.512} (10 ^{10.945} -10 ^{21.553})
Etanol Ekstresi	210	4.760(4)	0.796 ± 0.158	Öldürücü doz (min.–mak.) (mg/mL/larva)
				LD ₅₀ = 0.606 (0.272–1.064)
				LD ₆₀ = 1.260 (0.693–2.351)
				LD ₇₀ = 2.758 (1.556–6.646)
				LD ₈₀ = 6.901 (3.426–26.257)
				LD ₉₀ = 24.618 (9.227–195.804)
LD ₉₉ = 504.717 (86.173–26048.346)				

(N: toplam birey sayısı; sd: serbestlik derecesi, y=a+bx)

Tablo 3.2: *C. cautella*'da *P. mallochii* uygulamasına bağlı LD değerleri.

<i>P. mallochii</i>	N	X ² (sd)	Eğim ± SH	Öldürücü doz (min.–mak.) (konidia/mL/larva)
Konidial Süspansiyon	180	2.090(3)	5.287±1.285	LD ₅₀ = 10 ^{8.448} (10 ^{7.638} -10 ^{10.358})
				LD ₆₀ = 10 ^{9.433} (10 ^{8.347} -10 ^{12.608})
				LD ₇₀ = 10 ^{10.615} (10 ^{9.114} -10 ^{15.671})
				LD ₈₀ = 10 ^{12.188} (10 ^{10.062} -10 ^{20.293})
				LD ₉₀ = 10 ^{14.762} (10 ^{11.505} -10 ^{29.134})
				LD ₉₉ = 10 ^{23.268} (10 ^{15.733} -10 ^{69.135})
Etanol Ekstresi	210	1.236(4)	0.515 ± 0.150	Öldürücü doz (min.–mak.) (mg/mL/larva)
				LD ₅₀ = 3.107 (1.339–15.421)
				LD ₆₀ = 9.653 (3.574–167.021)
				LD ₇₀ = 32.460 (8.591–2542.150)
				LD ₈₀ = 134.196 (22.449–65701.840)
				LD ₉₀ = 960.665 (81.751–6216360.756)
LD ₉₉ = 102973.165 (1665.816–3.237E11)				

(N: toplam birey sayısı; sd: serbestlik derecesi, y=a+bx)

3.6 *E. kuehniella* ve *C. cautella*'da Gelişim Biyolojisi Çalışmaları

3.6.1 Koza Örme Süresi

Farklı konsantrasyonlardaki etanol ekstresinin ve konidial süspansiyonların larvaların koza örme süresine etkileri Tablo 3.3'te verilmektedir. Tablo incelendiğinde, *E. kuehniella*'ya ekstre dozları uygulanması sonucu kontrol ve diğer dozlar arasında istatistiksel olarak fark gözlenmedi (F=1.818; sd=6, 96; p= 0.104). Konidial süspansiyon doz uygulamasına göre sonuçlar değerlendirildiğinde ise yine kontrol ve diğer dozlar arasında istatistiksel olarak fark gözlenmedi (F=2.844; sd=5, 77 ; p= 0.021).

Tablo 3.3 incelendiğinde *C. cautella*'ya ekstre dozları uygulanması sonucu koza örme süresinde kontrole göre dozlarda istatistiksel açıdan önemli bir değişiklik gözlenmezken 5 mg/mL'ye göre 0,1, 1 ve 10 mg/mL'de istatistiksel açıdan önemli azalmalar gözlendi (F=5.095; sd=6, 126; p= 0.000). Konidial süspansiyon doz uygulamasına göre sonuçlar incelendiğinde ise kontrole göre dozlarda istatistiksel açıdan önemli bir değişiklik gözlenmedi (F=1.370; sd=5, 124 ; p= 0.240).

Tablo 3.3: *P. mallochii*'nin *E. kuehniella* ve *C. cautella*'nın koza örme süresine etkisi.

Koza Örme Süresi (Gün)						
	Doz	N	<i>E. kuehniella</i>		<i>C. cautella</i>	
			Min.-Mak.	$\bar{x} \pm SH^*$	Min.-Max.	$\bar{x} \pm SH^*$
Konidial Süspansiyon	Kontrol	30	2-8	4.90±0.312a	2-7	4.37±0.305a
	10 ⁵	30	3-9	4.74±0.396a	2-7	4.28±0.385a
	10 ⁶	30	3-6	3.47±0.229a	3-9	4.64±0.331a
	10 ⁷	30	4-11	5.38±0.844a	2-15	5.50±0.723a
	10 ⁸	30	4-6	4.60±0.400a	2-8	5.44±0.428a
	10 ⁹	30	3-4	3.25±0.250a	3-8	4.83±0.441a
Etanol Ekstresi	Kontrol	30	1-8	4.67±0.375a	2-12	4.466±0.348ab
	0,1	30	1-13	4.86±0.636a	1-6	3.136±0.310b
	0,5	30	3-16	6.07±0.929a	1-8	4.272±0.488ab
	1	30	2-8	5.85±0.619a	1-6	3.388±0.371b
	2	30	2-6	4.25±0.329a	1-10	4.187±0.571ab
	5	30	2-7	3.60±0.618a	2-12	6.214±0.806a
10	30	1-4	2.50±1.5a	2-4	2.545±0.281b	

*Aynı sütunda (a-b) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0.05).
N; Deneye giren böcek sayısı, SH; Standart Hata.

3.6.2 Puplaşma Süresi

E. kuehniella ve *C. cautella*'da farklı konsantrasyonlarda etanol ekstresi ve konidial süspansiyon uygulamasının puplaşma süresine etkisi Tablo 3.4'te verilmektedir. *E. kuehniella*'da ekstre uygulamasına bağlı olarak deney grupları içerisinde puplaşma süresi en uzun kontrol gruplarında, en kısa ise 10 mg/mL'de görüldü. Kontrol gruplarında puplaşma süresi ortalama 2-21 gün iken madde konsantrasyonu arttıkça bu değerler yaklaşık 3 güne kadar düştü. Bu artma ve azalmaların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı analizlerle belirlendi (F=0.991; sd=6, 96; p=0.436). *E. kuehniella*'da konidial süspansiyon uygulamasına bağlı olarak elde edilen veriler incelendiğinde deney grupları içerisinde puplaşma süresi en uzun 10⁷ konidia/mL spor dozunda, en kısa ise 10⁹ konidia/mL dozda görüldü. Kontrol gruplarında puplaşma süresi ortalama 4-12 gün iken konidial süspansiyon doz konsantrasyonları arttıkça bu değerlerde azalmalar ve artmalar görüldü. Ayrıca, kontrole göre bütün konidial süspansiyon dozlarında istatistiksel olarak fark gözlenmezken 10⁷ konidia/mL'ye göre 10⁶ ve 10⁹ konidia/mL'de istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görüldü (F=5.396; sd=5, 77; p= 0.000).

C. cautella için Tablo 3.4 incelendiğinde kontrole göre 10 mg/mL'deki azalma istatistiksel olarak önemliydi. Ayrıca 0,1 mg/mL'ye göre 5 mg/mL'deki artış istatistiksel açıdan önemlidir (F=4.299; sd=6, 126; p= 0.001). Konidial süspansiyon uygulamasına bağlı olarak veriler tabloda incelendiğinde ise kontrole göre bütün dozlarda istatistiksel olarak fark gözlenmezken 10⁵ konidia/mL' ye göre 10⁶ ve 10⁷ konidia/mL'de istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görüldü (F=4.099; sd=5, 124 ; p= 0.002).

Tablo 3.4: *P. mallochii*'nin *E. kuehniella* ve *C. cautella*'nın puplaşma süresine etkisi.

		Puplaşma Süresi (Gün)					
		Doz	N	<i>E. kuehniella</i>		<i>C. cautella</i>	
				Min.-Mak.	$\bar{x} \pm SH^*$	Min.-Max.	$\bar{x} \pm SH^*$
Konidial Süspansiyon	Kontrol	30	4-12	7.73±0.434ab	4-10	7.00±0.349ab	
	10 ⁵	30	5-12	7.16±0.434ab	3-12	5.76±0.546a	
	10 ⁶	30	4-7	5.18±0.246a	5-10	8.24±0.273b	
	10 ⁷	30	6-13	8.63±0.925b	3-17	8.27±0.771b	
	10 ⁸	30	5-7	6.60±0.400ab	5-10	7.75±0.371ab	
	10 ⁹	30	5-6	5.50±0.289a	5-9	7.08±0.398ab	
Etanol Ekstresi	Kontrol	30	2-21	7.37±0.632a	3-13	6.733±0.371ab	
	0,1	30	3-20	7.82±0.901a	3-10	4.727±0.367ac	
	0,5	30	4-21	8.07±1.146a	3-13	6.090±0.561abc	
	1	30	2-13	8.00±0.899a	2-13	5.666±0.610abc	
	2	30	4-9	6.00±0.389a	3-11	5.875±0.618abc	
	5	30	6-8	6.50±0.269a	3-14	7.928±0.886b	
	10	30	3-5	4.00±1a	4-5	4.272±0.140c	

*Aynı sütunda (a-c) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0.05).
N; Deneye giren böcek sayısı, SH; Standart Hata.

3.6.3 Pupal Periyot

E. kuehniella ve *C. cautella*'da farklı konsantrasyonlarda etanol ekstre ve konidial süspansiyon uygulamasının pupal periyoda etkisi Tablo 3.5'te verilmektedir. *E. kuehniella*'da deney grupları arasında kontrol gruplarına göre etanol ekstresi uygulanan gruplarda 5 ve 10 mg/mL' de azalma görülürken, diğer dozlarda artma olduğu görüldü. Ancak, bu artma ve azalmaların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı analizler sonucunda belirlendi (F=1.252; sd=6, 96; p= 0.287). *E.kuehniella*'da; kontrole göre bütün konidia dozlarında istatistiksel olarak fark gözlenmezken 10⁶ konidia/mL konidia dozuna göre 10⁷

konidia/mL'de istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi (F=3.925; sd=5, 77; p= 0.003).

C. cautella'da ise ekstre uygulamasında kontrole göre dozlarda dalgalanmalar olsa da bu verilerin istatistiksel açıdan önemi olmadığı belirlendi (F=1.053; sd=6, 126; p= 0.394). Konidia dozları incelendiğinde ise kontrole göre sadece 10^8 konidia/mL dozda istatistiksel açıdan önemli bir artış gözlemlendi. Buna ek olarak 10^5 ve 10^9 konidia/mL'ye göre de 10^8 konidia/mL'deki artış istatistiksel olarak anlamlıydı. Ayrıca 10^6 ve 10^8 konidia/mL'ye göre 10^7 konidia/mL'deki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi (F=5.273; sd=5, 124 ; p= 0.000).

Tablo 3.5: *P. mallochii*'nin *E. kuehniella* ve *C. cautella*'nın pupal periyoduna etkisi.

Pupal Periyot (Gün)						
	Doz	N	<i>E. kuehniella</i>		<i>C. cautella</i>	
			Min.-Mak.	$\bar{x} \pm SH^*$	Min.-Max.	$\bar{x} \pm SH^*$
Konidial Süspansiyon	Kontrol	30	7-13	10.20±0.309ab	4-12	7.57±0.261ab
	10^5	30	6-15	9.68±0.612ab	5-9	7.48±0.193ab
	10^6	30	8-14	11.53±0.412a	6-12	8.64±0.360bc
	10^7	30	5-11	7.88±0.766b	2-11	7.05±0.544a
	10^8	30	7-12	9.40±0.812ab	7-12	9.25±0.371c
	10^9	30	8-14	10.75±1.250ab	6-9	7.25±0.218ab
Etanol Ekstresi	Kontrol	30	1-11	8.87±0.361a	1-12	6.233±0.397a
	0,1	30	5-12	9.00±0.400a	2-8	6.409±0.333a
	0,5	30	5-12	9.86±0.455a	4-8	6.818±0.214a
	1	30	6-12	9.54±0.489a	3-7	5.944±0.296a
	2	30	8-12	9.17±0.345a	4-8	6.562±0.223a
	5	30	7-12	8.30±0.539a	6-7	6.571±0.137a
	10	30	7-8	7.50±0.500a	6-8	7.000±0.134a

* Aynı sütunda (a-c) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0.05).
N; Deneye giren böcek sayısı, SH; Standart Hata.

3.6.4 Ergin Öncesi Gelişim Süresi

E. kuehniella ve *C. cautella*'da farklı konsantrasyonlarda etanol ekstre ve konidial süspansiyon uygulamasının ergin öncesi gelişim süresine etkisi Tablo 3.6'te verilmektedir. Tablo 3.6 incelendiğinde *E. kuehniella*'ya etanol ekstresi uygulamasında ergin öncesi gelişim süresinde kontrole göre 10 mg/mL doz uygulamasında istatistiksel olarak anlamlı

bir düşüş gözlemlendi ($F=2.406$; $sd=6, 96$; $p= 0.033$). Konidial doz uygulamasında ise kontrol ve diğer dozlar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlenmedi ($F=1.069$; $sd=5, 77$; $p= 0.384$).

C. cautella için tablo incelendiğinde etanol ekstresi dozları uygulanması sonucu kontrole göre dozlar arasında istatistiksel açıdan fark yokken, 5 mg/mL'ye göre 0,1, 1 ve 10 mg/mL'deki azalmalar istatistiksel olarak önemliydi ($F=3.902$; $sd=6, 126$; $p= 0.001$). Konidial doz uygulamalarına göre ise kontrole göre 10^6 ve 10^8 konidia/mL dozundaki artış istatistiksel olarak anlamlıydı. Ek olarak 10^9 konidia/mL dozuna göre de 10^6 ve 10^8 konidia/mL dozundaki artış istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi. Ayrıca 10^5 konidia/mL'e göre 10^6 , 10^7 ve 10^8 konidia/mL dozundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($F=10.011$; $sd=5, 124$; $p= 0.000$).

Tablo 3.6: *P. mallochii*'nin *E. kuehniella* ve *C. cautella*'nın ergin öncesi gelişim süresine etkisi.

Ergin Öncesi Gelişim Süresi (Gün)						
	Doz	N	<i>E. kuehniella</i>		<i>C. cautella</i>	
			Min.-Mak.	$\bar{x} \pm SH^*$	Min.-Max.	$\bar{x} \pm SH^*$
Konidial Süspansiyon	Kontrol	30	11-22	17.93±0.460a	12-21	14.67±0.405ab
	10^5	30	13-23	16.74±0.709a	10-19	13.24±0.530a
	10^6	30	14-19	16.71±0.391a	15-20	16.88±0.285c
	10^7	30	11-22	16.50±1.350a	9-20	15.32±0.516bc
	10^8	30	14-19	16.00±0.949a	12-20	17.00±0.570c
	10^9	30	13-20	16.25±1.493a	13-18	14.33±0.432ab
Etanol Ekstresi	Kontrol	30	12-31	16.53±0.686a	9-20	12.966± 0.463ab
	0,1	30	13-29	16.82±0.802a	5-16	11.136±0.519b
	0,5	30	14-26	18.07±0.788a	10-19	12.909±0.569ab
	1	30	12-22	17.54±0.821a	9-18	11.611±0.492b
	2	30	13-18	15.17±0.441ab	10-18	12.500±0.508ab
	5	30	13-20	14.80±0.772ab	10-20	14.500±0.875a
	10	30	11-12	11.50±0.500b	11-12	11.272±0.140b

* Aynı sütunda (a-c) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($P>0.05$).
N; Deneye giren böcek sayısı, SH; Standart Hata.

3.6.5 Ergin Hayat Uzunluğu

E. kuehniella ve *C. cautella*'da farklı konsantrasyonlarda etanol ekstresi ve konidial süspansiyon uygulamasının ergin hayat uzunluğuna etkisi Tablo 3.7'de verilmektedir. *E. kuehniella*'da etanol ekstresi uygulaması sonucu ergin hayat uzunluğunda kontrole göre dozlar arasında fark gözlenmedi ($F=1.550$; $sd=6$, 96; $p= 0.170$). Konidial doz uygulamalarında ise *E. kuehniella*'da ergin hayat uzunluğunda ($F=9.236$; $sd=5$, 77; $p= 0.000$) kontrole göre sadece 10^9 konidia/mL konidia dozunda istatistiksel açıdan önemli bir artış gözlemlendi. Buna ek olarak 10^6 ve 10^8 konidia/mL'ye göre de 10^7 'deki azalış istatistiksel olarak anlamlıydı.

C. cautella için etanol ekstresi uygulama verileri incelendiğinde ergin hayat uzunluğunda kontrole göre dozlar arasında istatistiksel açıdan fark yoktu, ancak $0,1$ mg/mL' ye göre 1 mg/mL'deki artış istatistiksel olarak anlamlıydı ($F=3.557$; $sd=6$, 126; $p= 0.003$). Konidial süspansiyon uygulanmasının ergin hayat uzunluğuna etkisi incelendiğinde kontrole göre dozlar arasında istatistiksel açıdan fark yoktu ($F=3.870$; $sd=5$, 124; $p= 0.003$).

Tablo 3.7: *P. mallochii*'nin *E. kuehniella* ve *C. cautella*'nın ergin hayat uzunluğuna etkisi.

Ergin Hayat Uzunluğu (Gün)						
	Doz	N	<i>E. kuehniella</i>		<i>C. cautella</i>	
			Min.-Mak.	$\bar{x} \pm SH^*$	Min.-Max.	$\bar{x} \pm SH^*$
Konidial Süspansiyon	Kontrol	30	4-16	9.67±0.603ab	3-11	5.97±0.388a
	10^5	30	5-12	8.00±0.426ab	1-8	4.16±0.502ab
	10^6	30	1-20	11.59±1.546a	1-7	4.64±0.369ab
	10^7	30	1-10	4.25±1.098b	1-11	5.36±0.477ab
	10^8	30	8-18	11.80±1.908a	1-12	5.63±0.903ab
	10^9	30	18-20	18.75±0.479c	2-9	5.92±0.596a
Etanol Ekstresi	Kontrol	30	7-18	10.67±0.647a	1-11	6.933±0.444ab
	0,1	30	7-16	10.14±0.471a	1-12	4.636±0.594a
	0,5	30	3-14	8.57±0.817a	2-9	5.909±0.410ab
	1	30	2-13	9.08±0.820a	4-13	7.277±0.448b
	2	30	1-12	8.42±1.069a	1-12	5.312±0.778ab
	5	30	7-13	9.90±0.586a	3-9	5.928±0.597ab
	10	30	7-8	7.50±0.500a	3-6	4.909±0.250ab

*Aynı sütunda (a-c) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($P>0.05$).
N; Deneye giren böcek sayısı, SH; Standart Hata.

3.6.6 Ağırlık

E. kuehniella ve *C. cautella*'da farklı konsantrasyonlarda etanol ekstre ve konidial süspansiyon uygulamasının ergin ağırlığına etkisi Tablo 3.8'te verilmektedir. *E. kuehniella*'da ekstre uygulaması (F=2.116; sd=6, 96; p= 0.058) ve konidial süspansiyon uygulaması (F=2.209; sd=5, 77; p= 0.062) sonucu ergin ağırlığında kontrole göre dozlar arasında fark gözlenmedi. *C. cautella*' da ise ekstre uygulaması sonucu kontrole göre 0,1mg/mL'de istatistiksel açıdan önemli bir azalma görülürken (F=5.218; sd=6, 126; p= 0.000), konidial süspansiyon uygulamasında (F=2.375; sd=5, 124; p= 0.043) ergin ağırlığında kontrole göre dozlar arasında fark gözlenmedi.

Tablo 3.8: *P. mallochii*'nin *E. kuehniella* ve *C. cautella*'nın ergin ağırlığına etkisi.

		Ergin Ağırlığı (mm)				
		Doz	N	<i>E. kuehniella</i>	<i>C. cautella</i>	
				Min.-Mak.	Min.-Max.	
				$\bar{x} \pm SH^*$	$\bar{x} \pm SH^*$	
Konidial Süspansiyon	Kontrol	30	7.80-13.90	9.32±0.239a	4.80-8.40	6.57±0.204ab
	10 ⁵	30	8.10-11.50	9.41±0.205a	5.00-7.70	6.38±0.162ab
	10 ⁶	30	8.20-11.00	10.14±0.174a	4.90-8.00	6.88±0.190a
	10 ⁷	30	6.90-10.80	8.71±0.461a	5.10-7.80	6.30±0.227ab
	10 ⁸	30	7.80-10.30	9.72±0.486a	3.70-7.30	6.03±0.232ab
	10 ⁹	30	8.10-10.70	9.70±0.571a	4.30-7.10	5.95±0.223b
Etanol Ekstresi	Kontrol	30	7.20-23.00	11.89±673a	4.80-12.30	7.813±0.299ab
	0,1	30	7.60-17.30	9.90±425a	4.10-9.20	6.300±0.306c
	0,5	30	5,70-16.10	10.07±861a	5.10-10.80	6.959±0.307abc
	1	30	7.90-18.50	11.60±940a	4.20-10.24	6.346±0.367bc
	2	30	7.20-14.50	9.55±529a	4.30-8.20	6.518±0.308bc
	5	30	7.20-13.30	9.62±547a	5.10-9.30	8.278±0.371a
	10	30	8.10-9.20	8.65±550a	5.50-9.80	7.545±0.376abc

*Aynı sütunda (a-c) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0.05). N; Deneye giren böcek sayısı, SH; Standart Hata.

3.6.7 Toplam Yumurta Sayısı

E. kuehniella ve *C. cautella*'da farklı konsantrasyonlarda etanol ekstre ve konidial süspansiyon uygulamasının toplam yumurta sayısına etkisi Tablo 3.9'te verildi. *E. kuehniella* etanol ekstre dozları uygulamasına bağlı olarak yumurta sayısında kontrole göre dozlarda istatistiksel açıdan önemli bir azalma gözlemlendi (F=55.793; sd=6, 50; p= 0.000). *E. kuehniella*'da kontrol gruplarında ortalama 145,19 olan yumurta sayılarının 10 mg/mL'de 4,

5 mg/mL’de 5,25 ve 2 mg/mL’de 2’ye kadar düştüğü görüldü. Konidial doz uygulamasına bağlı olarak *E. kuehniella* yumurta sayısında kontrole göre dozlarda istatistiksel açıdan önemli bir azalma gözlemlendi (F=45.744; sd=5, 44; p= 0.000). *E. kuehniella*’da kontrol gruplarında ortalama 121,67 olan yumurta sayıları 10⁶ konidia/mL’de 34,40, 10⁷ konidia/mL’de 2,00, 10⁸ konidia/mL’de 0 olarak belirlendi. *C. cautella*’nın ekstre uygulamasına bağlı olarak toplam yumurta sayısında (F=91.940; sd=6, 78; p= 0.000) kontrole göre dozlarda istatistiksel açıdan önemli bir azalma gözlemlendi. *C. cautella*’ da ise kontrol gruplarında ortalama 119,3 olan yumurta sayıları 10 mg/mL’de 2,142, 5 mg/mL’de 1,307, 2 mg/mL’de 4’e kadar düştüğü belirlendi. Konidial doz uygulamalarında yine kontrole göre yumurta sayısında önemli bir azalma görüldü (F=94.972; sd=5, 64; p= 0.000). *C. cautella*’da kontrol gruplarında ortalama 101,24 olan yumurta sayıları 10⁶ konidia/mL’de 8,91, 10⁷ konidia/mL’de 15,91 ve 10⁸ konidia/mL’de 23,33 olarak belirlendi.

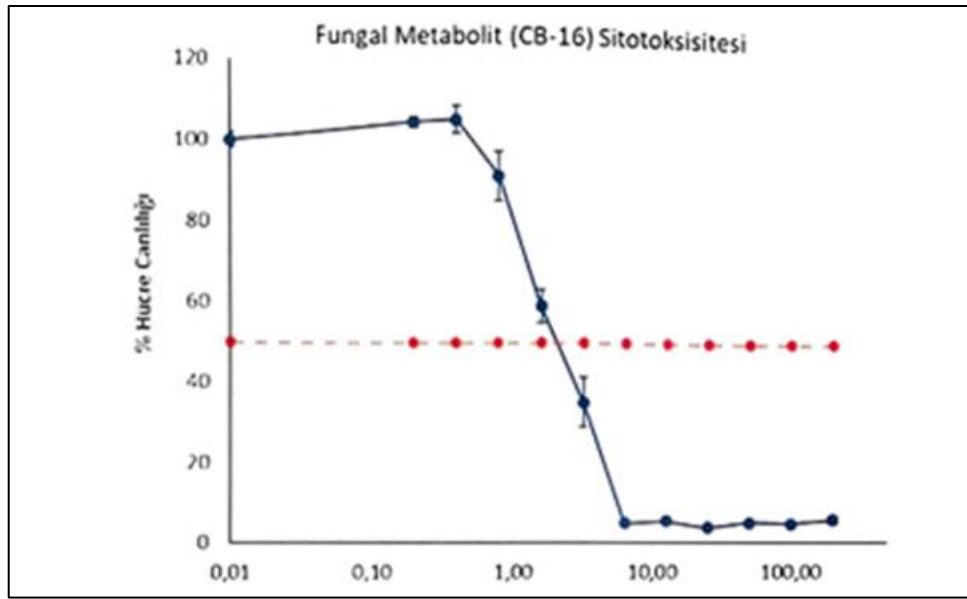
Tablo 3.9: *P. mallochii*’nin *E. kuehniella* ve *C. cautella*’nın toplam yumurta sayısına etkisi.

Toplam Yumurta Sayısı						
	Doz	N	<i>E. kuehniella</i>		<i>C. cautella</i>	
			Min.-Mak.	$\bar{x} \pm SH^*$	Min.-Max.	$\bar{x} \pm SH^*$
Konidial Süspansiyon	Kontrol	30	76-181	121.67±8.496a	50-121	101.24±4.337a
	10 ⁵	30	8-84	34.40±8.861b	1-21	10.92±1.885b
	10 ⁶	30	0-31	10.80±2.778b	0-21	8.91±2.341b
	10 ⁷	30	0-13	2.00±1.839b	0-49	15.91±4.868b
	10 ⁸	30	0	0b	0-59	23.33±7.517b
	10 ⁹	30	3-58	29.75±13.425b	0-23	8.60±2.941b
Etanol Ekstresi	Kontrol	30	76-209	145.19±8.507a	62-190	119.3±8.608a
	0,1	30	3-51	17.27±4.804b	0-15	5.818±1.715b
	0,5	30	0-20	7.14±2.832b	0-41	12.134±3.133b
	1	30	5-41	22.00±4.555b	2-31	8.954±2.699b
	2	30	0-5	2.00±1.528b	0-11	4.00±1.382b
	5	30	0-9	5.25±2.056b	0-5	1.307±0.547b
	10	30	3-5	4.00±1.000b	0-7	2.142±1.010b

*Aynı sütunda (a-b) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0.05). N; Deneye giren böcek sayısı, SH; Standart Hata.

3.7 Sitotoksosite Analizleri

MTT Hücre canlılığı testi, hücre ölümünü, hücre büyümesinin veya proliferasyonunun inhibisyonunu belirler. TÜBİTAK MAM tarafından yapılan analiz sonucuna göre; etanol ekstresinin L929 hücre soyuna 24 saat uygulandığında negatif kontrole göre (DMEM besiyeri) göre normalize edilen %50 hücre inhibisyonundaki (IC₅₀) değeri 2,20 mg/mL olarak hesaplandı (Şekil 3.7). Ayrıca etanol ekstresinin 0,78 mg/mL dozundan daha yüksek konsantrasyonlarda L929 hücreleri üzerinde sitotoksik aktivite gösterdiği belirlendi.

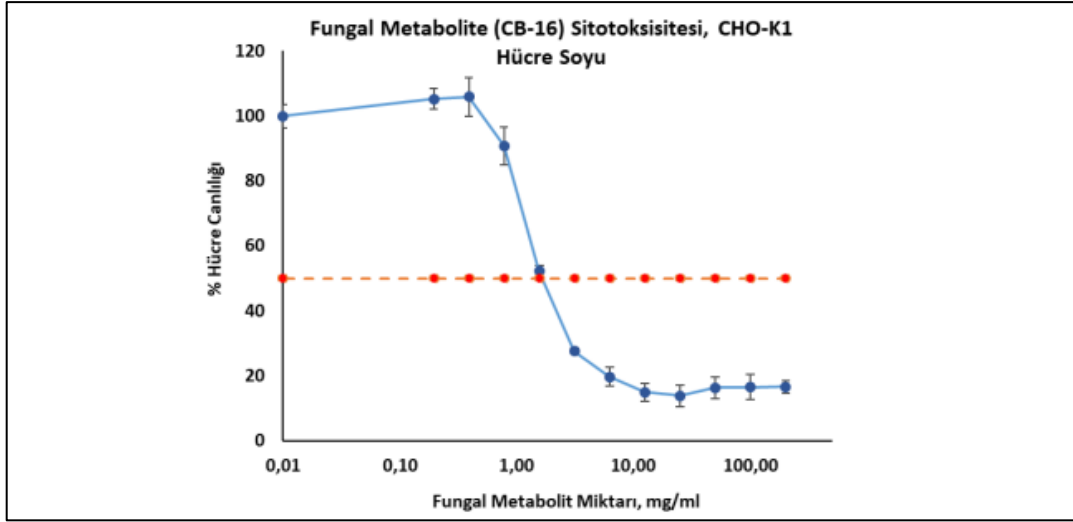


Şekil 3.7: Etanol ekstresinin L929 hücrelerine 24 saat uygulandığında doz-cevap ilişkisi negatif kontrole göre normalize edilen % hücre canlılığı.

3.8 Genotoksosite Analizleri

3.8.1 Sitotoksosite – MTT Testi Sonucu

CHO-K1 hücre soyuna 24 saat uygulandığında negatif kontrole (DMEM) göre normalize edilen etanol ekstresinin %30 ve %50 hücre inhibisyon dozu (IC₃₀ ve IC₅₀) Şekil 3.8’de doz-cevap ilişkisinden 1,054 mg/mL ve 1,64 mg/mL olarak hesaplandı.



Şekil 3.8: Etanol ekstresinin CHO-K1 hücrelerine 24 saat uygulandığında doz-cevap ilişkisi negatif kontrole göre normalize edilen % hücre canlılığı.

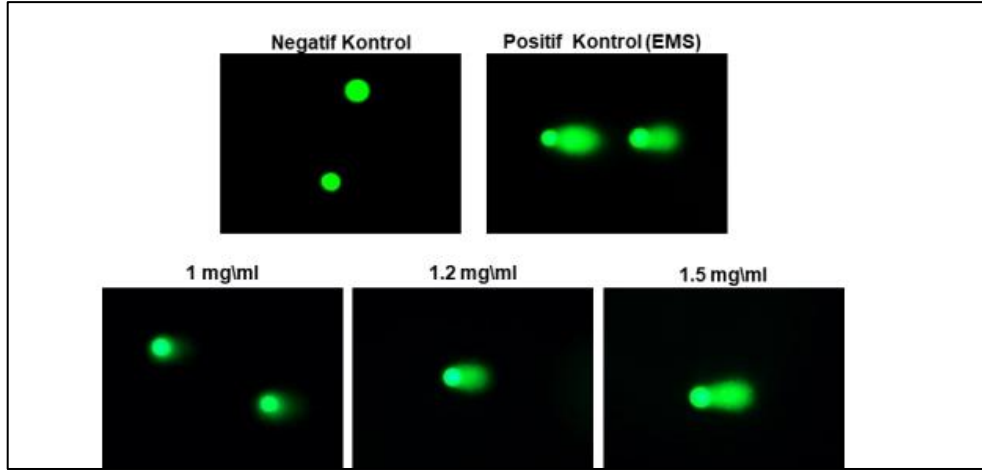
3.8.2 İn vitro Komet Testi Sonucu

Etanol ekstresi 1, 1,2 ve 1,5 mg/mL (w/v) oranında besiyerinde hazırlanarak 120 rpm, 24 saat 37°C’de çalkalayıcıda hazırlandı. Negatif kontrol olarak CHO-K1 hücrelerinin besiyeri (DMEM-F12), pozitif kontrol olarak ise 40 mM EMS (Ethyl methansulfonate, Merck-Millipore Cat #8.20774.0005 Lot: S4831874 101, Cas No: 62-50-0) kullanıldı. Hücrede oluşan DNA hasarı ve komet oluşumu floresans mikroskopta belirlenen nicel sonuçlarına göre “% Kuyruk DNA” hesaplaması yapıldı ve Tablo 3.10’de verildi. Sonuçlar, pozitif kontrol 40 mM EMS’e göre yorumlandı. Her bir örnek için 3 tekrar çalışıldı ve 50 adet hücre sayılarak komet oluşumu “% Kuyruk DNA” hesaplandı.

Tablo 3.10: Etanol ekstresinin ve kontrollerin “Kuyruk %DNA” sonuçları, kromozomal DNA varlığı ve komet oluşumu.

Kontrol adı	Kontrol	Sonuç (% Tail DNA)	
		Ortalama	Komet
Negatif Kontrol	DMEM-F12	0	Komet gözlemlenmedi
Pozitif Kontrol	DMEM-F12 + 40 mM EMS	%72 ± 4.5	Komet gözlemlendi
1 mg/mL	DMEM-F12 + örnek	%19 ± 3.7	Komet gözlemlendi
1.2 mg/mL	DMEM-F12 + örnek	%47 ± 9.4	Komet gözlemlendi
1.5 mg/mL	DMEM-F12 + örnek	%63 ± 7.0	Komet gözlemlendi

Ekstre örneği yaklaşık olarak IC₃₀ (1 mg/mL ve 1,2 mg/mL) dozunda 24 saat CHO-K1 hücrelerine uygulandıktan sonra “Genotoksiste Testi-İn Vitro Komet Testi: Tek hücre DNA hasar tespiti” gerçekleştirildiğinde %19 ve %47 komet oluşumu belirlendi (Şekil 3.9).



Şekil 3.9: Negatif, pozitif kontroller ve ekstre uygulandıktan sonra CHO-K1 hücrelerinde oluşan DNA hasarı (Komet) floresans mikroskop görüntüsü (40X).

3.9 Mikotoksin Analizleri

Tubitak MAM'a G116 Aflatoksin (B1, B2, G1, G2) (AOAC 999.07, AOAC 999.31, D.05.G116, işletme içi metot-HPLC FLD), Okratoksin A (R hone- Diagnostics Tech.Instr.- Ochratoxin A Analysis in Cereals, D.05.G119, işletme içi metot-HPLC UV) referansı ile yaptırılan analizler sonucunda, *P. mallochii*'nin mikotoksin üretmeyen bir tür olduğu belirlendi. Rapor ekler bölümünde sunuldu (EK:1).

3.10 Toplam Hemosit Sayılarına Etkinin Değerlendirilmesi

3.10.1 Etanol Ekstre Uygulamasının Toplam Hemosit Sayılarına Etkileri

E. kuehniella larvalarına farklı zamanlarda (24 ve 48 saat) uygulanan farklı ekstre dozlarının toplam hemosit sayılarına etkileri üç tekrarlı deney serileri ile belirlendi. Tablo 3.11'de görüldüğü gibi hiçbir işleme tabi tutulmamış *E. kuehniella* larvalarında 24 ve 48 saatlik periyotlarda hemosit sayıları sırası ile 20,23 ve 20,76 x 10⁶ hücre/mL olarak belirlendi. Deneylede, 24 (F=1031.476; sd=7, 232; p= 0.000) ve 48 (F=335.182; sd=7, 232; p= 0.000) saatin sonunda *E. kuehniella* larvalarının hemosit sayısı deney ve kontrol grupları arasında önemli farklılık gösterdi (Tablo 3.11).

Deneysel olarak 24 saat, 10, 5, 2, ve 1 mg/mL konsantrasyonunda etanol ekstrelerine maruz kalan *E. kuehniella* larvalarının dolaşımdaki toplam hemosit sayıları hiçbir işleme tabi tutulmamış larvalara göre önemli derecede arttı. Buna rağmen daha düşük dozlar olan 0,1 ve 0,5 mg/mL konsantrasyonlarında toplam hemosit sayısı kontrol grubu larvalara göre değişiklik göstermedi. 48 saat etanol ekstre dozlarına (10, 5, 2, 1 ve 0,5 mg/mL) maruz kalan larvaların toplam hemosit sayıları kontrol gruplarına göre artış gösterdi. En düşük doz olan

0,1 mg/mL’de ise hiçbir işleme tabi tutulmamış larvalara benzerlik gösterdi (Tablo 3.11; Şekil 3.10). Yüksek doz uygulaması (10 ve 5 mg/mL) yapılmış tüm gruplarda 24 ve 48 saatlik periyotlarda toplam hemosit sayılarında normal larvalara göre istatistiksel olarak anlamlı artmalar oldu.

E. kuehniella larvalarında toplam hemosit sayılarına, farklı etanol ekstre dozları ile iki ayrı deney zamanının etkileri Tablo 3.11’de verilmektedir. Toplam hemosit sayısında zamana bağlı farklar incelendiğinde kontrol ($t=-0.916$, $p=0.363$), PBS ($t=-6.595$, $p=0.000$) ve 0,1 mg/mL’lik dozda ($t=-1.493$, $p=0.143$) anlamlı bir fark yok iken, 10 mg/mL ($t=23.671$, $p=0.000$), 5 mg/mL ($t=11.559$, $p=0.000$), 2 mg/mL ($t=7.833$, $p=0.000$), 1 mg/mL ($t=3.530$, $p=0.001$) ve 0,5 mg/mL ($t=-8.487$, $p=0.000$) fark gözlemlendi.

Tablo 3.11: Etanol ekstresinin toplam hemosit sayısına ($\times 10^6$ hücre/mL) etkisi.

Deney Grupları	Toplam Hemosit Sayıları ($\times 10^6$ hücre/mL) (Ortalama \pm SH)*		İstatistik (<i>t</i> -testi)		
	GÖZLEM ZAMANI**		<i>t</i>	df	P
	24 saat	48 saat			
KONTROL	20.23 \pm 0.39ax	20.76 \pm 0.42abx	-0.916	58	0.363
PBS	20.30 \pm 0.28ax	20.88 \pm 0.27abx	-6.595	47.171	0.000
0,1 mg/mL	19.73 \pm 0.19ax	20.20 \pm 0.14ax	-1.493	43.530	0.143
0,5 mg/mL	19.59 \pm 0.27ax	21.83 \pm 0.18by	-8.487	58	0.000
1 mg/mL	24.49 \pm 0.31bx	23.21 \pm 0.23cy	3.530	58	0.000
2 mg/mL	27.56 \pm 0.36cx	24.57 \pm 0.21dy	7.833	58	0.000
5 mg/mL	34.90 \pm 0.73dx	28.84 \pm 0.37ey	11.559	58	0.000
10 mg/mL	57.78 \pm 0.46ex	37.43 \pm 0.45fy	23.671	58	0.000

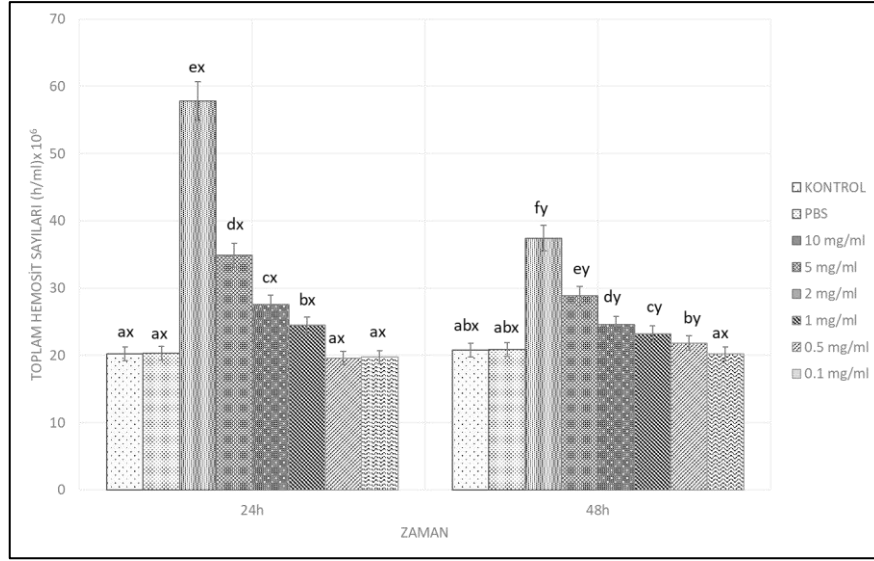
*Her biri 30 larvanın toplam hemosit sayısı ortalamalarını göstermektedir.

**Aynı sütunda (a-f) ve satırda (x-y) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($P>0.05$; Tukey HSD testi ve *t*-testi).

E. kuehniella larvalarında toplam hemosit sayılarına etanol ekstresinin etkisi hem deney gruplarına ($P=0,000$) hem de zamana bağlıydı ($P=0,000$), deney ve kontrol grupları ile hemosit sayısı arasındaki etkileşim zamandan etkilendi ($P=0,000$) (Tablo 3.12).

Tablo 3.12: Farklı deney grupları (ekstre), zaman ve etkileşimlerinin *E. kuehniella* larvasının toplam hemosit sayılarına etkilerini gösteren ANOVA tablosu.

Kaynak	df	KO	F	P	r^2
Deney Grupları	7	5255,964	1333,129	0,000	
Zaman	1	1067,882	270,859	0,000	0,96
Deney Grupları x Zaman	7	876,326	222,273	0,000	
Hata	464	3,943			



Şekil 3.10: Etanol ekstre dozlarının farklı zaman dönemlerinde *E. kuehniella* larvalarının toplam hemosit sayılarına etkisi.

3.10.2 Konidial Süspansiyon Uygulamasının Toplam Hemosit Sayılarına Etkileri

E. kuehniella larvalarına farklı zamanlarda (24 ve 48 saat) uygulanan farklı konidial süspansiyon dozların toplam hemosit sayılarına etkileri üç tekrarlı deney serileri ile belirlendi. Tablo 3.13'te görüldüğü gibi hiçbir işleme tabi tutulmamış *E. kuehniella* larvalarında 24 ve 48 saatlik periyotlarda hemosit sayıları sırası ile 20.11 ve 20.48 x 10⁶ hücre/mL olarak belirlendi. Deneylerde, 24 (F=83.282; sd=6, 203; p= 0.000) ve 48 (F=269,087; sd=6, 203; p= 0.000) saatin sonunda *E. kuehniella* larvalarının hemosit sayısı deney ve kontrol grupları arasında önemli farklılık gösterdi (Tablo 3.13). Deneysel olarak 24 saat, 10⁷, 10⁸ ve 10⁹ konidia/mL konsantrasyonunda konidial süspansiyona maruz kalan *E. kuehniella* larvalarının dolaşımdaki toplam hemosit sayıları hiçbir işleme tabi tutulmamış larvalara göre önemli derecede arttı. Buna rağmen daha düşük dozlar olan 10⁶ ve 10⁵ konidia/mL konsantrasyonlarında toplam hemosit sayısı kontrol grubu larvalara göre değişiklik göstermedi. 48 saat konidial süspansiyon dozlarına maruz kalan deney grubu larvaların (10⁷, 10⁸ ve 10⁹ konidia/mL) toplam hemosit sayıları kontrol gruplarına göre azalış gösterirken sadece en düşük dozda toplam hemosit sayılarında artış görüldü (Tablo 3.13; Şekil 3.11). *E. kuehniella* larvalarında toplam hemosit sayılarına, farklı etanol ekstre dozları ile iki ayrı deney zamanının etkileri Tablo 3.13'te verilmektedir. Toplam hemosit sayısında zamana bağlı farklar incelendiğinde kontrol (t=-6.862, p=0.363), PBS (t=-6.151, p=0.000) ve 10⁶ konidia/mL'lik dozda (t=11.231, p=0.143) anlamlı bir fark yok iken, 10⁵ konidia/mL (t=33.972, p=0.849), 10⁷ konidia/mL (t=13.356, p=0.000), 10⁸ konidia/mL (t=-0.191, p=0.000) ve 10⁹ konidia/mL (t=-19.869, p=0.000) fark gözlendi.

Tablo 3.13: Konidial süspansiyonun toplam hemosit sayısına ($\times 10^6$ hücre/mL) etkisi.

Deney Grupları	Toplam Hemosit Sayıları ($\times 10^6$ hücre/mL) (Ortalama \pm SH)*		İstatistik (<i>t</i> -testi)		
	GÖZLEM ZAMANI**		<i>t</i>	df	P
	24 saat	48 saat			
KONTROL	20.11 \pm 0.28ax	20.48 \pm 0.19ax	-6.862	58	0.000
PBS	20.70 \pm 0.17ax	20.72 \pm 0.17ax	-6.151	58	0.000
10 ⁵ konidia/ mL	20.11 \pm 0.11ax	25.18 \pm 0.22by	33.972	58	0.849
10 ⁶ konidia/ mL	20.53 \pm 0.20ax	20.59 \pm 0.25ax	11.231	58	0.000
10 ⁷ konidia/ mL	22.88 \pm 0.24bx	19.36 \pm 0.87cy	13.356	36.026	0.000
10 ⁸ konidia/ mL	23.66 \pm 0.22bx	18.92 \pm 0.35cy	-0.191	48.759	0.000
10 ⁹ konidia/ mL	26.02 \pm 0.32cx	13.80 \pm 0.16dy	-19.869	42.830	0.000

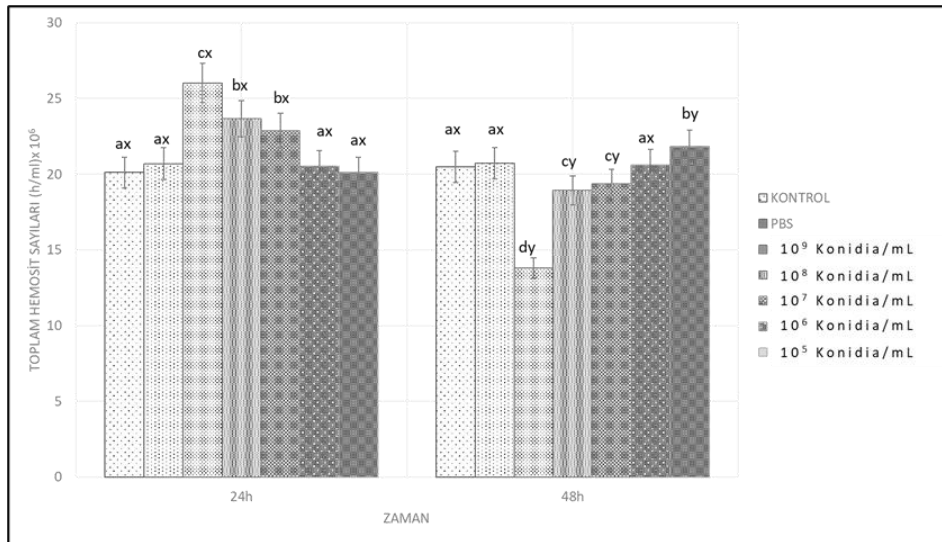
*Her biri 30 larvanın toplam hemosit sayısı ortalamalarını göstermektedir.

**Aynı sütunda (a-d) ve satırda (x-y) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0.05; Tukey HSD testi ve *t*-testi).

E. kuehniella larvalarında toplam hemosit sayılarına konidial süspansiyonun etkisi hem deney gruplarına (P=0,000) hem de zamana bağlıydı (P=0,000), deney ve kontrol grupları ile hemosit sayısı arasındaki etkileşim zamandan etkilendi (P=0,000) (Tablo 3.14).

Tablo 3.14: Farklı deney grupları (konidia), zaman ve etkileşimlerinin *E. kuehniella* larvasının toplam hemosit sayılarına etkilerini gösteren ANOVA tablosu.

Kaynak	df	KO	F	P	r ²
Deney Grupları	6	44,242	26,644	0,000	
Zaman	1	257,062	154,811	0,000	0,84
Deney Grupları x Zaman	6	506,392	304,965	0,000	
Hata	406	1,660			



Şekil 3.11: Konidial süspansiyon dozlarının farklı zaman dönemlerinde *E. kuehniella* larvalarının toplam hemosit sayılarına etkisi.

3.11 Hemolenfin Anti-Bakteriyal Aktivite Sonuçları

Hemolenfin antibakteriyal aktivitesinin incelenebilmesinde kontrol grupları ve her doz için *E. kuehniella* larvalarından mikrokapiler tüp yardımıyla hemolenf toplandı. Toplanan hemolenf miktarı Tablo 3.15'te gösterildi.

Normal larvalardan toplanan saf hemolenf, 24 ve 48 saat PBS uygulanan larvalardan toplanan hemolenfe ait anti-bakteriyal aktivite verileri Tablo 3.16 ve Şekil 3.12'de verildi. Bu veriler standart antibiyotikler (Tetracycline 10µg ve Sulfamethoxazole 25µg), PBS ve distile su emdirilmiş disklerle ait veriler ile karşılaştırılarak sunuldu. Normal larvalardan toplanan hemolenfin hem gram (+) hem gram (-) bakteriler üzerinde etkili olduğu, özellikle 14 mm zon çapı ile en çok *S. aureus* üzerine etkili olduğu görüldü. PBS uygulanan larvalardan 24 saat toplanan hemolenflerin 48 saate kıyasla daha yüksek aktiviteye sahip olduğu görüldü. Distile su ve PBS emdirilmiş disklerde aktivite gözlenmezken, standart antibiyotiklerden SXT, 44 mm zon çapı ile *P. vulgaris* ve *K. pneumoniae*'ye karşı etki gösterdi.

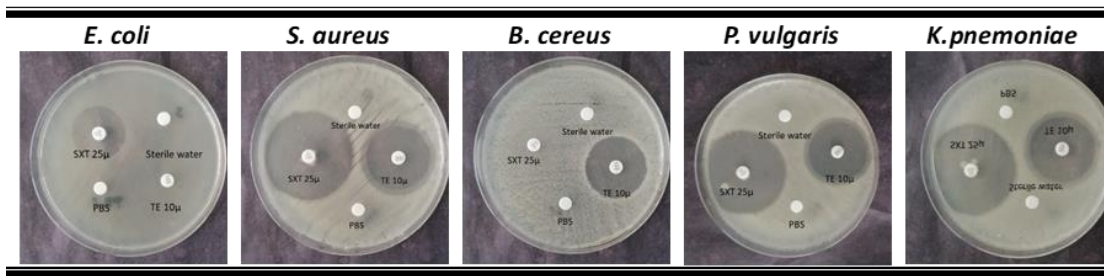
Tablo 3.15: Toplanan hemolenf miktarları.

Gruplar	Toplanan Hemolenf (µL)	Larva Sayısı
Kontrol (normal)	224 µL	60
PBS-kontrol/24h	210 µL	60
PBS-Kontrol-48h	218,5 µL	60
10mg/mL-24h	187,5 µL	60
10mg/mL-48h	203,7 µL	60
5mg/mL-24h	184 µL	60
5mg/mL-48h	178 µL	60
2mg/mL-24h	206 µL	60
2mg/mL-48h	200,4 µL	60
1mg/mL-24h	174,6 µL	60
1mg/mL-48h	163,9 µL	60
0,5mg/mL-24h	196,5 µL	60
0,5mg/mL-48h	200,5 µL	60
0,1mg/mL-24h	230,6 µL	60
0,1mg/mL-48h	173 µL	60
10 ⁹ konidia/mL-24h	169 µL	60
10 ⁹ konidia/mL-48h	196,8 µL	60
10 ⁸ konidia/mL-24h	187 µL	60
10 ⁸ konidia/mL-48h	206,3 µL	60
10 ⁷ konidia/mL-24h	147,9 µL	60
10 ⁷ konidia/mL-48h	198,5 µL	60
10 ⁶ konidia/mL-24h	203,4 µL	60
10 ⁶ konidia/mL-48h	201 µL	60
10 ⁵ konidia/mL-24h	203 µL	60
10 ⁵ konidia/mL-48h	163 µL	60

Tablo 3.16: Kontrol gruplarının anti-bakteriyel aktivitesinin belirlenmesi.

MİKROORGANİZMALAR	KONTROL GRUPLARI						
	HEMOLENF						
	KONTROL (SAF)	PBS-HEMOLENF		PBS	DİSTİLE SU	Tetracycline 10µg	Sulfamethoxazole 25µg
<i>E. coli</i>	12	9	9	-	-	-	28
<i>S. aureus</i>	14	10	8	-	-	32	41
<i>B. cereus</i>	9	10	7	-	-	28	-
<i>P. vulgaris</i>	8	7	7	-	-	30	44
<i>K. pnemoniae</i>	10	9	7	-	-	37	44

(-) zon olmadığını ifade etmektedir. Zon çapları mm cinsinden verildi.



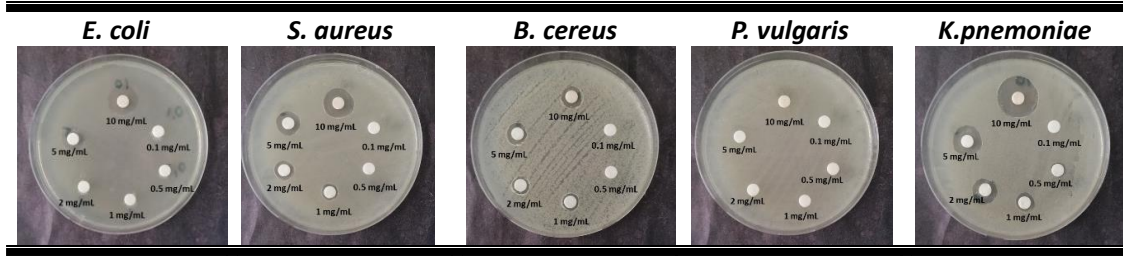
Şekil 3.12: Kontrol gruplarının disk difüzyon testi sonuçları.

P. mallochii'den elde edilen etanol ekstresinin deney gruplarında kullanılan dozları için yapılan anti-bakteriyel aktivite sonuçları Tablo 3.17'de ve Şekil 3.13'te verildi. Bu tabloya göre disklere emdirilen en yüksek ekstre konsantrasyonu olan 10 mg/mL dozda 20 mm zon çapı ile *K. pnemoniae*'ye karşı en iyi anti-bakteriyel aktivite gözlemlendi. Ekstreya ait en düşük doz konsantrasyonları olan 0,5 mg/mL ve 0,1 mg/mL dozlarında anti-bakteriyel aktivite gözlemlenmedi. Doz konsantrasyonu azaldıkça anti-bakteriyel etkinin azaldığı gözlemlendi.

Tablo 3.17: Ekstre dozlarının anti-bakteriyel aktivitesinin belirlenmesi.

MİKROORGANİZMALAR	EKSTRE KONTROL GRUPLARI					
	10 mg/mL	5 mg/mL	2 mg/mL	1 mg/mL	0,5 mg/mL	0,1 mg/mL
<i>E. coli</i>	16	13	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	16	13	10	9	-	-
<i>B. cereus</i>	11	10	9	8	-	-
<i>P. vulgaris</i>	-	-	-	-	-	-
<i>K. pnemoniae</i>	20	15	13	10	7	-

(-) zon olmadığını ifade etmektedir. Zon çapları mm cinsinden verildi.



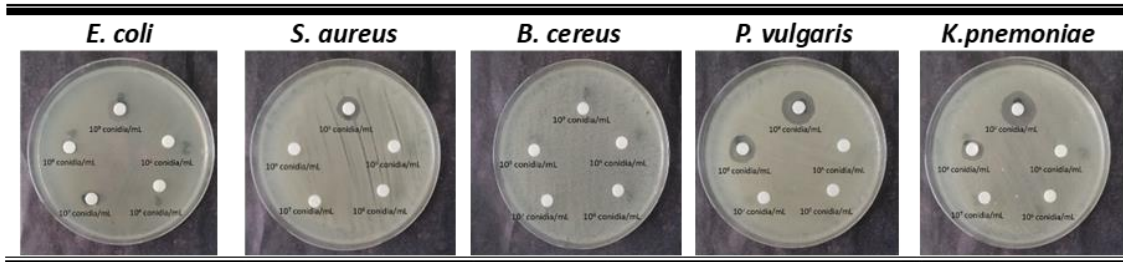
Şekil 3.13: Etanol ekstralarının disk difüzyon testi sonuçları.

Fungustan elde edilen konidial süspansiyon dozları için yapılan anti-bakteriyel aktivite sonuçları Tablo 3.18’de ve Şekil 3.14’te verildi. Bu tabloya göre disklere emdirilen en yüksek konidial doz olan 10^9 konidia/mL dozda 18 mm zon çapı ile *K. pneumoniae*’ye karşı en iyi anti-bakteriyel aktivite gözlemlendi. En düşük doz konsantrasyonları olan 10^6 konidia/mL ve 10^5 konidia/mL anti-bakteriyel aktivite gözlenmedi.

Tablo 3.18: Konidial süspansiyon dozlarının anti-bakteriyel aktivitesinin belirlenmesi.

MİKROORGANİZMALAR	KONİDİAL SÜSPANSİYON KONTROL GRUPLARI				
	10^9 konidia/mL	10^8 konidia/mL	10^7 konidia/mL	10^6 konidia/mL	10^5 konidia/mL
<i>E. coli</i>	12	10	9	-	-
<i>S. aureus</i>	13	-	-	-	-
<i>B. cereus</i>	-	-	-	-	-
<i>P. vulgaris</i>	17	13	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	18	12	-	-	-

(-) zon olmadığını ifade etmektedir. Zon çapları mm cinsinden verildi.



Şekil 3.14: Konidial süspansiyonların disk difüzyon testi sonuçları.

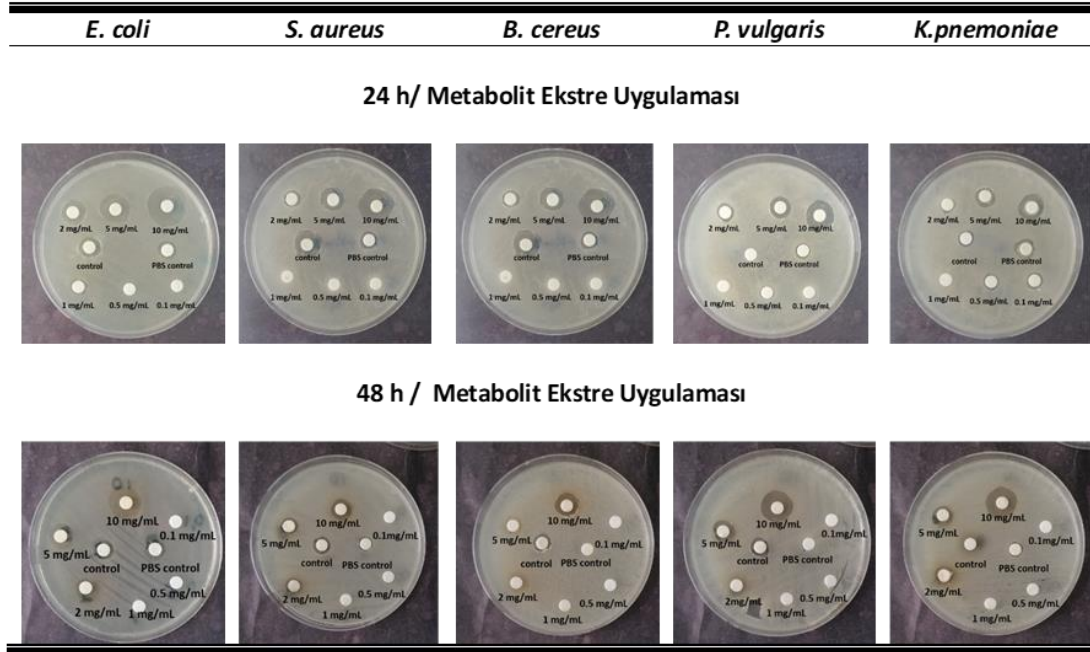
Fungusa ait etanol ekstresinin dozlarının larvalara 24 ve 48 süre ile uygulanması sonucu elde edilen hemolenflerin beş bakteri üzerindeki etkinliğinin belirlenmesi ile ilgili sonuçlar Tablo 3.19’ de mm cinsinden verildi. Sonuçlara göre en yüksek anti-bakteriyel etki 20 mm zon çapı ile *E. coli*’ye karşı 10 mg/mL/24 saat etanol ekstresi uygulanması sonucu elde edilen hemolenf örneğinde görüldü. Bu değeri 18 mm zon çapı ile *S. aureus*’a karşı yine 10 mg/mL/24 saat etanol ekstresi uygulanması sonucu elde edilen hemolenf örneği takip etti (Şekil 3.15).

Tablo 3.19: Ekstre uygulaması sonucu indüklenen hemolenfin anti-bakteriyal aktivitesinin belirlenmesi.

MİKROORGANİZMALAR	DENEY GRUPLARI											
	10		5		2		1		0,5		0,1	
	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL
	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
<i>E. coli</i>	20	16	15	12	13	10	9	-	7	-	-	-
<i>S. aureus</i>	18	11	13	9	9	8	-	-	-	-	-	-
<i>B. cereus</i>	10	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. vulgaris</i>	15	16	11	12	9	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. pnemoniae</i>	14	16	11	12	8	9	7	-	7	-	-	-

(-) zon olmadığını ifade etmektedir. Zon çapları mm cinsinden verildi.

Fungusa ait konidial süpsansiyon dozlarının larvalara 24 ve 48 süre ile uygulanması sonucu elde edilen hemolenflerin beş bakteri üzerindeki etkinliğinin belirlenmesi ile ilgili sonuçlar Tablo 3.20’ de mm cinsinden verildi. Konidial süpsansiyon uygulaması sonrasında toplanan hemolenf örneklerinin anti-bakteriyal etkisi incelendiğinde; en yüksek etki 24 mm ve 26 mm zon çapları ile *K. pnemoniae*’ye karşı 10^9 konidia/mL/24 saat ve 10^9 konidia/mL/48 saat konidial süpsansiyon uygulanması sonucu elde edilen hemolenf örneğinde görüldü (Şekil 3.16)

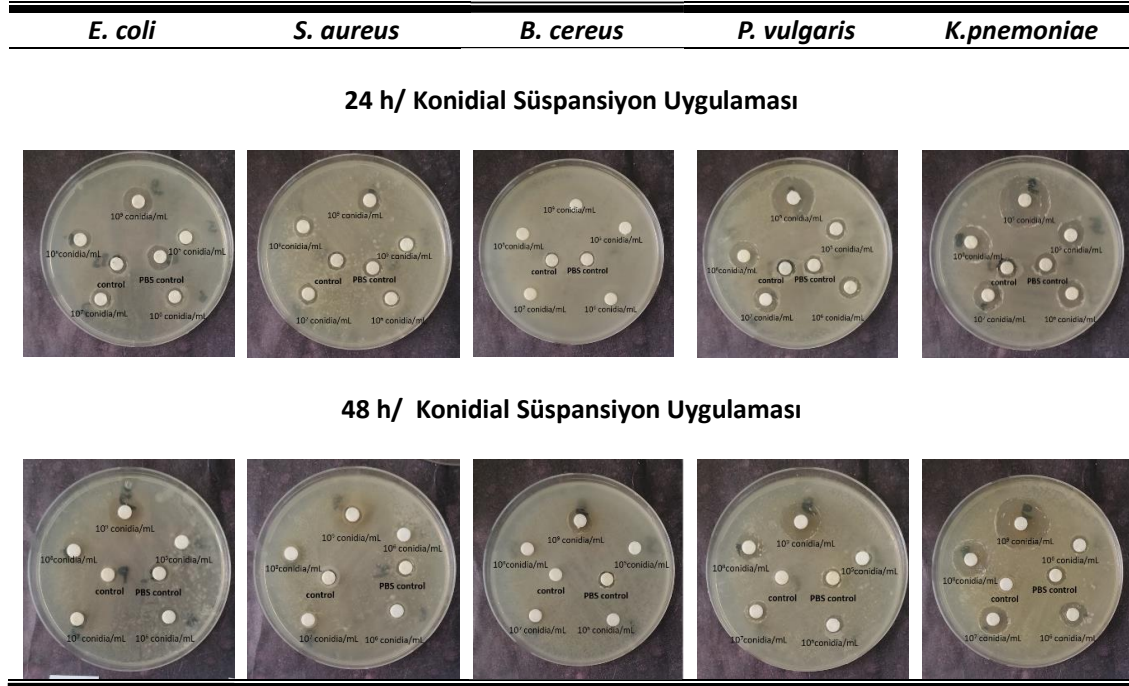


Şekil 3.15: Ekstre uygulaması sonucu indüklenen hemolenfin disk difüzyon testi sonuçları.

Tablo 3.20: Konidial süspansiyon uygulaması sonucu indüklenen hemolenfin anti-bakteriyal aktivitesinin belirlenmesi.

MİKROORGANİZMALAR	DENEY GRUPLARI									
	10 ⁹		10 ⁸		10 ⁷		10 ⁶		10 ⁵	
	konidia/mL	konidia/mL	konidia/mL	konidia/mL	konidia/mL	konidia/mL	konidia/mL	konidia/mL	konidia/mL	konidia/mL
<i>E. coli</i>	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
<i>S. aureus</i>	16	15	10	11	10	9	9	8	8	-
<i>B. cereus</i>	12	9	13	8	9	8	9	7	8	-
<i>P. vulgaris</i>	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. pnemoniae</i>	20	18	15	11	11	10	10	9	9	8
	24	26	18	18	15	15	13	13	13	9

(-) zon olmadığını ifade etmektedir. Zon çapları mm cinsinden verildi.



Şekil 3.16: Konidial süspansiyon uygulaması sonucu indüklenen hemolenfin disk difüzyon testi sonuçları.

3.12 Etkileşim Deneyleri

3.12.1 Parazitleme Sonrası Doz Uygulamasına (P/D) Bağlı Etkileşim

V. canescens 'e ait ergin bireylerin *E. kuehniella* larvalarını parazitlemesinden sonraki, 1., 4. ve 8. günlerde etanol ekstresi ve konidial süspansiyonlara ait dozların uygulaması yapıldı. Konak-parazitoit-ekstre üçlüsüne ait gruplar ve parazitoit kontrol grupları aynı etüv şartlarında tutularak her gün gelişimleri gözlemlendi. Parazitoit bireyler ile ilgili bütün deneyler farklı zamanlarda üç kez tekrar edildi. Probit analizi ile etanol ekstresinin ve konidial süspansiyonlarının *V. canescens*'in üç farklı dönemi (yumurta, 1.larva ve 3. larva evresi) için öldürücü değerleri belirlenerek LD₅₀ ve LD₉₉ değerleri hesaplandı (Tablo 3.21; 3.22; 3.23). Etanol ekstresi uygulaması sonucu probit ölüm doğrularından yararlanılarak yumurta evresinde (parazitlemeden 1 gün sonra) LD₅₀ değeri 4,735 mg/mL, 1. Larva evresinde (parazitlemeden 4 gün sonra) için 2,477 mg/mL, 3. Larva evresinde (parazitlemeden 8 gün sonra) için ise 0,896 mg/mL olarak tespit edildi. Probit ölüm doğrularından yararlanılarak yumurta evresindeki (parazitlemeden 1 gün sonra) LD₅₀ değeri 10^{8.141} konidia/mL, 1. Larva evresi (parazitlemeden 4 gün sonra) için 10^{7.168mg} konidia/mL, 3. Larva evresi (parazitlemeden 8 gün sonra) için ise 10^{6.080} konidia/mL olarak tespit edildi.

Tablo 3.21: *V. canescens* 'nin yumurta evresine (parazitlemeden 1 gün sonra) *P. mallochii* uygulanmasına bağlı LD değerleri.

<i>P. mallochii</i>	N	X ² (sd)	Eğim ± SH	Öldürücü doz (min.–mak.) (konidia/mL/larva)
Konidial Süspansiyon	180	0.458(3)	5.441±1.293	LD ₅₀ = 10 ^{8.141} (10 ^{7.417} -10 ^{9.652})
				LD ₆₀ = 10 ^{9.063} (10 ^{8.114} -10 ^{11.602})
				LD ₇₀ = 10 ^{10.164} (10 ^{8.855} -10 ^{14.250})
				LD ₈₀ = 10 ^{11.624} (10 ^{9.761} -10 ^{18.214})
				LD ₉₀ = 10 ^{14.003} (10 ^{11.134} -10 ^{25.692})
				LD ₉₉ = 10 ^{21.788} (10 ^{15.128} -10 ^{58.495})
Etanol Ekstresi	210	1.081(4)	0.645 ± 0.160	LD ₅₀ = 4.735 (2.322-19.004)
				LD ₆₀ = 11.704 (4.868-97.328)
				LD ₇₀ = 30.818 (9.978-601.846)
				LD ₈₀ = 95.698 (22.280-5264.626)
				LD ₉₀ = 460.635 (66.128-109386.253)
				LD ₉₉ = 19236.447 (840.556-1.535E8)

(N: toplam birey sayısı; sd: serbestlik derecesi, y=a+bx)

Tablo 3.22: *V. canescens* 'nin 1. larva evresine (parazitlenmeden 4 gün sonra) *P. mallochii* uygulanmasına bağlı LD değerleri.

<i>P. mallochii</i>	N	X ² (sd)	Eğim ± SH	Öldürücü doz (min.-mak.) (konidia/mL/larva)
Konidial Süspansiyon	180	0.092(3)	3.711±1.180	LD ₅₀ = 10 ^{7.168} (10 ^{6.126} -10 ^{8.687})
				LD ₆₀ = 10 ^{8.389} (10 ^{7.343} -10 ^{12.298})
				LD ₇₀ = 10 ^{9.925} (10 ^{8.341} -10 ^{18.770})
				LD ₈₀ = 10 ^{12.085} (10 ^{9.523} -10 ^{31.297})
				LD ₉₀ = 10 ^{15.878} (10 ^{11.349} -10 ^{64.140})
				LD ₉₉ = 10 ^{30.364} (10 ^{17.034} -10 ^{365.258})
Öldürücü doz (min.-mak.) (mg/mL/larva)				
Etanol Ekstresi	210	0.729(4)	0.606 ± 0.152	LD ₅₀ = 2.477 (1.201-7.277)
				LD ₆₀ = 6.491 (2.915-38.189)
				LD ₇₀ = 18.190 (6.463-262.156)
				LD ₈₀ = 60.754 (15.372-2667.201)
				LD ₉₀ = 323.542 (49.080-69335.194)
				LD ₉₉ = 17177.482 (730.554-1.682E8)

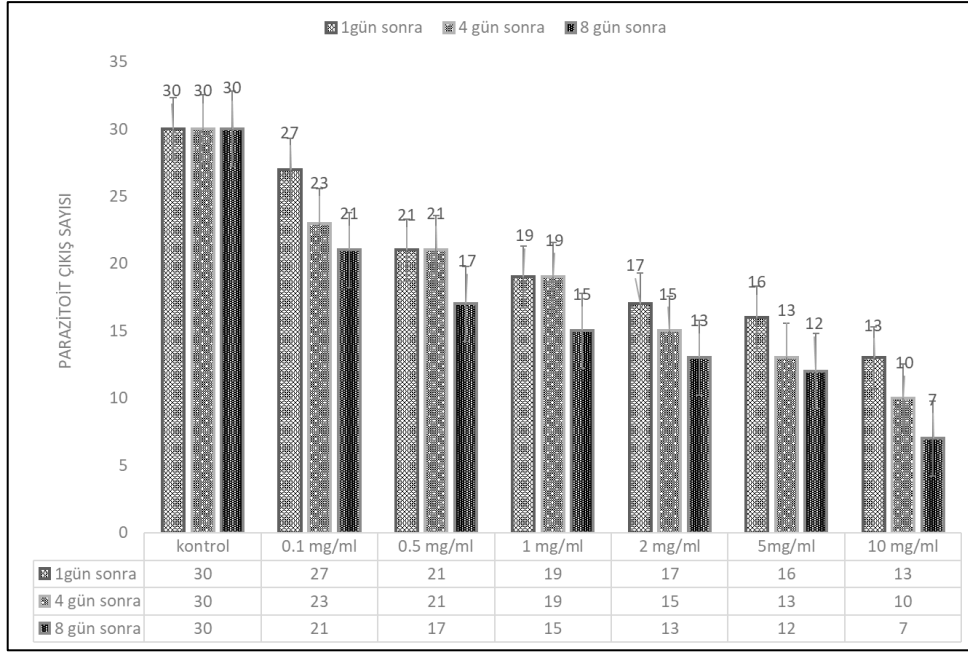
(N: toplam birey sayısı; sd: serbestlik derecesi, y=a+bx)

Tablo 3.23: *V. canescens* 'nin 3. larva evresine (parazitlenmeden 8 gün sonra) *P. mallochii* uygulanmasına bağlı LD değerleri.

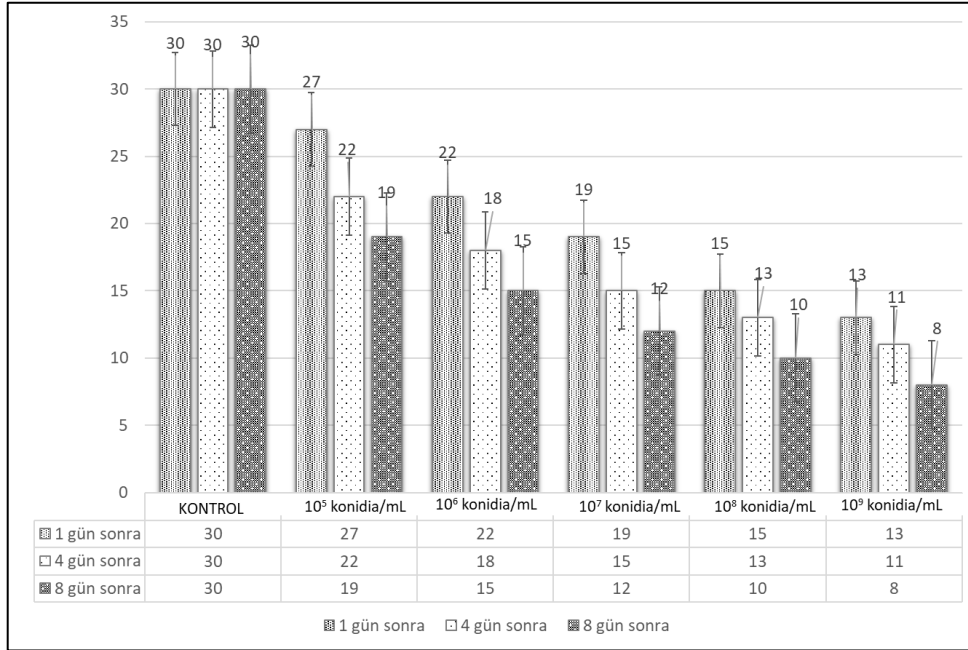
<i>P. mallochii</i>	N	X ² (sd)	Eğim ± SH	Öldürücü doz (min.-mak.) (konidia/mL/larva)
Konidial Süspansiyon	180	0.037(3)	3.730±1.178	LD ₅₀ = 10 ^{6.080} (10 ^{4.656} -10 ^{6.908})
				LD ₆₀ = 10 ^{7.110} (10 ^{6.178} -10 ^{8.646})
				LD ₇₀ = 10 ^{8.405} (10 ^{7.339} -10 ^{12.525})
				LD ₈₀ = 10 ^{10.223} (10 ^{8.482} -10 ^{20.456})
				LD ₉₀ = 10 ^{13.414} (10 ^{10.151} -10 ^{41.250})
				LD ₉₉ = 10 ^{25.567} (10 ^{15.258} -10 ^{222.397})
Öldürücü doz (min.-mak.) (mg/mL/larva)				
Etanol Ekstresi	210	2.301(4)	0.633± 0.152	LD ₅₀ = 0.896 (0.362-1.819)
				LD ₆₀ = 2.252 (1.129-6.206)
				LD ₇₀ = 6.037 (2.770-31.753)
				LD ₈₀ = 19.147 (6.748-251.728)
				LD ₉₀ = 94.894 (21.339-4833.357)
				LD ₉₉ = 4247.592 (298.898-5930870.948)

(N: toplam birey sayısı; sd: serbestlik derecesi, y=a+bx)

Parazitlenme sonrası ekstre ve konidial doz uygulaması aşamalarında, parazitoidlerin doza ve uygulama gününe bağlı olarak çıkış sayıları Şekil 3.17 ve 3.18'de verildi. Parazitlenme sonrası doz konsantrasyonu arttıkça ergin çıkış sayısının azaldığı görüldü. Buna ek olarak, parazitlenme sonrası 8. günde doz uygulaması yapılması durumunda parazitoid çıkış sayısının daha çok etkilendiği görüldü.



Şekil 3.17: Doz ve zamana bağlı olarak parazitoit çıkış sayıları (P/D aşaması-ekstre).



Şekil 3.18: Doz ve zaman bağlı olarak parazitoit çıkış sayıları (P/D aşaması-konidia).

3.12.1.1 Ergin Öncesi Gelişim Süresi (P/D Aşaması)

V. canescens'te farklı konsantrasyonlarda konidial süspansiyon uygulamasının ergin öncesi gelişim süresine etkisi Tablo 3.24'te verilmektedir. Parazitoitin yumurta evresinde ergin öncesi gelişim süresinin kontrole göre en düşük doz olan 10⁵ konidia/mL'de gösterdiği azalma ile diğer dozlarda (10⁷, 10⁸ ve 10⁹ konidia/mL) ise gösterdiği artış anlamlıydı (F=36.271; sd=5, 174; p= 0.000). Parazitlenmeden 4 gün sonra doz uygulanmasına ait veriler

incelendiğinde ise; kontrole göre 10^7 , 10^8 ve 10^9 konidia/mL dozlarındaki artışlar anlamlı bulundu ($F=71.506$; $sd=5, 174$; $p= 0.000$). Parazitlenmeden 8 gün sonra doz uygulanmasında ise kontrole göre $10^6,10^7$, 10^8 ve 10^9 konidia/mL'lik dozlardaki artışlar anlamlıydı ($F=110.484$; $sd=5, 174$; $p= 0.000$). Tüm uygulama dozlarında parazitlenmeden sonraki ilk güne kıyasla 4. ve 8. günlerdeki, ergin öncesi gelişim süresinde görülen artışlar istatistiksel olarak anlamlıydı (Tablo 3.24).

V. canescens'te farklı konsantrasyonlarda etanol ekstresi uygulamasının ergin öncesi gelişim süresine etkisi Tablo 3.24'te verilmektedir. Parazitoitin yumurta evresinde kontrole göre dozlar arasında istatistiksel açıdan fark yoktu ancak 2 mg/mL'ye göre 5 ve 10 mg/mL'deki artış anlamlıydı ($F=7.212$; $sd=6, 154$; $p= 0.000$). Parazitoitin 1.evre larva evresinde ise kontrole göre 5 mg/mL dışında tüm dozlardaki dalgalanmalar anlamlı bulundu ($F=35.399$; $sd=6, 136$; $p= 0.000$). 3. larva evresine ait veriler incelendiğinde; kontrole göre 0,1 ve 10 mg/mL dozlarındaki artış ile 5 mg/mL dozundaki azalma istatistiksel olarak anlamlıydı ($F=30.210$; $sd=6, 116$; $p= 0.000$). Parazitlenmeden sonraki 4. ve 8. günlerde 0,1 ve 0,5 mg/mL doz uygulanmış gruplardaki artış parazitlenmeden 1 gün sonra doz uygulanan gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bunun dışında 5 mg/mL doz uygulanmış gruplarda 1. ve 4. günlere kıyasla 8. gündeki azalma istatistiksel olarak anlamlıydı. En yüksek doz olan 10 mg/mL'nin uygulandığı gruplarda ergin öncesi gelişim süresinin parazitlenmeden 1 gün sonra doz uygulanması ile 25,39 gün olduğu parazitlenmeden sonraki 8.günde doz uygulanması sonucu 30,86 güne yükseldiği belirlendi (Tablo 3.24).

Çift yönlü ANOVA sonuçlarına göre; ekstre uygulamasında *V. canescens*'te ergin öncesi gelişim süresi hem deney gruplarına ($P=0,000$) hem de zamana bağlıydı ($P=0,000$) ve deney ve kontrol grupları ile doz miktarı arasındaki etkileşim zamandan etkilendi ($P=0,000$) (Tablo 3.25). Konidial süspansiyon uygulaması sonucunda ise yine *V. canescens*'te ergin öncesi gelişim süresi hem deney gruplarına ($P=0,000$) hem de zamana bağlıydı ($P=0,000$) ve deney ve kontrol grupları ile doz miktarı arasındaki etkileşim zamandan etkilendi ($P=0,000$) (Tablo 3.25).

Tablo 3.24: *V. canescens*'te *P. mallochii*'nin ergin öncesi gelişim süresine etkisi (P/D).

		Ergin Öncesi Gelişim Süresi (Gün)						
		Yumurta Evresi (Parazitmeden 1 Gün Sonra)		1. Larva Evresi (Parazitmeden 4 Gün Sonra)		3. Larva Evresi (Parazitmeden 8 Gün Sonra)		
Doz	N	Min- Mak	$\bar{x} \pm SH^*$	Min- Mak	$\bar{x} \pm SH^*$	Min- Mak	$\bar{x} \pm SH^*$	
Konidial Süspansiyon	Kontrol	30	23-26	24.67±0.154ax	23-26	24.67±0.154ax	23-26	24.67±0.154ax
	10 ⁵	30	21-26	23.30±0.250bx	22-27	24.33±0.227ay	23-27	25.03±0.131ay
	10 ⁶	30	22-26	24.30±0.199abx	24-27	25.10±0.154ay	24-28	26.23±0.190bz
	10 ⁷	30	23-28	25.83±0.267cx	25-28	26.03±0.122bx	25-29	27.10±0.200by
	10 ⁸	30	24-29	26.87±0.252cdx	26-30	27.27±0.219cx	26-30	28.07±0.203cy
	10 ⁹	30	24-30	27.37±0.38dx	26-35	29.37±0.379dy	28-35	31.00±0.182dz
Etanol Ekstresi	Kontrol	30	23-26	24.50±0.150abcx	23-26	24.50±0.150ax	23-26	24.50±0.150ax
	0,1	30	23-25	23.89±0.187abx	25-29	26.46±0.318cy	24-28	26.77±0.294by
	0,5	30	22-26	23.92±0.169abx	25-28	26.32±0.250cy	24-27	25.53±0.274aby
	1	30	22-26	24.75±0.298bcx	25-28	27.24±0.206cy	21-26	24.39±0.397ax
	2	30	21-26	23.41±0.284axy	22-25	23.24±0.265bx	22-26	24.47±0.403ay
	5	30	22-29	25.50±0.574cx	23-26	24.87±0.256ax	21-25	22.71±0.370cy
	10	30	22-27	25.39±0.282cx	21-25	23.00±0.447by	27-35	30.86±1.243dz

*Aynı sütunda (a-d) ve satırda (x-y) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0.05). N; Deneye giren böcek sayısı, SH; Standart Hata.

Tablo 3.25: Farklı deney grupları (kontrol ve doz uygulanmış), zaman ve etkileşimlerinin *V. canescens*'in ergin öncesi gelişim süresine etkilerini gösteren ANOVA tablosu (P/D).

	Kaynak	df	KO	F	P	r ²
Konidial süspansiyon	Deney Grupları	5	323,302	192,375	0,000	0,68
	Zaman	2	119,572	71,149	0,000	
	Deney Grupları x zaman	10	11,201	6,665	0,000	
	Hata	522	1,681			
Etanol ekstresi	Deney Grupları	6	41,550	23,327	0,000	0,54
	Zaman	2	40,600	22,794	0,000	
	Deney Grupları x zaman	12	47,72	26,792	0,000	
	Hata	406	1,78			

3.12.1.2 Hayat Uzunluğu (P/D Aşaması)

V. canescens'te farklı konsantrasyonlarda etanol ekstresi uygulamasının ergin hayat uzunluğuna etkisi Tablo 3.26'te verilmektedir. Tablo 3.26 incelendiğinde parazitoitin yumurta evresinde kontrole göre tüm dozlardaki azalmalar ($F=19.442$; $sd=6, 154$; $p= 0.000$) ve parazitlenmeden sonraki 4.günde de (1. Larva evresi) kontrole göre tüm dozlardaki azalmalar istatistiksel olarak anlamlıydı ($F=14.557$; $sd=6, 136$; $p= 0.000$). Buna ek olarak yine parazitlenme sonrası 8. günde doz uygulanması sonucu kontrole göre tüm dozlardaki azalmalar anlamlı bulundu ($F=19.778$; $sd=6, 116$; $p= 0.000$). Parazitlenmeden sonra 2mg/mL doz uygulanmış gruplarda 1. ve 4. günlere kıyasla 8. gündeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. En yüksek doz olan 10 mg/mL'nin uygulandığı gruplarda ergin hayat uzunluğunun 1,4 ve 8. gündeki gruplarda benzerlik gösterdiği belirlendi (Tablo 3.26).

V. canescens'te farklı konsantrasyonlarda konidial süspansiyon uygulamasının ergin hayat uzunluğuna etkisi Tablo 3.26'te verilmektedir. Parazitlenmeden 1 gün sonra doz uygulanması durumunda kontrole tüm dozlarda görülen azalmalar anlamlıydı ($F=258.356$; $sd=5, 174$; $p= 0.000$). Buna ek olarak kontrole göre parazitlenme sonrası 4. günde doz uygulanması sonucu görülen azalmalar ($F=519.688$; $sd=5, 174$; $p= 0.000$) ve 8. günde doz uygulanması sonucu görülen azalmalarda ($F=566.624$; $sd=5, 174$; $p= 0.000$) anlamlı bulundu. En yüksek dozda (10^9 konidia/mL) ise ergin hayat uzunluğunun sırasıyla 3,70, 2,50 ve 1,70 güne kadar düştüğü görüldü. Tüm deney gruplarında parazitlenmeden 1 gün sonra doz uygulamasına kıyasla 4. ve 8. günlerde ergin hayat uzunluğunun kısaldığı görüldü.

Çift yönlü ANOVA sonuçlarına göre ekstre uygulaması sonucu *V. canescens*'te ergin hayat uzunluğu deney gruplarına bağlı ($P=0,000$) ancak zamana bağlı değildi ($P=0,205$). Deney ve kontrol grupları ile dozlar arasındaki etkileşim zamandan etkilendi ($P=0,000$) Konidial süspansiyon uygulaması sonucunda ise *V. canescens*'te ergin hayat uzunluğu hem deney gruplarına ($P=0,000$) hem de zamana bağlıydı ($P=0,000$) ve deney ve kontrol grupları ile doz miktarı arasındaki etkileşim zamandan etkilendi ($P=0,000$) (Tablo 3.27).

Tablo 3.26: *P. mallochii*'nin *V. canescens*'in hayat uzunluğu süresine etkisi (P/D).

		Ergin Hayat Uzunluğu (Gün)						
		Yumurta Evresi (Parazitlenmeden 1 Gün Sonra)		1. Larva Evresi (Parazitlenmeden 4 Gün Sonra)		3. Larva Evresi (Parazitlenmeden 8 Gün Sonra)		
	Doz	N	Min- Mak	$\bar{x} \pm SH^*$	Min- Mak	$\bar{x} \pm SH^*$	Min.- Mak	$\bar{x} \pm SH^*$
Konidial Süspansiyon	Kontrol	30	11-17	13.40±0.265ax	11-17	13.40±0.265ax	11-17	13.40±0.265ax
	10 ⁵	30	10-15	11.03±0.217bx	8-10	8.83±0.118by	7-10	8.20±0.121bz
	10 ⁶	30	8-11	9.23±0.190cx	4-8	7.03±0.182cy	5-9	7.03±0.148cy
	10 ⁷	30	5-9	7.43±0.157dx	5-7	5.73±0.117dy	2-6	5.33±0.154dy
	10 ⁸	30	4-8	5.87±0.171ex	2-5	3.17±0.699ey	2-4	3.13±0.157ey
	10 ⁹	30	1-6	3.70±0.284fx	1-6	2.50±0.196ey	1-4	1.70±0.167fz
Etanol Ekstresi	Kontrol	30	5-10	7.30±0.221ax	5-10	7.30±0.221ax	5-10	7.30±0.221ax
	0,1	30	4-8	5.52±0.802bcx	4-8	5.54±0.199bx	5-8	6.00±0.208bx
	0,5	30	5-7	6.08±0.584bx	2-8	5.52±0.272bx	4-8	5.53±0.307bx
	1	30	3-6	4.30±0.979dx	2-7	4.86±0.278bxy	3-7	5.33±0.198bcy
	2	30	2-8	5.82±1.220bcx	5-6	5.29±0.114bx	3-6	4.29±0.223cdy
	5	30	5-7	5.70±0.801bcx	4-6	5.20±0.145bx	4-6	5.43±0.173bcx
	10	30	3-8	4.94±1.589cdx	2-7	4.91±0.392bx	2-7	4.14±0.634dx

*Aynı sütunda (a-f) ve satırda (x-y) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0.05). N; Deneye giren böcek sayısı, SH; Standart Hata.

Tablo 3.27: Farklı deney grupları (kontrol ve ekstre dozu uygulanmış), zaman ve etkileşimlerinin *V. canescens*'in ergin hayat uzunluğuna etkilerini gösteren ANOVA tablosu (P/D).

	Kaynak	df	KO	F	P	r ²
Konidial süspansiyon	Deney Grupları	5	1353,816	1235,620	0,000	0,92
	Zaman	2	203,585	185,811	0,000	
	Deney Grupları x zaman	10	10,534	9,614	0,000	
	Hata	522	1,096			
Etanol ekstresi	Deney Grupları	6	54,704	47,533	0,000	0,44
	Zaman	2	1,828	1,589	0,205	
	Deney Grupları x zaman	12	3,67	3,194	0,000	
	Hata	406	1,15			

3.12.1.3 Boy Uzunluğu (P/D Aşaması)

V. canescens'te farklı konsantrasyonlarda etanol ekstre uygulamasının ergin boy uzunluğuna etkisi Tablo 3.28'te verilmektedir. Tablo 3.28 incelendiğinde parazitoitin yumurta evresinde kontrole göre 0,1 mg/mL'deki artış ve 10 mg/mL'deki azalma istatistiksel olarak anlamlıydı ($F=20.026$; $sd=6, 154$; $p= 0.000$). Parazitlenmeden sonraki 4.günde (1. Larva evresi) ise kontrole göre 1 mg/mL'deki artış ve 10 mg/mL'deki azalma istatistiksel olarak anlamlıydı ($F=15.667$; $sd=6, 136$; $p= 0.000$). Buna ek olarak yine parazitlenme sonrası 8. günde doz uygulanması sonucu kontrole göre sadece 10 mg/mL'deki azalma anlamlı bulundu ($F=4.857$; $sd=6, 116$; $p= 0.000$). Buna ek olarak, 0,1 mg/mL doz uygulanmış gruplarda parazitlenmeden sonraki 1.güne kıyasla 4 ve 8.gündeki azalma ile 1mg/mL'deki grupların 4.gününe kıyasla 1 ve 8. gündeki azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulundu. En yüksek doz olan 10 mg/mL'nin uygulandığı gruplarda ergin boy uzunluğunun 1, 4 ve 8. gündeki gruplarda benzerlik gösterdiği belirlendi. (Tablo 3.28).

V. canescens'te farklı konsantrasyonlarda konidial süspansiyon uygulamasının ergin boy uzunluğuna etkisi Tablo 3.28'te verilmektedir. Parazitoitin yumurta evresinde kontrole göre en düşük dozlarda (10^5 , 10^6 , ve 10^7 konidia/mL) görülen azalma anlamlıydı ($F=17.521$; $sd=5, 174$; $p= 0.000$). 1. Larva evresi verileri incelendiğinde ise kontrole göre sadece 10^7 konidia/mL dozda görülen azalma anlamlıydı ($F=6.136$; $sd=5, 174$; $p= 0.000$). 3. Larva evre verileri incelendiğinde ise kontrole göre fark görülmedi ($F=2.422$; $sd=5, 174$; $p= 0.038$). Buna ek olarak, 10^6 konidia/mL doz uygulanmış gruplarda parazitlenmeden sonraki 1. gün doz uygulanan gruplara kıyasla 4. ve 8. günlerdeki artmalar anlamlıydı. 10^7 konidia/mL doz uygulanmış gruplarda ise 1. ve 4. güne kıyasla 8. gündeki artma anlamlı bulundu

Çift yönlü ANOVA sonuçlarına göre *V. canescens*'te ekstre uygulaması sonucu ergin boy uzunluğu hem deney gruplarına ($P=0,000$) hem de zamana bağlıydı ($P=0,038$) ve deney ve kontrol grupları ile doz miktarı arasındaki etkileşim zamandan etkilendi ($P=0,000$) (Tablo 3.29). Konidial süspansiyon uygulaması sonucunda ise *V. canescens*'te ergin boy uzunluğu hem deney gruplarına ($P=0,000$) hem de zamana bağlıydı ($P=0,000$) ve deney ve kontrol grupları ile doz miktarı arasındaki etkileşim zamandan etkilendi ($P=0,000$) (Tablo 3.29).

Tablo 3.28: *P. mallochii*'nin *V. canescens*'in boy uzunluğuna etkisi (P/D).

Ergin Boy Uzunluğu (mm)								
	Doz	N	Yumurta Evresi (Parazitlenmeden 1 Gün Sonra)		1. Larva Evresi (Parazitlenmeden 4 Gün Sonra)		3. Larva Evresi (Parazitlenmeden 8 Gün Sonra)	
			Min- Mak	$\bar{x} \pm SH^*$	Min- Mak	$\bar{x} \pm SH^*$	Min- Mak	$\bar{x} \pm SH^*$
Konidial Süspansiyon	Kontrol	30	13-16	14.57±0.149ax	13-16	14.57±0.149ax	13-16	14.57±0.149ax
	10 ⁵	30	12-16	13.83±0.204bcx	12-16	14.43±0.164ax	12-16	13.93±0.179ax
	10 ⁶	30	12-15	12.83±0.173dx	12-15	13.97±0.155aby	12-15	14.13±0.157ay
	10 ⁷	30	12-15	13.17±0.152cdx	12-15	13.60±0.149bx	13-16	14.27±0.179ay
	10 ⁸	30	13-16	14.03±0.182abx	13-16	14.33±0.168ax	13-16	14.20±0.176ax
	10 ⁹	30	13-16	14.47±0.124abx	13-16	14.53±0.133ax	14-16	14.57±0.114ax
Etanol Ekstresi	Kontrol	30	11-14	12.26±0.691abx	11-14	12.26±0.691abx	11-14	12.26±0.691ax
	0,1	30	12-16	13.77±1.154cx	11-14	12.45±0.658ay	11-14	12.36±0.726ay
	0,5	30	11-14	12.50±0.834abx	11-16	12.20±1.190abx	11-16	12.40±1.454ax
	1	30	12-14	12.65±0.745ax	12-16	13.57±1.247cy	11-14	12.50±0.785ax
	2	30	11-15	12.09±1.376abx	11-14	12.00±0.709abx	11-14	11.70±0.848abx
	5	30	11-13	11.70±0.656bx	10-12	11.40±0.632adx	11-13	11.57±0.646abx
	10	30	10-13	10.83±0.985dx	10-12	10.72±0.646dx	10-12	11.00±0.816bx

*Aynı sütunda (a-d) ve satırda (x-y) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0.05). N; Deneye giren böcek sayısı, SH; Standart Hata.

Tablo 3.29: Farklı deney grupları (kontrol ve ekstre dozu uygulanmış), zaman ve etkileşimlerinin *V. canescens*'in boy uzunluğuna etkilerini gösteren ANOVA tablosu (P/D).

	Kaynak	df	KO	F	P	r ²
Konidial süspansiyon	Deney Grupları	5	14,222	18,465	0,000	0,21
	Zaman	2	11,772	15,284	0,000	
	Deney Grupları x zaman	10	3,261	4,234	0,000	
	Hata	522	0,770			
Etanol ekstresi	Deney Grupları	6	23,829	28,934	0,000	0,39
	Zaman	2	2,707	3,286	0,038	
	Deney Grupları x zaman	12	3,63	4,083	0,000	
	Hata	406	0,82			

3.12.1.4 Ağırlık (P/D Aşaması)

Bu aşamada parazitleme sonrası doz uygulaması yapılan konaklardan çıkan ergin parazitoidlerin ağırlığı her doz ve kontrol grupları için ayrı ayrı ölçülerek belirlendi. *V. canescens*'te farklı konsantrasyonlarda ekstre uygulamasının ergin ağırlığına etkisi Tablo 3.30'de verilmektedir. Tablo 3.30 incelendiğinde parazitoidin yumurta evresinde kontrole göre 0,1, 1, 2 ve 10 mg/mL'deki azalmalar istatistiksel olarak anlamlıydı ($F=4.808$; $sd=6, 154$; $p= 0.000$). Parazitlemeden sonraki 4.günde (1. Larva evresi) ise kontrole göre 0,5, 1, 2, ve 10 mg/mL'deki azalmalar istatistiksel olarak anlamlıydı ($F=9.133$; $sd=6, 136$; $p= 0.000$). Buna ek olarak yine parazitleme sonrası 8. günde doz uygulanması sonucu kontrole göre 0,5, 2 ve 10 mg/mL'deki azalmalar anlamlıydı ($F=6.456$; $sd=6, 116$; $p= 0.000$). Ayrıca, 1 mg/mL doz uygulanmış gruplarda parazitlemeden sonraki 1. ve 4. güne kıyasla 8.gündeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. En yüksek doz olan 10 mg/mL'nin uygulandığı gruplarda ergin ağırlığının 1, 4 ve 8. gündeki gruplarda benzerlik gösterdiği belirlendi (Tablo 3.30).

V. canescens'te farklı konsantrasyonlarda konidial süspansiyon uygulamasının ergin ağırlığına etkisi Tablo 3.30'de verilmektedir. Parazitoidin yumurta evresinde kontrole göre diğer tüm dozlarda istatistiksel açıdan fark gözlenmedi ($F=1.850$; $sd=5, 174$; $p= 0.106$). Parazitlemeden sonraki 4.günde (1. Larva evresi) doz uygulanmasında ise kontrole göre sadece 10^7 konidia/mL dozundaki artma istatistiksel olarak anlamlıydı ($F=3.478$; $sd=5, 174$; $p= 0.005$). Buna ek olarak yine parazitleme sonrası 8. günde doz uygulanması sonucu kontrole göre diğer tüm dozlarda fark gözlenmedi ($F=2.588$; $sd=5, 174$; $p= 0.028$).

Çift yönlü ANOVA sonuçlarına göre *V. canescens*'te ekstre uygulaması sonucu ergin ağırlığı hem deney gruplarına ($P=0,000$) hem de zamana bağlıydı ($P=0,040$) ancak kontrol grupları ile doz miktarı arasındaki etkileşim zamandan etkilenmedi ($P=0,053$) (Tablo 3.31). Konidial süspansiyon uygulaması sonucunda ise *V. canescens*'te ergin ağırlığı deney gruplarına ($P=0,291$) bağlı değilken zamana bağlıydı ($P=0,004$) ve deney ve kontrol grupları ile doz miktarı arasındaki etkileşim zamandan etkilendi ($P=0,001$) (Tablo 3.31).

Tablo 3.30: *P. mallochii*'nin *V. canescens*'in ağırlığına etkisi (P/D).

		Ergin Ağırlığı (mg)						
		Yumurta Evresi (Parazitlenmeden 1 Gün Sonra)		1. Larva Evresi (Parazitlenmeden 4 Gün Sonra)		3. Larva Evresi (Parazitlenmeden 8 Gün Sonra)		
Doz	N	Min- Mak	$\bar{x} \pm SH^*$	Min- Mak	$\bar{x} \pm SH^*$	Min- Mak	$\bar{x} \pm SH^*$	
Konidial Süspansiyon	Kontrol	30	6.96-7.65	7.15±0.273ax	6.96-7.65	7.15±0.273ax	6.96-7.65	7.15±0.273ax
	10 ⁵	30	6.96-7.95	7.19±0.366ax	6.78-7.63	7.17±0.034abx	6.89-7.65	7.28±0.033ax
	10 ⁶	30	6.12-7.89	7.15±0.076ax	6.12-7.85	7.10±0.073ax	6.12-7.99	7.08±0.085ax
	10 ⁷	30	6.13-7.70	6.95±0.094ax	7.12-7.81	7.39±0.031by	6.45-7.56	7.12±0.044ax
	10 ⁸	30	6.12-7.72	7.04±0.085ax	6.12-7.87	7.21±0.091abx	6.68-7.81	7.27±0.049ax
	10 ⁹	30	6.66-7.50	7.07±0.034ax	6.75-7.65	7.14±0.030ax	6.92-7.60	7.16±0.034ax
Etanol Ekstresi	Kontrol	30	7.12-7.81	7.39±0.316ax	7.12-7.81	7.39±0.316ax	7.12-7.81	7.39±0.316ax
	0,1	30	6.01-7.74	6.84±0.909bx	6.12-7.81	7.01±0.114abxy	6.48-7.63	7.24±0.054abcx
	0,5	30	6.12-7.99	7.08±0.107abx	6.02-7.70	6.86±0.105bx	6.15-7.70	6.85±0.144bx
	1	30	6.12-7.58	6.88±0.125bx	6.12-7.52	6.74±0.081bx	7.10-7.60	7.20±0.029abcy
	2	30	6.13-7.51	6.81±0.112bx	6.12-7.56	6.62±0.124bx	6.11-7.62	6.83±0.126bx
	5	30	6.15-7.87	7.15±0.144abx	6.45-7.82	7.29±0.092ax	6.15-7.88	7.32±0.135acx
10	30	6.11-7.38	6.95±0.109bx	6.12-7.32	6.83±0.147bx	6.12-7.81	6.96±0.232bcx	

*Aynı sütunda (a-c) ve satırda (x-y) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0.05). N; Deneye giren böcek sayısı, n; Ergin Olan Birey Sayısı, SH; Standart Hata.

Tablo 3.31: Farklı deney grupları (kontrol ve ekstre dozu uygulanmış), zaman ve etkileşimlerinin *V. canescens*'in ağırlığına etkilerini gösteren ANOVA tablosu (P/D).

	Kaynak	df	KO	F	P	r ²
Konidial süspansiyon	Deney Grupları	5	0,119	1,236	0,291	0,57
	Zaman	2	0,549	5,690	0,004	
	Deney Grupları x zaman	10	0,307	3,182	0,001	
	Hata	522	0,096			
Etanol ekstresi	Deney Grupları	6	3,217	16,453	0,000	0,24
	Zaman	2	0,639	3,255	0,040	
	Deney Grupları x zaman	12	3,43	1,756	0,053	
	Hata	406	0,19			

3.12.2 Doz Uygulamasından Sonrası Parazitlenmeye Bağlı Etkileşim (D/P Aşaması)

Konak-parazitoit-ekstre üçlüsüne ait gruplar ve parazitoit kontrol grupları aynı etüv şartlarında tutularak her gün gelişimleri gözlemlendi ve parazitoit bireyler ile ilgili bütün deneyler farklı zamanlarda üç kez tekrar edildi. Probit analizi ile etanol ekstresi uygulamasını takip eden 1., 4. ve 8. günlerden sonra parazitlenen larvalar dikkate alınarak öldürücü değerleri belirlendi ve LD₅₀ ile LD₉₉ değerleri hesaplandı. Probit ölüm doğrularından yararlanılarak doz uygulamasından 1 gün sonra parazitlenmede LD₅₀ değeri 48,168 mg/mL, doz uygulamasından 4 gün sonra parazitlenmede 12,1891 mg/mL, doz uygulamasından 8 gün sonraki parazitlenme için 15,428 mg/mL olarak tespit edildi (Tablo 3.32; Tablo 3.33; Tablo 3.34). Probit analizi ile konidial süspansiyon uygulamasını takip eden 1., 4. ve 8. günlerden sonra parazitlenen larvalar dikkate alınarak öldürücü değerleri belirlendi ve LD₅₀ ile LD₉₉ değerleri hesaplandı. Probit ölüm doğrularından yararlanılarak doz uygulamasından 1 gün sonra parazitlenmede LD₅₀ değeri 10^{14.455} konidia/mL, doz uygulamasından 4 gün sonra parazitlenmede 10^{10.927} konidia/mL, doz uygulamasından 8 gün sonraki parazitlenme için 10^{9.391} konidia/mL olarak tespit edildi (Tablo 3.32; Tablo 3.33; Tablo 3.34).

Tablo 3.32: *V. canescens*' de doz uygulamasından 1 gün sonra parazitlenmeye bağlı LD değerleri.

<i>P. mallochii</i>	N	X ² (sd)	Eğim ± SH	Öldürücü doz (min.–mak.) (konidia/mL/larva)
Konidial Süspansiyon	180	0.193(3)	3.839±1.669	LD ₅₀ = 10 ^{14.455} (10 ^{10.339} -10 ^{17.978})
				LD ₆₀ = 10 ^{16.827} (10 ^{11.268} -10 ^{20.902})
				LD ₇₀ = 10 ^{19.797} (10 ^{19.797} -10 ^{62.690})
				LD ₈₀ = 10 ^{23.947} (10 ^{13.706} -10 ^{22.693})
				LD ₉₀ = 10 ^{31.178} (10 ^{15.841} -10 ^{135.262})
				LD ₉₉ = 10 ^{58.346} (10 ^{22.289} -10 ^{94.061})
Etanol Ekstresi	210	1.407(4)	0.757±0.218	LD ₅₀ = 48.168 (14.046-2724.147)
				LD ₆₀ = 104.53 (23.669-15498.009)
				LD ₇₀ = 237.212 (40.938-100606.243)
				LD ₈₀ = 622.260 (77.134-905066.591)
				LD ₉₀ = 2370.415 (184.268-1.919E7)
				LD ₉₉ = 56793.556 (1433.461-2.758E10)

(N: toplam birey sayısı; sd: serbestlik derecesi, y=a+bx)

Tablo 3.33: *V. canescens* 'de doz uygulamasından 4 gün sonra parazitlemeye bağlı LD değerleri.

<i>P. mallochii</i>	N	X ² (sd)	Eğim ± SH	Öldürücü doz (min.–mak.) (konidia/mL/larva)
Konidial Süspansiyon	180	0.619(3)	3.323±1.303	LD ₅₀ = 10 ^{10.927} (10 ^{8.743} -10 ^{47.841})
				LD ₆₀ = 10 ^{13.024} (10 ^{11.268} -10 ^{2090.233})
				LD ₇₀ = 10 ^{15.715} (10 ^{10.903} -10 ^{226.478})
				LD ₈₀ = 10 ^{19.578} (10 ^{12.396} -10 ^{583.106})
				LD ₉₀ = 10 ^{26.555} (10 ^{14.778} -10 ^{2169.230})
				LD ₉₉ = 10 ^{54.768} (10 ^{22.342} -10 ^{49327.694})
Etanol Ekstresi	210	1.754(4)	6.704±1.824	Öldürücü doz (min.–mak.) (mg/mL/larva)
				LD ₅₀ = 12.189 (10.522-18.737)
				LD ₆₀ = 13.298 (11.185-22.480)
				LD ₇₀ = 14.595 (11.923-27.357)
				LD ₈₀ = 16.275 (12.834-34.462)
				LD ₉₀ = 18.930 (14.198-47.521)
LD ₉₉ = 27.102 (18.002-102.189)				

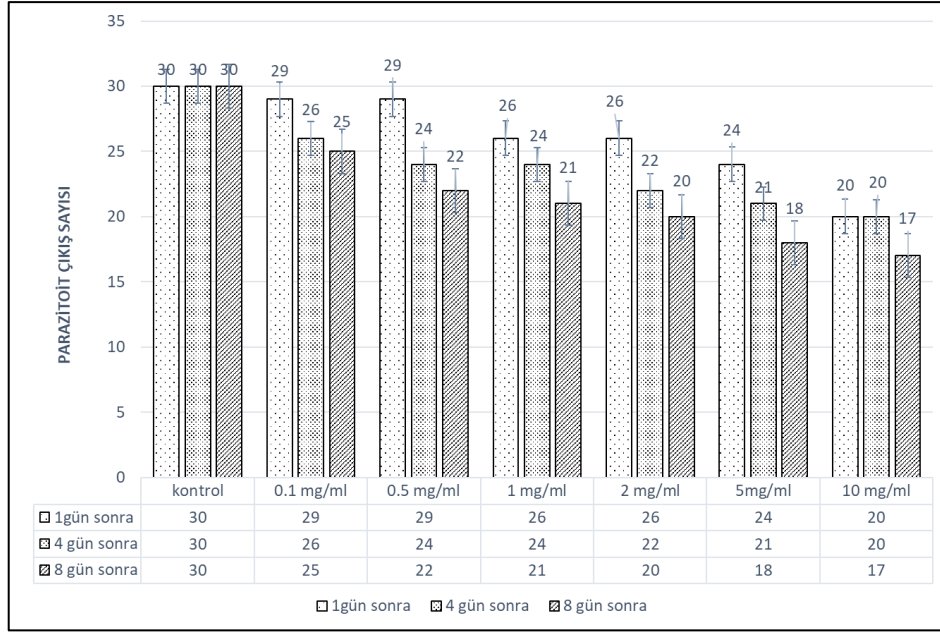
(N: toplam birey sayısı; sd: serbestlik derecesi, y=a+bx)

Tablo 3.34: *V. canescens* 'de doz uygulamasından 8 gün sonra parazitlemeye bağlı LD değerleri.

<i>P. mallochii</i>	N	X ² (sd)	Eğim ± SH	Öldürücü doz (min.–mak.) (konidia/mL/larva)
Konidial Süspansiyon	180	0.244(3)	2.560±1.189	LD ₅₀ = 10 ^{9.391} (10 ^{7.644} -10 ^{216.624})
				LD ₆₀ = 10 ^{11.765} (10 ^{8.841} -10 ^{2699.949})
				LD ₇₀ = 10 ^{15.052} (10 ^{10.157} -10 ^{40819.805})
				LD ₈₀ = 10 ^{20.024} (10 ^{11.871} -10 ^{986511.685})
				LD ₉₀ = 10 ^{29.746} (10 ^{14.675} -10 ^{8.208E7})
				LD ₉₉ = 10 ^{76.142} (10 ^{24.125} -10 ^{3.001E12})
Etanol Ekstresi	210	3.746(4)	7.598±2.058	Öldürücü doz (min.–mak.) (mg/mL/larva)
				LD ₅₀ = 15.428 (13.548-22.462)
				LD ₆₀ = 16.653 (14.300-26.355)
				LD ₇₀ = 18.079 (15.131-31.312)
				LD ₈₀ = 19.904 (16.148-38.345)
				LD ₉₀ = 22.742 (17.656-50.839)
LD ₉₉ = 31.214 (21.777-99.557)				

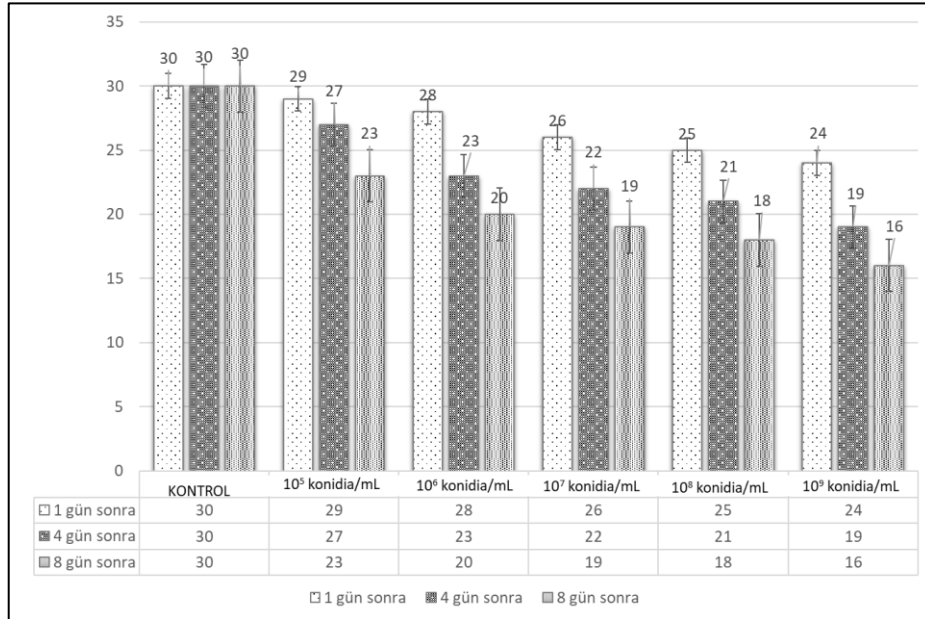
(N: toplam birey sayısı; sd: serbestlik derecesi, y=a+bx)

Etanol ekstre dozu uygulaması sonrası parazitlenme aşamasında, parazitoidlerin doza ve uygulama gününe bağlı olarak çıkış sayıları Şekil 3.19'de verildi. Doz sonrası parazitlenme uygulamasında doz arttıkça ergin çıkış sayısının azaldığı görüldü. Buna ek olarak, doz uygulaması sonrası 1. günde parazitlenme yapılması durumunda parazitoid çıkış sayısının daha az etkilendiği görüldü.



Şekil 3.19: Doz ve zamana bağlı olarak parazitoit çıkış sayıları (D/P aşaması-ekstre).

Konidial doz uygulamasından sonra parazitlenme aşamasında, parazitoitlerin doza ve uygulama gününe bağlı olarak çıkış sayıları Şekil 3.20’de verildi. Doz sonrası parazitlenme uygulamasında doz arttıkça ergin çıkış sayısının azaldığı görüldü. Buna ek olarak, doz uygulaması sonrası 1. günde parazitlenme yapılması durumunda parazitoit çıkış sayısının daha az etkilendiği belirlenirken, doz uygulaması sonrası 8. günde parazitlenme yapılmasının parazitoit çıkış sayısını azalttığı belirlendi.



Şekil 3.20: Doz ve zamana bağlı olarak parazitoit çıkış sayıları (D/P aşaması-konidia).

3.12.2.1 Ergin Öncesi Gelişim Süresi (D/P Aşaması)

V. canescens'te farklı konsantrasyonlarda ekstre uygulamasının ergin öncesi gelişim süresine etkisi Tablo 3.35'te verilmektedir. Tablo 3.35 incelendiğinde parazitoitin ergin öncesi gelişim süresinde ekstre dozu uygulamasından 1 gün sonra parazitilemede kontrole göre 0,1 mg/mL'deki artış ile 10 mg/mL'deki azalma anlamlıydı ($F=15.804$; $sd=6, 203$; $p=0.000$). Yine doz uygulamasından 4 gün sonra parazitileme verileri incelendiğinde kontrole göre 0,1 mg/mL'deki artış ve 2, 5 ve 10 mg/mL'deki azalmalar anlamlı bulundu ($F=44.596$; $sd=6, 203$; $p=0.000$). Tablo 3.35'te dozdan 8 gün sonra parazitilemeye ait veriler incelendiğinde kontrole göre 0,1 mg/mL'deki artış ile 1, 2, 5, 10 mg/mL'deki azalmalar anlamlıydı ($F=86.447$; $sd=6, 203$; $p=0.000$). 1, 2 ve 10 mg/mL'de doz uygulamasından 8 gün sonra parazitileme yapılan gruplardaki azalış doz uygulamasından 1 ve 4 gün sonra parazitileme yapılan gruplara kıyasla anlamlıydı. Bunun dışında 5mg/mL'de doz uygulanmış gruplarda 1.güne kıyasla 4 ve 8. gündeki azalma anlamlı bulundu. En yüksek doz olan 10 mg/mL'nin uygulandığı gruplarda ergin öncesi gelişim süresinin doz uygulamasının 1 gün sonrasında parazitileme yapılan gruplarda 22,93 gün olduğu görülürken, doz uygulamasından 8 gün sonra parazitileme yapılan gruplarda 20,33 güne düştüğü görüldü (Tablo 3.35). Çift yönlü ANOVA sonuçlarına göre *V. canescens*'te ergin öncesi gelişim süresi hem deney gruplarına ($P=0,000$) hem de zamana bağlıydı ($P=0,000$) ve deney ve kontrol grupları ile doz miktarı arasındaki etkileşim zamandan etkilendi ($P=0,000$) (Tablo 3.36).

V. canescens'te farklı konsantrasyonlarda konidial süspansiyon uygulamasının ergin öncesi gelişim süresine etkisi Tablo 3.35'te verilmektedir. Tablo 3.35 incelendiğinde parazitoitin ergin öncesi gelişim süresinde konida dozu uygulamasından 1 gün sonra kontrole göre 10^7 , 10^8 ve 10^9 konidia/mL'deki artışlar anlamlıydı ($F=102.507$; $sd=5, 174$; $p=0.000$). Aynı tabloda dozdan 4 gün sonra parazitileme yapılmasına ait veriler incelendiğinde yine kontrole göre 10^7 , 10^8 ve 10^9 konidia/mL'deki artışlar anlamlıydı ($F=37.349$; $sd=5, 174$; $p=0.000$). Doz uygulamasından 8 gün sonra parazitileme yapılması durumunda ise kontrole göre sadece 10^8 ve 10^9 konidia/mL'deki artışlar anlamlıydı ($F=13.304$; $sd=5, 174$; $p=0.000$). Buna ek olarak, 10^7 konidia/mL ve 10^9 konidia/mL doz uygulamasında 1 güne kıyasla 4 ve 8. günlerdeki azalmalar anlamlı bulundu. Çift yönlü ANOVA sonuçlarına göre *V. canescens*'te ergin öncesi gelişim süresi hem deney gruplarına ($P=0,000$) hem de zamana bağlıydı ($P=0,000$) ve deney ve kontrol grupları ile doz miktarı arasındaki etkileşim zamandan etkilendi ($P=0,000$) (Tablo 3.36).

Tablo 3.35: *P. mallochii*'nin *V. canescens*'in ergin öncesi gelişim süresine etkisi (D/P).

Ergin Öncesi Gelişim Süresi (Gün)								
	Doz Uygulamasından				Doz Uygulamasından		Doz Uygulamasından	
	1 Gün Sonra Parazitlenme				4 Gün Sonra Parazitlenme		8 Gün Sonra Parazitlenme	
	Doz	N	Min.-Mak	$\bar{x} \pm SH^*$	Min.-Mak	$\bar{x} \pm SH^*$	Min.-Mak	$\bar{x} \pm SH^*$
Konidial Süspansiyon -	Kontrol	30	23-26	24.60±0.149ax	23-26	24.60±0.149ax	23-26	24.60±0.149ax
	10⁵	30	23-27	25.13±0.190ax	21-28	25.00±0.275abx	22-27	24.60±0.163ax
	10⁶	30	23-28	25.27±0.209ax	23-28	25.10±0.205abx	22-26	24.60±0.195ax
	10⁷	30	24-29	26.60±0.309bx	22-28	25.73±0.191bcy	22-27	25.10±0.251aby
	10⁸	30	24-29	26.90±0.323bx	23-29	26.70±0.326cx	24-29	26.47±0.261cx
	10⁹	30	29-35	31.50±0.270cx	24-32	28.97±0.373dy	24-29	25.73±0.225bcz
Etanol Ekstresi -	Kontrol	30	23-26	24.57±0.141ax	23-26	24.57±0.141ax	23-26	24.57±0.141ax
	0,1	30	24-28	25.53±0.213bx	23-28	25.40±0.223bx	24-28	25.67±0.200bx
	0,5	30	23-26	24.27±0.126ax	23-27	24.53±0.157ax	22-27	24.60±0.163ax
	1	30	21-27	24.53±0.266ax	23-26	24.10±0.130acx	21-25	23.10±0.162cy
	2	30	23-26	24.43±0.207ax	22-25	23.63±0.195cx	20-26	22.63±0.367cy
	5	30	23-25	24.43±0.114ax	21-23	22.27±0.95dy	20-22	21.10±0.111dz
	10	30	21-25	22.93±0.225cx	21-26	22.77±0.171dx	18-22	20.33±0.121dy

*Aynı sütunda (a-d) ve satırda (x-z) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($P > 0.05$). N; Deneye giren böcek sayısı, n; Ergin Olan Birey Sayısı, SH; Standart Hata.

Tablo 3.36: Farklı deney grupları (kontrol ve doz uygulanmış), zaman ve etkileşimlerinin *V. canescens* ergin öncesi gelişim süresine etkilerini gösteren ANOVA tablosu (D/P).

	Kaynak	df	KO	F	P	r ²
Konidial süspansiyon	Deney Grupları	5	218,476	123,078	0,000	0,62
	Zaman	2	99,517	56,063	0,000	
	Deney Grupları x zaman	10	35,092	19,769	0,000	
	Hata	522	1,775			
Etanol ekstresi	Deney Grupları	6	131,147	121,757	0,000	0,64
	Zaman	2	82,297	76,404	0,000	
	Deney Grupları x zaman	12	18,193	16,891	0,000	
	Hata	609	1,077			

3.12.2.2 Hayat Uzunluğu (D/P Aşaması)

V. canescens'te farklı konsantrasyonlarda etanol ekstresi uygulamasının ergin hayat uzunluğuna etkisi Tablo 3.37'te verilmektedir. Tablo 3.37 incelendiğinde dozdan 1 gün sonra parazitlenme yapılan gruplarında ergin hayat uzunluğunun kontrole göre 1, 2, 5 ve 10 mg/mL'deki dozlarında görülen azalmalar anlamlıydı ($F=51.952$; $sd=6, 203$; $p= 0.000$). Dozdan 4 gün sonra parazitlenme yapılan gruplarda ise kontrole göre 0,5, 1, 2, 5 ve 10 mg/mL'deki dozlarındaki azalmalar anlamlıydı ($F=46.911$; $sd=6, 203$; $p= 0.000$). Buna ek olarak dozdan 8 gün sonra parazitlenme yapılan gruplarda ise kontrole göre 0,1, 0,5, 1 ve 2 mg/mL'deki artışlar ile 10 mg/mL'deki azalma anlamlıydı ($F=58.147$; $sd=6, 203$; $p= 0.000$). 0,1, 0,5 ve 5 mg/mL doz uygulamasından sonra parazitlenme yapılan gruplarda 1. ve 4. güne kıyasla 8. gündeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Ayrıca 1 ve 2 mg/mL'deki gruplarda 1.güne kıyasla 4. gündeki azalmalar ile 8. gündeki artışlar anlamlı bulundu. 10 mg/mL' de ise 1 güne kıyasla 4. ve 8. gündeki artmalar anlamlıydı. Çift yönlü ANOVA sonuçlarına göre *V. canescens*'te ergin hayat uzunluğu hem deney gruplarına ($P=0,000$) hem de zamana bağlıydı ($P=0,000$) ve deney ve kontrol grupları ile doz miktarı arasındaki etkileşim zamandan etkilendi ($P=0,000$) (Tablo 3.38).

V. canescens'te farklı konsantrasyonlarda konidial süspansiyon uygulamasının ergin hayat uzunluğuna etkisi Tablo 3.37'te verilmektedir. Tablo 3.37 incelendiğinde dozdan 1 gün sonra parazitlenme yapılan gruplarında ergin hayat uzunluğunun kontrole göre 10^5 konidia/mL doz uygulamasındaki artış ile 10^6 , 10^7 , 10^8 ve 10^9 konidia/mL dozlarındaki azalmalar anlamlı bulundu ($F=344,342$; $sd=5, 174$; $p= 0.000$). Dozdan 4 gün sonra parazitlenme yapılan gruplarda ergin hayat uzunluğunun kontrole göre 10^5 konidia/mL doz uygulamasındaki artışı ile 10^7 , 10^8 ve 10^9 konidia/mL dozlarındaki azalmaları anlamlı bulundu ($F=253,277$; $sd=5, 174$; $p= 0.000$). Benzer şekilde dozdan 8 gün sonra parazitlenme yapılan gruplarda ergin hayat uzunluğunun kontrole göre 10^5 konidia/mL doz uygulamasındaki artışı ile 10^7 , 10^8 ve 10^9 konidia/mL dozlarındaki azalmaları anlamlı bulundu ($F=256,629$; $sd=5, 174$; $p= 0.000$). 10^5 konidia/mL doza ait veriler incelendiğinde dozdan 1 ve 4 gün sonra parazitlenme yapılan gruplara kıyasla 8 günlük gruplardaki artış anlamlıydı. Diğer deney gruplarında ise (10^7 , 10^8 ve 10^9 konidia/mL) dozdan 1 gün sonra parazitlenme yapılan gruplara kıyasla 4 ve 8 günlük gruplardaki artışlar anlamlı bulundu. Çift yönlü ANOVA sonuçlarına göre *V. canescens*'te ergin hayat uzunluğu hem deney gruplarına ($P=0,000$) hem de zamana bağlıydı ($P=0,000$) ve deney ve kontrol grupları ile doz miktarı arasındaki etkileşim zamandan etkilendi ($P=0,000$) (Tablo 3.38).

Tablo 3.37: *P. mallochii*'nin *V. canescens*'in ergin hayat uzunluğuna etkisi (D/P).

Ergin Hayat Uzunluğu (Gün)								
	Doz	N	Doz Uygulamasından 1 Gün Sonra Parazitleme		Doz Uygulamasından 4 Gün Sonra Parazitleme		Doz Uygulamasından 8 Gün Sonra Parazitleme	
			Min.-Mak	$\bar{x} \pm SH^*$	Min.-Mak	$\bar{x} \pm SH^*$	Min.-Mak	$\bar{x} \pm SH^*$
			Konidial Süspansiyon -	Kontrol	30	10-18	13.83±0.343ax	10-18
10 ⁵	30	14-19		15.80±0.217bx	11-19	15.97±0.305bx	14-20	17.70±0.329by
10 ⁶	30	8-15		11.07±0.325cx	9-17	12.90±0.408ay	10-17	14.03±0.320ay
10 ⁷	30	5-10		7.60±0.201dx	5-11	8.13±0.218cx	5-14	10.33±0.323cy
10 ⁸	30	2-7		4.33±0.221ex	2-7	4.90±0.205dx	4-9	7.13±0.213dy
10 ⁹	30	1-8		3.77±0.270ex	1-8	4.43±0.313dx	4-7	5.37±0.169ey
Etanol Ekstresi -	Kontrol	30		10-16	12.77±0.317ax	10-16	12.77±0.317ax	10-16
	0,1	30	10-17	13.07±0.321ax	9-15	12.40±0.373abx	14-21	18.53±0.367by
	0,5	30	8-17	12.10±0.369abx	9-14	11.47±0.248bx	14-20	17.70±0.329by
	1	30	6-14	11.37±0.394bx	7-14	10.23±0.238cy	11-19	16.93±0.328bz
	2	30	9-13	11.03±0.206bx	7-11	9.07±0.166dy	9-19	15.13±0,596cz
	5	30	7-12	9.63±0.297cx	8-11	8.80±0.139dx	10-16	12.37±0.347ay
	10	30	2-9	6.53±0.243dx	5-11	8.53±0.238dy	6-15	10.70±0.390dz

*Aynı sütunda (a-e) ve satırda (x-z) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0.05). N; Deneye giren böcek sayısı, SH; Standart Hata.

Tablo 3.38: Farklı deney grupları (kontrol ve doz uygulanmış), zaman ve etkileşimlerinin *V. canescens* ergin hayat uzunluğuna etkilerini gösteren ANOVA tablosu (D/P).

	Kaynak	df	KO	F	P	r ²
Konidial süspansiyon	Deney Grupları	5	2084,966	832,095	0,000	0,89
	Zaman	2	188,313	75,154	0,000	
	Deney Grupları x zaman	10	12,046	4,808	0,000	
	Hata	522				
Etanol ekstresi	Deney Grupları	6	392,131	123,251	0,000	
	Zaman	2	1233,433	387,683	0,000	0,74
	Deney Grupları x zaman	12	61,219	19,242	0,000	
	Hata	609	3,182			

3.12.2.3 Boy Uzunluğu (D/P Aşaması)

V. canescens'te farklı konsantrasyonlarda etanol ekstre uygulamasının ergin boy uzunluğuna etkisi Tablo 3.39'da verilmektedir. Tablo 3.39 incelendiğinde dozdan 1 gün sonra parazitlenme yapılan grupların 1 ve 2 mg/mL'deki dozlarında kontrole göre ergin boy uzunluğundaki azalma anlamlıydı (F=8.320; sd=6, 203; p= 0.000). Dozdan 4 gün sonra parazitlenme yapılan gruplarda ise 1, 2, 5 ve 10 mg/mL'deki dozlarda kontrole göre azalmalar anlamlı bulundu (F=16.500; sd=6, 203; p= 0.000). Dozdan 8 gün sonra parazitlenme yapılan gruplarda ise kontrole göre sadece en yüksek doz olan 10 mg/mL'deki azalma anlamlıydı (F=5.293; sd=6, 203; p= 0.000). Buna ek olarak, 0,5 mg/mL doz uygulanmış gruplarda parazitlenmeden sonraki 1.güne kıyasla 4 ve 8.gündeki artış ile 5 mg/mL'deki grupların 4.gününe kıyasla 1 ve 8. gündeki artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 3.39). Çift yönlü ANOVA sonuçlarına göre *V. canescens*'te ergin boy uzunluğu hem deney gruplarına (P=0,000) hem de zamana bağlıydı (P=0,000) ve deney ve kontrol grupları ile doz miktarı arasındaki etkileşim zamandan etkilendi (P=0,000) (Tablo 3.40).

V. canescens'te farklı konsantrasyonlarda konidial süspansiyon uygulamasının ergin boy uzunluğuna etkisi Tablo 3.39'da verilmektedir. Tablo 3.39 incelendiğinde kontrole göre 10^7 konidia/mL doz uygulamasından 1 gün sonra parazitlenme yapılan gruplardaki artış anlamlıydı (F=5.172; sd=5, 174; p= 0.000). Doz uygulamasından 4 gün (F=3.635; sd=5, 174; p= 0.004) ve 8 gün (F=3.632; sd=5, 174; p= 0.004) sonra parazitlenme yapılan gruplar incelendiğinde ise kontrole göre her iki grupta da fark gözlenmedi. Buna ek olarak, 10^7 konidia/mL doz uygulaması yapılan grup incelendiğinde dozdan 1 gün sonra parazitlenme yapılan gruplara kıyasla 8 gün sonra parazitlenme yapılan gruplardaki azalma anlamlıydı. 10^9 konidia/mL doz uygulaması yapılan grup incelendiğinde ise 1 gün sonra parazitlenme yapılan gruplara kıyasla 8 gün sonra parazitlenme yapılan gruplardaki artış anlamlı bulundu.

Çift yönlü ANOVA sonuçlarına göre *V. canescens*'te ergin boy uzunluğu deney gruplarına (P=0,000) bağlı iken zamana bağlı değildir (P=0,565) ve deney ve kontrol grupları ile doz miktarı arasındaki etkileşim zamandan etkilendi (P=0,003) (Tablo 3.40).

Tablo 3.39: *P. mallochii*'nin *V. canescens*'in ergin boy uzunluğuna etkisi (D/P).

Ergin Boy Uzunluğu (mm)								
	Doz Uygulamasından 1 Gün Sonra Parazitlenme				Doz Uygulamasından 4 Gün Sonra Parazitlenme		Doz Uygulamasından 8 Gün Sonra Parazitlenme	
	Doz	N	Min.- Mak	$\bar{x} \pm SH^*$	Min.- Mak	$\bar{x} \pm SH^*$	Min.- Mak	$\bar{x} \pm SH^*$
	Konidial Süspansiyon -	Kontrol	30	12-15	13.73±0.159ax	12-15	13.73±0.159abx	12-15
10 ⁵		30	12-16	14.47±0.157bx	12-16	14.30±0.174ax	13-16	14.27±0.179abx
10 ⁶		30	12-15	13.63±0.140ax	13-15	14.03±0.112abx	12-15	13.73±0.126abx
10 ⁷		30	12-16	14.43±0.177bcx	12-16	13.87±0.178abxy	12-16	13.70±0.180ay
10 ⁸		30	12-15	13.93±0.172abcx	12-15	13.43±0.171bx	12-15	13.80±0.162abx
10 ⁹		30	12-15	13.80±0.147acx	12-15	14.07±0.143abxy	13-15	14.37±0.131by
Etanol Ekstresi -	Kontrol	30	12-15	14.13±0.157ax	12-15	14.13±0.157ax	12-15	14.13±0.157abx
	0,1	30	12-16	13.77±0.177abx	13-16	14.33±0.168ax	13-16	14.20±0.176abx
	0,5	30	11-16	13.47±0.196abx	13-16	14.23±0.171ay	13-16	14.27±0.179ay
	1	30	12-14	13.03±0.155bcx	12-14	13.43±0.133bxy	12-15	13.60±0.149bcy
	2	30	11-15	12.50±0.253cx	11-14	13.07±0.203bxy	12-15	13.67±0.130abcy
	5	30	12-15	13.70±0.180abx	12-14	13.07±0.117by	13-15	13.80±0.130abcx
	10	30	12-15	13.70±0.180abx	11-14	12.77±0.149by	11-15	13.30±0.167cxy

*Aynı sütunda (a-c) ve satırda (x-y) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0.05). N; Deneye giren böcek sayısı, SH; Standart Hata.

Tablo 3.40: Farklı deney grupları (kontrol ve doz uygulanmış), zaman ve etkileşimlerinin *V. canescens* ergin boy uzunluğuna etkilerini gösteren ANOVA tablosu (D/P).

	Kaynak	df	KO	F	P	r ²
Konidial süspansiyon	Deney Grupları	5	5,322	7,090	0,000	0,79
	Zaman	2	0,424	0,565	0,565	
	Deney Grupları x zaman	10	2,015	2,685	0,003	
	Hata	522	0,751			
Etanol ekstresi	Deney Grupları	6	17,026	20,000	0,000	
	Zaman	2	8,133	9,554	0,000	0,74
	Deney Grupları x zaman	12	4,120	4,840	0,000	
	Hata	609	0,851			

3.12.2.4 Ağırılık (D/P Aşaması)

V. canescens'te farklı konsantrasyonlarda ekstre uygulamasının ergin ağırlığına etkisi Tablo 3.41'de verilmektedir. Tablo 3.41 incelendiğinde dozdan 1gün sonra parazitlenme yapılan gruplarda kontrole göre 0,1, 0,5, 1 ve 2 mg/mL'deki azalmalar istatistiksel olarak anlamlıydı (F=3.559; sd=6, 203; p= 0.002). Dozdan uygulamasından sonra parazitlenme yapılan 4.günde ise kontrole göre 0,5 ve 2 mg/mL'deki azalmalar istatistiksel olarak anlamlıydı (F=5.933; sd=6, 203; p= 0.000). Buna ek olarak yine doz uygulaması sonrası 8. Günde parazitlenme sonucu kontrole göre 0,5, 2, 5 ve 10 mg/mL' deki azalmalar anlamlıydı (F=5.235; sd=6, 203; p= 0.000). Ayrıca, 5 mg/mL doz uygulanmış gruplarda doz uygulamasından sonraki 1. güne kıyasla 4.gündeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. En yüksek doz olan 10 mg/mL'nin uygulandığı gruplarda ergin ağırlığının 1, 4 ve 8. gündeki gruplarda benzerlik gösterdiği belirlendi (Tablo 3.41). Çift yönlü ANOVA sonuçlarına göre *V. canescens*'te ergin ağırlığı deney gruplarına (P=0,000) bağlı iken zamana bağlı değildir (P=0,108) ve kontrol grupları ile doz miktarı arasındaki etkileşim zamandan etkilenmedi (P=0,167) (Tablo 3.42).

V. canescens'te farklı konsantrasyonlarda ekstre uygulamasının ergin ağırlığına etkisi Tablo 3.41'de verilmektedir. Tablo 3.41 incelendiğinde dozdan 1 gün sonra parazitlenme yapılan gruplarda kontrole göre 10^9 konidia/mL doz uygulaması yapılan gruptaki azalma anlamlıydı (F=22.246; sd=5, 174; p= 0.000). Dozdan 4 gün sonra parazitlenme yapılan gruplarda kontrole göre 10^9 konidia/mL doz uygulaması yapılan gruptaki azalma anlamlıydı (F=4.902; sd=5, 174; p= 0.000). Dozdan 8 gün sonra parazitlenme yapılan gruplarda kontrole göre fark gözlenmedi (F=1.968; sd=5, 174; p= 0.086). Ayrıca, 10^6 konidia/mL doz uygulaması yapılan grupta 1 güne kıyasla 8 gündeki azalma anlamlıydı. 10^7 konidia/mL doz uygulamasında ise 1 güne kıyasla 4 gündeki artış anlamlı bulundu. Çift yönlü ANOVA sonuçlarına göre *V. canescens*'te ergin ağırlığı hem deney gruplarına (P=0,000) hem de zamana bağlıydı (P=0,017) ve deney ve kontrol grupları ile doz miktarı arasındaki etkileşim zamandan etkilendi (P=0,000) (Tablo 3.42).

Tablo 3.41: *P. mallochii*'nin *V. canescens*'in ağırlığına etkisi (D/P).

		Ergin Ağırlığı (mg)							
		Dozdan 1 Gün Sonra Parazitlenme		Dozdan 4 Gün Sonra Parazitlenme		Dozdan 8 Gün Sonra Parazitlenme			
		Doz	N	Min.-Mak	$\bar{x} \pm SH^*$	Min.-Mak	$\bar{x} \pm SH^*$	Min.-Mak	$\bar{x} \pm SH^*$
Konidial Süspansiyon -	Kontrol	30	6.54-7.88	7.21±0.059ax	6.54-7.88	7.21±0.059abx	6.54-7.88	7.21±0.059ax	
	10⁵	30	6.10-7.58	7.05±0.068ax	6.10-7.47	7.01±0.065bcx	6.10-7.47	7.04±0.057ax	
	10⁶	30	6.87-7.74	7.22±0.039ax	7.00-7.74	7.18±0.032abxy	6.14-7.74	7.03±0.069ay	
	10⁷	30	6.12-7.89	7.04±0.074ax	7.00-7.89	7.28±0.045ay	6.54-7.88	7.21±0.060axy	
	10⁸	30	6.74-7.74	7.21±0.040ax	6.47-7.85	7.15±0.065abcx	6.54-7.85	7.21±0.058ax	
	10⁹	30	6.01-7.03	6.50±0.058bx	6.19-7.81	6.95±0.058cy	6.13-7.89	7.04±0.099ay	
Etanol Ekstresi -	Kontrol	30	7.12-7.81	7.39±0.031ax	7.12-7.81	7.39±0.031ax	7.12-7.81	7.39±0.031ax	
	0,1	30	6.12-7.72	7.04±0.085bx	6.12-7.87	7.21±0.091abx	6.68-7.81	7.27±0.049abx	
	0,5	30	6.10-7.89	7.07±0.075bx	6.12-7.90	6.99±0.095bcx	6.10-7.47	7.04±0.057bx	
	1	30	6.12-7.63	7.03±0.094 bx	6.11-7.89	7.13±0.082abcx	6.87-7.85	7.21±0.044abx	
	2	30	6.13-7.70	6.95±0.094 bx	6.12-7.87	6.88±0.094cx	6.11-7.80	7.03±0.090bx	
	5	30	6.10-7.80	7.09±0.066abx	6.69-7.99	7.30±0.059aby	6.45-7.56	7.12±0.044bxy	
	10	30	6.54-7.81	7.18±0.053abx	6.69-7.99	7.32±0.057ax	6.45-7.81	7.15±0.090bx	

*Aynı sütunda (a-c) ve satırda (x-y) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0.05). N; Deneye giren böcek sayısı, n; Ergin Olan Birey Sayısı, SH; Standart Hata.

Tablo 3.42: Farklı deney grupları (kontrol ve doz uygulanmış), zaman ve etkileşimlerinin *V. canescens* ergin ağırlığına etkilerini gösteren ANOVA tablosu (D/P).

		Kaynak	df	KO	F	P	r ²
Konidial süspansiyon		Deney Grupları	5	1,869	16,540	0,000	0,18
		Zaman	2	0,461	4,077	0,017	
		Deney Grupları x zaman	10	0,574	5,084	0,000	
		Hata	522	0,113			
Etanol ekstresi		Deney Grupları	6	1,724	11,826	0,000	
		Zaman	2	0,325	2,232	0,108	0,13
		Deney Grupları x zaman	12	0,202	1,388	0,167	
		Hata	609	0,146			

3.12.3 Ergin Parazitöitlere Doz Uygulanmasına Bağlı Etkileşim (Ergin Aşaması)

Bu aşamada ise etanol ekstresi ve konidial süspansiyon dozlarına ayrı ayrı maruz bırakılmış ergin parazitöitler hiçbir işlem uygulanmamış konak canlılar ile bir araya getirilerek ve parazitlenme davranışı (temizlenme, konağı araştırma, konak ile temas, konağı delme, konaktan sakınma, konağı araştırmama ve konaktan kaçma) gözlemlendi. Probit analizi ile ekstre uygulamasından sonra parazitlenen larvalar dikkate alınarak LD₅₀ ile LD₉₉ değerleri hesaplandı. Probit ölüm doğrularından yararlanılarak ergin bireylere ekstre dozu uygulamasından sonra parazitlenme aşamasında LD₅₀ değeri 24.932 mg/mL olarak tespit edilmiştir (Tablo 3.43).

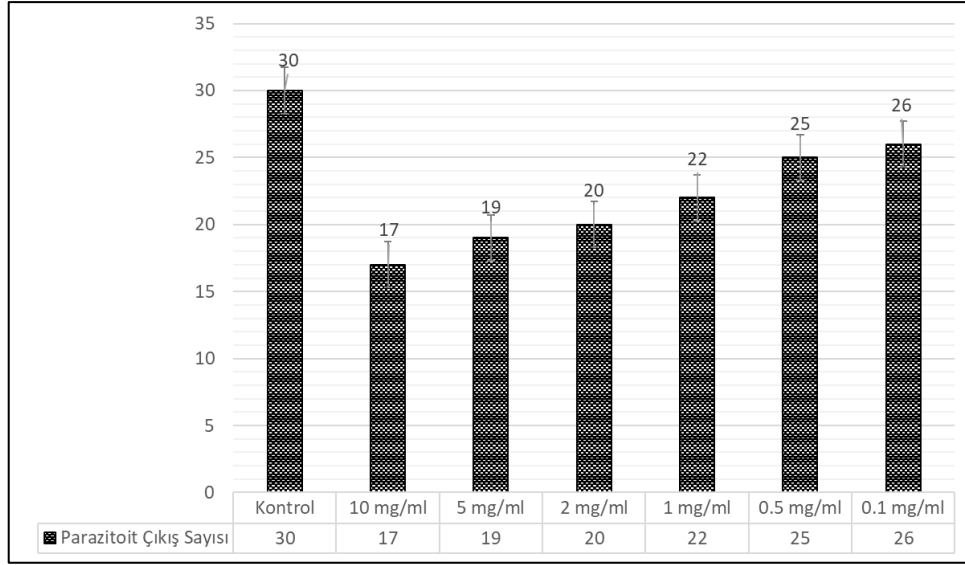
Probit analizi ile konidial süspansiyon uygulamasından sonra parazitlenen larvalar dikkate alınarak LD₅₀ ile LD₉₉ değerleri hesaplanmıştır. Probit ölüm doğrularından yararlanılarak ergin bireylere konidial süspansiyon dozu uygulamasından sonra parazitlenme aşamasında LD₅₀ değeri 10^{9.979} konidia/mL olarak tespit edildi (Tablo 3.43).

Tablo 3.43: *V.canescens* 'nin ergin bireylere *P. mallochii* uygulanmasına bağli LD değerleri.

<i>P. mallochii</i>	N	X ² (sd)	Eğim ± SH	Öldürücü doz (min.–mak.) (konidia/mL/larva)
Konidial Süspansiyon	180	0.297(3)	3.706±1.273	LD ₅₀ = 10 ^{9.797} (10 ^{8.259} -10 ^{20.003})
				LD ₆₀ = 10 ^{11.468} (10 ^{9.184} -10 ^{32.005})
				LD ₇₀ = 10 ^{13.571} (10 ^{10.225} -10 ^{53.224})
				LD ₈₀ = 10 ^{16.528} (10 ^{11.557} -10 ^{96.917})
				LD ₉₀ = 10 ^{21.723} (10 ^{13.659} -10 ^{223.000})
				LD ₉₉ = 10 ^{41.576} (10 ^{20.219} -10 ^{1621.111})
Etanol Ekstresi	210	0.430(4)	3.377±0.836	Öldürücü doz (min.–mak.) (mg/mL/larva)
				LD ₅₀ = 24.932 (18.784-51.305)
				LD ₆₀ = 29.633 (21.294-71.101)
				LD ₇₀ = 35.648 (24.279-101.107)
				LD ₈₀ = 44.255 (28.242-153.015)
				LD ₉₀ = 59.735 (34.748-272.486)
LD ₉₉ = 121.786 (56.546-178.659)				

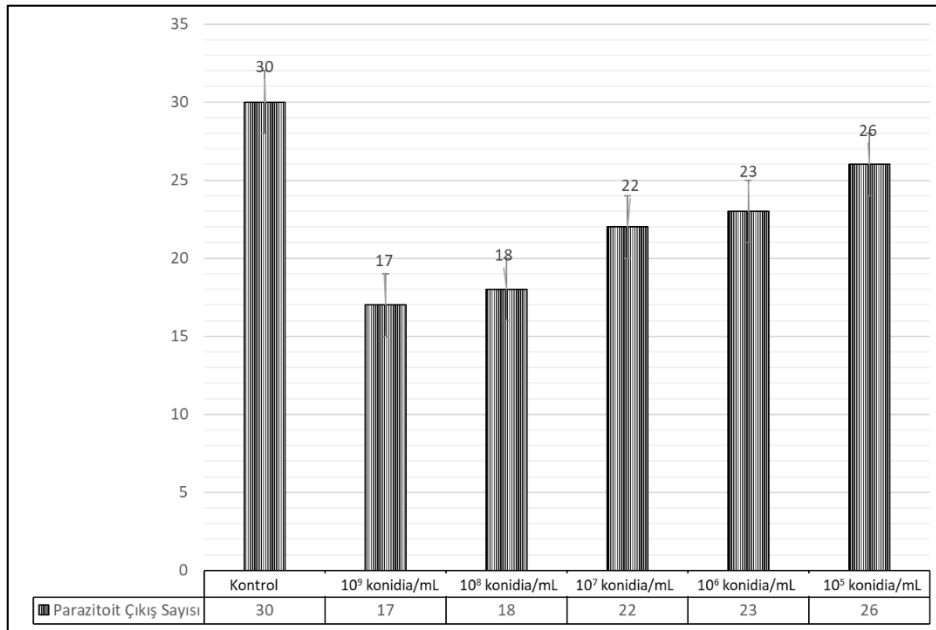
(N: toplam birey sayısı; sd: serbestlik derecesi, y=a+bx)

Ergin bireylere etanol ekstresi dozlarının uygulanmasından sonra gerçekleşen parazitlenmeden çıkan ergin parazitöitlerin sayısı Şekil 3.21'de gösterildi. Doz miktarı azaldıkça birey çıkışının arttığı görüldü. Kontrolde sonra en fazla birey çıkışı 0,1 mg/mL dozda gözlemlendi.



Şekil 3.21: Ergin bireylere doz uygulanmasına bağlı parazitoit çıkış sayısı (ekstre).

Ergin bireylere konidial süspansiyon dozları uygulanmasından sonra gerçekleşen parazitlemeye çıkan ergin parazitoitlerin sayısı Şekil 3.22’ de gösterildi. En yüksek birey çıkışının 10^5 konidia/mL dozda olduğu gözlemlendi.



Şekil 3.22: Ergin bireylere doz uygulanmasına bağlı parazitoit çıkış sayısı (konidia).

3.12.3.1 Ergin Öncesi Gelişim Süresi (Ergin Aşaması)

V. canescens'te farklı konsantrasyonlarda ekstre dozu uygulamasının ergin öncesi gelişim süresine etkisi Tablo 3.44'te verilmektedir. Tablo incelendiğinde; ergin öncesi gelişim süresinde kontrole göre 0,5 ve 1 mg/mL' deki azalmalar ile 5 ve 10 mg/mL'deki artmalar anlamlıydı (F=72.965; sd=6, 203; p= 0.000).

V. canescens'te farklı konsantrasyonlarda konidial süspansiyon dozu uygulamasının ergin öncesi gelişim süresine etkisi Tablo 3.44'te verilmektedir. Tablo 3.44 incelendiğinde kontrole göre 10^8 ve 10^9 konidia/mL dozlarındaki artış anlamlıydı (F=54.344; sd=5, 174; p= 0.000).

Tablo 3.44: *P. mallochii*'nin *V. canescens*'in ergin öncesi gelişim süresine etkisi (Ergin aşaması).

	Doz	N	Ergin Öncesi Gelişim Süresi (gün)	
			Min.-Mak.	$\bar{x} \pm SH^*$
Konidial Süspansiyon	Kontrol	30	23-26	24.67±0.130a
	10^5	30	23-26	24.63±0.131a
	10^6	30	22-27	24.73±0.209a
	10^7	30	22-27	24.83±0.250a
	10^8	30	24-27	25.83±0.136b
	10^9	30	26-30	28.03±0.200c
Metabolit Ekstresi	Kontrol	30	23-26	24.67±0.130ab
	0,1	30	22-25	24.00±0.173ac
	0,5	30	22-23	22.47±0.093d
	1	30	22-24	23.27±0.106c
	2	30	24-27	25.30±0.199b
	5	30	25-27	26.33±0.100e
	10	30	23-30	26.43±0.317e

* Aynı sütunda (a-e) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0.05). N; Deneye giren böcek sayısı, SH; Standart Hata.

3.12.3.2 Hayat Uzunluğu (Ergin Aşaması)

V. canescens'te farklı konsantrasyonlarda ekstre ve konidial süspansiyon dozlarının uygulanmasının ergin hayat uzunluğuna etkisi Tablo 3.45'te verilmektedir. Etanol ekstresi uygulaması sonrası ergin hayat uzunluğunda kontrole göre tüm dozlardaki azalmaların istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görüldü ($F=47.806$; $sd=6, 203$; $p= 0.000$). Ekstre dozları arttıkça ergin hayat uzunluğunun belirgin bir şekilde azaldığı görüldü. Konidial süspansiyon uygulaması sonrası ise ergin hayat uzunluğunun kontrole göre tüm dozlardaki azalmaları anlamlıydı ($F=80.282$; $sd=5, 174$; $p= 0.000$). Kontrolde ergin hayat uzunluğu 7-13 gün iken 10^9 konidia/mL dozda 1-5 gün süreye kadar azaldı.

Tablo 3.45: *P. mallochii*'nin *V. canescens*'in ergin hayat uzunluğuna etkisi (Ergin aşaması).

	Doz	N	Ergin Hayat Uzunluğu (gün)	
			Min.-Mak.	$\bar{x} \pm SH^*$
Konidial Süspansiyon	Kontrol	30	7-13	10.10±0.312a
	10^5	30	4-12	8.20±0.327b
	10^6	30	5-9	7.07±0.235c
	10^7	30	3-9	6.27±0.295c
	10^8	30	3-8	5.00±0.209d
	10^9	30	1-5	3.30±0.193e
Metabolit Ekstresi	Kontrol	30	5-13	9.37±0.357a
	0,1	30	7-9	8.03±0.131b
	0,5	30	5-11	7.77±0.196bc
	1	30	5-9	7.07±0.209cd
	2	30	4-7	6.23±0.177d
	5	30	6-9	7.33±0.154bc
10	30	3-7	4.80±0.147e	

*Aynı sütunda (a-e) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($P>0.05$). N; Deneye giren böcek sayısı, SH; Standart Hata.

3.12.3.3 Boy Uzunluğu (Ergin Aşaması)

Bu aşamada ergin bireylere doz uygulaması sonrası parazitlenen konaklardan çıkan ergin parazitoidlerin boyu, her doz ve kontrol grupları için ayrı ayrı lölerek belirlendi. Tablo 3.46 incelendiğinde; ergin boy uzunluğunda etanol ekstresi uygulaması sonucunda kontrole göre sadece 0,1 mg/mL'deki artış anlamlıydı (F=2.367; sd=6, 203; p= 0.031). Konidial süspansiyon uygulaması sonucunda ise kontrole göre 10⁹ konidia/mL dozdaki azalma anlamlı bulundu (F=21.922; sd=5, 174; p= 0.000).

Tablo 3.46: *P. mallochii*'nin *V. canescens*'in ergin boy uzunluğuna etkisi (Ergin aşaması).

	Doz	N	Ergin Boy Uzunluğu (mm)	
			Min.-Mak.	$\bar{x} \pm SH^*$
Konidial Süspansiyon	Kontrol	30	12-16	14.03±0.169a
	10 ⁵	30	13-15	14.07±0.126a
	10 ⁶	30	13-16	14.27±0.143a
	10 ⁷	30	13-15	14.13±0.133a
	10 ⁸	30	12-16	14.03±0.169a
	10 ⁹	30	10-15	12.07±0.283b
Metabolit Ekstresi	Kontrol	30	12-16	13.57±0.223a
	0,1	30	13-15	14.23±0.124b
	0,5	30	13-15	14.00±0.136ab
	1	30	13-15	14.00±0.117ab
	2	30	13-15	14.10±0.121ab
	5	30	13-15	13.90±0.121ab
10	30	13-16	14.17±0.128ab	

* Aynı sütunda (a-b) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0.05). N; Deneye giren böcek sayısı, SH; Standart Hata.

3.12.3.4 Ağırlık (Ergin Aşaması)

Tablo 3.47 incelendiğinde; ergin ağırlığında etanol ekstresi uygulaması sonucunda kontrole göre tüm dozlarda istatistiksel açıdan fark gözlenmedi ($F=1.520$; $sd=6, 203$; $p= 0.173$). Konidial süspansiyon uygulamasında ise $10^7, 10^8$ ve 10^9 konidia/mL doz uygulamalarında kontrole göre azalma anlamlıydı ($F=5.284$; $sd=5, 174$; $p= 0.000$).

Tablo 3.47: *P. mallochii*'nin *V. canescens*'in ergin ağırlığına etkisi (Ergin aşaması).

	Doz	N	Ergin Ağırlığı (mg)	
			Min.-Mak.	$\bar{x} \pm SH^*$
Konidial Süspansiyon	Kontrol	30	6.96-7.81	7.30±0.042a
	10^5	30	6.23-7.52	7.10±0.058abc
	10^6	30	6.55-7.56	7.17±0.046ab
	10^7	30	6.2-7.54	7.03±0.054bc
	10^8	30	6.23-7.40	6.92±0.073c
	10^9	30	6.23-7.54	6.93±0.068c
Metabolit Ekstresi	Kontrol	30	6.56-7.81	7.28±0.050a
	0,1	30	6.45-7.96	7.30±0.060a
	0,5	30	6.12-7.85	7.10±0.073a
	1	30	6.56-7.96	7.19±0.062a
	2	30	6.12-7.81	7.09±0.066a
	5	30	6.12-7.77	7.14±0.063a
	10	30	6.12-7.89	7.15±0.076a

* Aynı sütunda (a-c) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($P>0.05$).
N; Deneye giren böcek sayısı, SH; Standart Hata.

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Günümüzde zararlılarla mücadelede kimyasal insektisitlerin sürekli kullanımının, insan sağlığını ve çevreyi etkileyebilecek kimyasal kalıntıları oluşturmanın yanı sıra insektisitlere dirençli organizmaların gelişmesine de neden olduğu bilinmektedir. Bu yüzden kimyasal maddelere alternatif olabilecek canlı mikroorganizmalara ve bunların biyoaktif bileşiklerine dayalı biyo-pestisitler önemle üzerinde durulan bir konu haline gelmiştir ve kimyasalların yerini alması için bu alandaki çalışmalar hız kazanmıştır. Zararlı böceklerle mücadelede EPF önemli bir biyolojik kontrol ajanıdır.

Entomopatojenlerin kimyasal pestisitlerle karşılaştırılması genellikle etkinlik ve maliyet açısından yapılırsa da mikrobiyal kontrol ajanlarının kullanımının sayısız avantajı vardır. Bu avantajlar arasında insanlar ve diğer hedef olmayan organizmalar için güvenlik, gıdalardaki pestisit kalıntılarının azaltılması, diğer doğal düşmanların korunması ve ekosistemlerdeki biyoçeşitliliğin korunması yer almaktadır. EPFlerin biyolojik potansiyellerinin bilinmesi, ekolojik sistemlerde verimli kullanımları için gereklidir. Mikrobiyolojik potansiyelin ortaya çıkması için sıcaklık, nem, besin alımı vb. gibi çevresel koşullar optimal olmalıdır.

Çalışmamızda *P. mallochii*'nin patojenitesinin belirlenmesi sırasında; *E. kuehniella* ve *C. cautella* larvalarına karşı uygulanan konidia süspansiyonunun etkinliği uygulamanın 3. ve 10. günleri arasında görüldü. Etkinlik 3. günden sonra ortaya çıktığı için 3. gün sayımlarından önce ölü birey tespit edilemedi. 3. gün ve sonrasında *P. mallochii* ile enfekte olan larvaların enfekte olduktan sonra halsizleştiği ve hareket etmeyi bıraktığı belirlendi. Uygulamadan 72 saat sonra ise larvaların tamamen yeşil misellerle kaplandığı gözlemlendi. Bu aşamada, mantarların proteaz, lipaz ve kitinaz enzimleri ile larvanın kütikülüne zarar verdiği düşünülmektedir (Arcala, 2021). Buna ek olarak fungus, enfeksiyon sürecinde önemli bir rol oynayan ve böcekte konvülsiyon, koordinasyon eksikliği, davranış değişikliği, beslenmenin kesilmesi ve felç gibi bir dizi semptomu tetikleyen, toksin görevi gören metabolitlerini sentezlemektedir (Arboleda- Valencia vd., 2011). Bu süreç ölüm, dokularda ciddi hasar, toksikoz, hücre dehidrasyonu ve besin alımının kaybıyla sonuçlanmaktadır (Tellez vd., 2009; Hasan vd., 2013). Çalışmamızda *P. mallochii* konidial süspansiyonunun ve etanol ekstraktının *C. cautella* ve *E. kuehniella* üzerinde öldürücü etkilerini belirlemek amacıyla LD₅₀ değerleri tespit edildi. Topikal aplikasyon yöntemiyle konidial süspansiyon uygulanan *E. kuehniella* ve *C. cautella* larvalarında LD₅₀ değerleri sırasıyla 10^{8.448} ve 10^{5.861} konidia/mL olarak belirlenirken, etanol ekstresi uygulanan larvaların sırasıyla LD₅₀ değerleri 3,107 ve

0,606 mg/mL olarak belirlendi. Deney verileri; *P. mallochii* konidial süspansiyonunun ve etanol ekstraktının *E. kuehniella* ve *C. cautella*' da doza bağlı mortaliteye neden olduğunu gösterdi. Çalışmamızda konidia konsantrasyonlarına bağlı olarak; *C. cautella*' da ölüm oranının en düşük konsantrasyon olan 10^5 konidia/mL'de %26,66 olduğu en yüksek konsantrasyonda (10^9 konidia/mL) %60 olduğu belirlendi. *E. kuehniella*' da ise ölüm oranlarının en düşük konsantrasyonda %36,66 en yüksek konsantrasyonda ise %86,66 olduğu belirlendi.

Athanassiou vd., (2017) tarafından yapılan çalışmada ise *M. anisopliae*'nin *E. kuehniella* larvalarına karşı insektisidal aktivitesi test edilerek larva ölümlerinin %41,1 ile %93,3 arasında olduğu gözlemlenmiştir. *C. cautella* ile yapılan başka bir çalışmada Alwaneen vd., (2020b), *B. bassiana* (BbSA-2) izolatının *C. cautella*'nın yumurta ve pupalarına karşı patojenik olduğu belirlenmiştir. Sonuçlara göre yumurta ölümleri %29,75 ile %38,25 arasında, pupa ölümleri ise %60 ile %90 arasında kaydedilmiştir. Michalaki vd., (2007), *Cordyceps fumosorosea*'nın (EPF) çeşitli dozlarının depodaki buğday zararlılarından *E. kuehniella* üzerindeki insektisidal etkilerini araştırdıkları çalışmada, *E. kuehniella* larvalarının ölüm oranının %56'yı geçmediği belirlenmiştir. Bu çalışmalarda farklı fungus türleri kullanılsa da *E. kuehniella* ve *C. cautella*'da gözlenen ölüm oranlarının bizim çalışmamız ile paralellik gösterdiği görüldü.

Zararlılara karşı biyolojik kontrolde, zararlının doğal düşmanı olan canlıların yanısıra bu canlılardan elde edilen metabolitlerde biyolojik mücadelede etkin kullanım alanına sahiptir. Son yıllarda araştırmacılar, entegre zararlı yönetimi programlarında (IPM) kimyasal böcek öldürücüler yerine bitkilerden veya mikroorganizmalardan elde edilen doğal maddeler üzerinde yoğunlaşmaktadır. Wang vd., (2007), yaptığı çalışmada EPFlerin, sekonder metabolitler olarak adlandırılan çok çeşitli biyoaktif bileşikleri üretme kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu metabolitlerinin potansiyel böcek öldürücü özellikler göstermesi, bunların biyopestisit olarak potansiyel faydalarını ortaya koymaktadır. Çalışmamız kapsamında *P. mallochii*'den elde edilen ham sekonder etanol ekstresinin konsantrasyonlarına bağlı olarak; *C. cautella*'da ölüm oranının sırasıyla en düşük (0,1 mg/mL) ve en yüksek dozda (10 mg/mL) 26,6% ile 63,3% arasında değiştiği *E. kuehniella*'da ise bu oranın %26,66 ile %93,33 arasında değiştiği belirlendi. *P. decumbens* ve *P. oxalicum*'un sıvı kültürlerinden elde edilen diklorometan ekstraktlarının, 500 µg/cm² doz içeren petri kaplarında *Oncopeltus fasciatus*'a (Hemiptera: Lygaeidae) uygulanması

sonucu önemli insektisidal aktivite sergilediği belirlenmiştir (Santamarina vd., 2002). Ayrıca, başka bir çalışmada *P. chrysogenum* kültürlerinden elde edilen bir etil asetat ekstraktının tütün kurdu (*Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) ve güney ev sivrisineklerine (*Culex quinquefasciatus*; Diptera: Culicidae) karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Bu iki böcek türüne karşı sırasıyla LC₅₀ değeri 72,205 mg/mL ve 94,701 mg/mL ve LC₉₀ ise 282,783 mg/mL ve 475,049 mg/mL olarak hesaplanmıştır (Arunthirumeni vd., 2023). *Penicillium* türlerinin çeşitli ham ekstraktlarının biyoaktif ürünlerinin tanımlanmadan kullanılması sonucunda elde edilen veriler, insektisidal aktivitenin ön kanıtı olarak görülmektedir (Nicoletti vd., 2023) ve çalışmamızdan elde edilen veriler *P. mallochii*'nin insektisidal aktivitesinin varlığı için ön kanıt niteliğindedir.

P. mallochii konidial süspansiyonunun ve etanol ekstraktının *C. cautella*'ya ve *E. kuehniella*'ya karşı böceklerin normal gelişim ve üreme süreçleri üzerindeki etkileri belirlendi. Biyoinsektisitler sadece öldürücü olmakla kalmayıp, bazıları aynı zamanda böceklerin fizyolojik ve gelişimsel parametrelerini de etkileyebilmektedir. Ölümcül olmayan etkilerde gelişim süresinin uzaması, yetişkin ömrünün kısalması veya morfolojik bozukluklar görülebilmektedir (Kaur vd., 2014). Mantar sekonder metabolitlerinin ve sporlarının insektisidal aktivitesi, böceklerin fizyolojik özelliklerinin farklı yönleri üzerindeki etkilerinden kaynaklanmaktadır (Klowden ve Pallai, 2022). Toksikite deneylerinde *P. mallochii* ekstre ve konidial süspansiyon uygulaması sonrasında ergin bireylerin çıkış yapması, larvadan itibaren ergine kadar bazı biyolojik özelliklerin (koza örme süresi, puplaşma süresi, pupal periyot, ergin öncesi gelişim süresi, hayat uzunluğu ve ağırlık) belirlenmesini sağladı. Denemelerde son evre larvalara farklı konidial süspansiyon ve ekstre konsantrasyonlarının uygulanması, her iki böcek türüne ait bireylerin koza örme süresinde kontrole göre değişikliğe neden olmadı. Yine farklı konsantrasyonlarda konidial süspansiyon ve ekstre uygulanan *E. kuehniella* larvaların pup oluşturma sürelerinde kontrol gruplarına göre fark gözlenmedi. Puplaşma süresinde gözlenen değişimler *C. cautella* larvalarında konidial süspansiyon uygulaması için *E. kuehniella* ile benzerlik gösterirken, *C. cautella* larvalarında ise 10 mg/mL ekstre uygulamasında kontrole göre azalma gözlendi. Bizim çalışmamızdan farklı olarak, Kaur vd., (2011) *B. bassiana*'nın (PDBC—Bb-5a) *S. litura* larva dönemini azalttığını belirtmişlerdir. Biyolojik mücadele programlarında, zararlının gelişim süresinin uzun olması veya değişmemesi doğal düşmanlara (parazitoitler ve predatörler) temas olasılığını artabileceğinden, bir böceğin ergin öncesi dönemleri üzerindeki etkilerin bilinmesi önemlidir (Alikhani vd., 2019).

E. kuehniella'da ekstrenin ve konidyanın farklı konsantrasyonlarda pupal evreden ergin evreye geçiş süresinde artma ve azalmalara neden olduğu ancak ortaya çıkan bu değişimlerin istatistiksel olarak önemsiz olduğu görüldü. *C. cautella*'da ise konidia dozu uygulamalarını takiben pupal periyotta kontrol gruplarına göre doza bağlı artmalar ve azalmalar tespit edildi ancak sadece 10^8 konidia/mL'de istatistiksel olarak anlamlıydı. *E. kuehniella*'ya ekstre uygulamalarında ergin öncesi gelişim süresinde kontrole göre 10 mg/mL doz uygulamasında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlenirken *C. cautella*'da kontrole göre dozlar arasında istatistiksel açıdan fark gözlenmedi. *E. kuehniella*'ya konidia uygulamasında kontrol ve diğer dozlar arasında istatistiksel olarak fark gözlenmezken, *C. cautella*'da kontrole göre 10^6 ve 10^8 konidia/mL dozlarında artış görüldü.

Alikhani vd., (2019) yaptıkları çalışmada *M. anisopliae* uygulaması sonucu *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) neslinin toplam gelişim süresinin (yumurtadan yetişkin ortaya çıkışına kadar) tüm dozlarda kontrol grubundan farklı olduğunu belirledi. Tez çalışmamız kapsamında elde edilen sonuçlara göre *P. mallochii*'nin sub-letal ekstre ve konidia doz konsantrasyonlarının uygulanmasının, tüm dozlarda güvelerin (dişi ve erkek) hayat uzunluğunu değiştirmediği belirlenmiştir. Yapılan çalışmada sadece konidial doz uygulamalarında ise *E. kuehniella*'da ergin hayat uzunluğunda kontrole göre 10^9 konidia/mL dozunda artış gözlenmiştir. Çalışmamızın aksine, *M. anisopliae*'nin (izolat DEMI 001) ölümcül olmayan konsantrasyonlarının tüm dozlarda *T. absoluta* yetişkinlerinin (dişi ve erkek) ömrünü kısalttığı belirlenmiştir (Alikhani vd., 2019).

E. kuehniella ve *C. cautella*'da konidial süspansiyon uygulaması sonucu ergin ağırlığında kontrole göre dozlar arasında fark gözlenmedi. *C. cautella*' da ekstre uygulaması sonucu kontrole göre 0,1mg/mL'de istatistiksel açıdan önemli bir azalma görülürken, *E. kuehniella*'da fark gözlenmedi. Bu farklı sonuçlar muhtemelen fungusun genetik çeşitliliği, fungus koleksiyonların kökeni, kullanılan metodolojideki farklılıklar ve böcek kaynak popülasyonlarının duyarlılığının farklılığı dahil olmak üzere birçok nedenden kaynaklanmaktadır (Navon ve Ascher, 2000; Eler ve Ates, 2015).

EPF izolatlarının böceklerin ergin öncesi aşamalarına karşı insektisidal aktivitelerinin araştırıldığı çalışma sınırlı sayıdadır. Çalışmalar daha çok Coleoptera türlerinin ergin aşamaları ile ilgilidir (Alwaneen vd., 2020a). Zararlılarla mücadele stratejilerine karar vermeden önce belirli bir zararlının biyolojisini anlamak çok önemlidir (Husain vd., 2017). *Penicillium* türlerinin farklı böcek türlerinin gelişim biyolojisi üzerindeki etkileri ile ilgili

çalışmalar literatürde yer alsa da *P. mallochii* konidial süspansiyonu ve etanol ekstresinin *E. kuehniella* ve *C. cautella*'nın gelişim biyolojisi üzerindeki etkileri ilk kez bu çalışmada değerlendirildi. Ayrıca, *P. mallochii*'nin sub-letal konsantrasyonlarının kullanılması, yumurta verimini önemli ölçüde etkiledi. *E. kuehniella* ve *C. cautella*'da ekstre ve konidial süspansiyon dozu uygulamasına bağlı olarak yumurta sayısında kontrole göre dozlarda istatistiksel açıdan önemli bir azalma gözlemlendi. Başka bir çalışmada, *Ceratitis capitata* Wiedemann'a (Diptera: Tephritidae) yüksek konsantrasyonlarda *P. chrysogenum* ve *Verticillium lecanii* uygulanması sonucunda yumurta sayısında sırasıyla %34 ve %25 oranında azalma görülmüştür (del Pilar Castillo vd., 2000). *P. citrinum* (CTD-24) izolatının sonbahar tırtılı *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae)'nin yumurtalarında (%93,3) ve larvalarında (%83,3) yüksek kümülatif ölüme neden olduğu saptanmıştır (Idrees vd., 2021).

Penicillium türlerinin kullanıldığı çalışmalarda bizim çalışmamıza benzer şekilde fungusların yumurta sayısında azalmaya neden olduğu görülmüştür. Konidial konsantrasyon artışının, yumurta sayısının azalmasına ve ayrıca enerji gibi önemli konak kaynaklarının patojene yönlendirilmesiyle patojenitenin artmasına neden olduğunu söylemek mümkündür (Roy vd., 2006). Fungusların biyokontrol ajanı olarak kullanılmasına bağlı olarak enfeksiyon sonrası üreme parametrelerinde meydana gelen değişiklikler böcek popülasyonunun azalmasına yol açmaktadır. *P. mallochii* konidial süspansiyonu ve etanol ekstraktının *C. cautella* ve *E. kuehniella*'nın gelişim parametreleri üzerindeki etkilerine ek olarak yumurta sayısındaki azalmanın da misellerin böcekteki istilacı etkisinden, metabolitlerinin toksik etkisinden kaynaklandığı düşünülebilir. Yapılan literatür taramasına göre böceklerde fungus türlerinin patojenitesinin türe ve konağa bağlı olarak değişiklik gösterdiği görülmüştür (Mantzoukas vd., 2019). Ayrıca fungusun enfeksiyon ve çimlenme açısından etkinliği, ortam sıcaklığı ve nem koşulları dahil olmak üzere konağın duyarlılığı, konağın yaşam evresi fungusun genel başarısını etkileyen faktörlerdir (Rumbos ve Athanassiou, 2017).

Fungal biyolojik kontrol ajanları dünya çapında ürünlerin korunmasına yönelik iyi bir alternatiftir (Butt vd.,2001). Ancak bazı çalışmalarda, mantar metabolitlerinin *in vitro* hayvan hücresi hatları için toksik olduğu (Fornelli vd., 2004), bazılarının ise antibiyotik, fungisidal, insektisidal veya antiviral özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir (Vey vd., 2001). Kimyasal pestisitlerin mutajenik ve kanserojen olduğu ise defalarca kanıtlanmıştır (Ruiz ve Marzin, 1997) ve bu nedenle insanların ve çevrenin güvenliğini sağlamak için kimyasal

pestisitlerin yerine çevre dostu alternatiflere büyük bir ihtiyaç vardır (Strasser vd., 2000). Fungal biyolojik kontrol ajanlarının böcek kontrolündeki potansiyelini gösteren çok sayıda çalışma olmasına rağmen, yalnızca bazı çalışmalar mantarların metabolitlerinin üretimini, yan etkilerini ve hedef dışı organizmalarla güvenlik testlerini araştırmıştır. Bu çalışmalarda fungal ajanların etkisi çeşitli enzimlerin inhibisyonuna ve fizyolojik süreçlere müdahalesine bağlanmasına rağmen hücresel ve genetik düzeydeki etki henüz araştırılmamıştır (Nieminen vd., 2002). Daha önce zararlılarla mücadele amacıyla radyasyonun genetik materyal üzerindeki etkisi *Plodia interpunctella* Hubner (Lepidoptera: Pyralidae) (Imamura vd., 2004), *Curculio sikkimensis* Heller (Coleoptera: Curculionidae) (Todoriki vd., 2006), *Plutella xylostella* Linnaeus (Lepidoptera: Plutellidae) (Koo vd., 2011), *Liriomyza trifolii* Burgess (Diptera: Agromyzidae) (Koo vd., 2012) ve *S. litura* (Yun vd., 2014) üzerinde değerlendirilmiştir ancak mikrobiyal biyo-pestisitlerin DNA düzeyine kadar olan etkisini gösteren hiçbir çalışma mevcut değildir. Çalışmamızda biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılmaya aday olan *P. mallochii* etanol ekstresinin hücresel ve genetik düzeydeki etkisi incelenerek sitotoksisite, genotoksisite ve mikotoksin analizleri yapıldı. Bu çalışmalar kapsamında *P. mallochii*'ye ait ekstrenin 0,708 mg/mL'nin üzerindeki dozlarda sitotoksisite gösterdiği ve buna ek olarak 1 mg/mL ve 1,2 mg/mL dozlarında %19 ve %47 komet oluşumuna neden olduğu belirlendi.

Mikotoksinler mantar enfeksiyonunda önemli bir rol oynar ve farklı organizmalar için toksik olan küçük moleküllerdir (Erzurum, 2001). EPFler mantar patogenezi ve virülansını iyileştirmek için birden fazla mikotoksin üretir. Çalışmamızda *P. mallochii*'nin mikotoksin çeşitlerinden olan okratoksin ve aflatoksin (Aflatoksin B1, B2, G1 ve G2) üretmediği belirlendi. Okratoksin ve Aflatoksin, *Aspergillus* ve *Penicillium* dahil olmak üzere birçok farklı mantar tarafından üretilir. Okratoksin ve Aflatoksinin hayvanlarda toksik ve kanserojen olduğu bilinmektedir (Guyonnet vd., 2002). Bir metabolitin veya ham ekstraktın genotoksik potansiyelinin *in vitro* değerlendirmesi, bakterilerden memelilere kadar çok sayıda tamamlayıcı teste dayanan bir tarama stratejisi gerektiren çok adımlı bir süreçtir. Farklı insan hücre hatlarında fungal biyolojik kontrol ajanlarının metabolitlerinin sitotoksisitesini ve genotoksisitesini belirlemek için ilave ve daha spesifik testlerin gerekli olduğu açıktır. Bununla birlikte, saflaştırılmış metabolitler yerine metabolit risklerini değerlendirmek için ham ekstraktların kullanılması daha güvenli sonuçlar oluşturur (Elgorashi vd., 2003). Ham ekstraktlar, saf sekonder metabolitler kadar önemlidir, çünkü doğal koşullar altında metabolit karışımları, sinerjistik toksik etki potansiyeline sahip

mantarlar tarafından salgılanır. Çalışmamızda ham fungus etanol ekstresinin sitotoksik ve genotoksik etki gösteren dozlarının üzerindeki ve altındaki konsantrasyonlarda kullanıldı. Bu verilere göre 0,708 mg/mL'nin (0,1 ve 0,5 mg/mL) altındaki konsantrasyonlar, deney gruplarında *E. kuehniella* ve *C. cautella*'nın yumurta sayısını azaltıcı etkiye sahiptir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre *P. mallochii*'den elde edilen ekstrenin düşük dozlarının zararlı kontrolü için faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Böceklerin bağışıklık tepkisi, mantarların ve bakterilerin sporları, toksinler, diyapoz, deri değiştirme, açlık stresi, çevre koşulları, diyet değişiklikleri gibi yabancı ajanlardan kaynaklanan çeşitli kontaminasyon türlerine karşı duyarlılıklarının önemli bir göstergesidir (Mowlds vd., 2008). Böceklerin fizyolojik savunma özelliklerini anlamak için enfeksiyonların genotoksik, fizyolojik ve biyokimyasal etkilerinin belirlenmesi etkili bir adım olarak kabul edilmektedir (Los ve Strachecka, 2018). Lepidoptera'ya ait bazı türlerle yapılan çalışmalarda da hemolenfteki hemosit sayısının yaralanma, bakteriyel, fungal, viral enfeksiyon ve çeşitli stres koşullarına karşı benzer değişiklik gösterdikleri belirlenmiştir (Ratcliffe vd., 1985; Mowlds vd., 2008; Phukan vd., 2008; Abd El-Aziz ve Awad, 2010; Kim ve Kim, 2010). Hücrel bağışıklık tepkilerinin ortaya çıkmasında görev alan hemositlerin sayılarının belirlendiği çalışmamızda *P. mallochii* konidia ve ekstrelerinin etkilerinin gözlenebilmesi için *E. kuehniella*'nın son evre larvaları kullanıldı. Bu amaçla hazırlanan preparatların mikroskopik incelemesi sonucunda farklı konsantrasyonlarda ekstre dozu uygulanan *E. kuehniella* larva hemolenfindeki toplam hemosit sayılarının uygulamadan sonraki ilk günde arttığı daha sonra ise azaldığı gözlemlendi. Ekstre uygulaması yapılan böceklerde toplam hemosit sayısındaki azalma, mantar metabolitleri tarafından indüklenen nodüllerin oluşumundan veya larva hematopoietik fonksiyon inhibisyonundan kaynaklanabilir (Zibae vd., 2011; Zibae vd., 2012).

Toplam hemosit sayılarında konidial süspansiyon uygulamasında, mantar enfeksiyonu sonrası ilk günde doz arttıkça kontrole göre larvaların toplam hemosit sayısında artış gözlenirken, ikinci günde belirgin bir azalma gözlemlendi. Sapna vd. (2015)'nin yaptığı çalışmada *B. bassiana* ile enfekte karasineklerde toplam hemosit sayılarının başlangıçta (6 saatten 9 saate) bir artış gösterirken, enfeksiyon süresinin artmasıyla (9-12 saat) birlikte bir azalma göstermesi ile bizim çalışmamız ile benzerlik göstermektedir. Yapılan bazı çalışmalar hematopoez ve hemosit mitozunu indüklenmesi ile patojen enfeksiyonuna yanıt olarak böcek hemolenfinde toplam hemosit sayısının artabileceğini göstermektedir

(Ratcliffe, 1993; Russo vd., 2001; Kumar vd., 2011). Ancak bizim sonuçlarımızdan farklı olarak, Bogus vd., (2017) *Conidiobolus coronatus*'un *Galleria mellonella* larvalarının toplam ve farklı hemosit sayıları üzerindeki etkinliğini incelediği çalışmada mantar enfeksiyonu sonrası hemosit sayısının önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Yine farklı bir çalışmada *B. bassiana* ile enfekte edilen *Bombyx mori* ve *Spodoptera exigua* larvalarındaki farklı hemosit sayısında da önemli azalma fark edilmiştir (Hung vd.,1993; Rajitha vd.,2013). Bu azalma, mantar enfeksiyonuna karşı böcek bağışıklık tepkilerinden kapsülleme süreci ile ilişkilendirilmektedir (Andrade vd, 1984; Rivers vd., 2002). *E. kuehniella* larvalarının konidia ve ekstrenin giderek artan dozlarıyla başa çıkabilmek için önce yeni hemositlerini sentezlenerek immün savunmanın artırıldığı ancak, stres koşullarının devam etmesine bağlı olarak onarım mekanizmalarının da etkilenmesinden dolayı, bir süre sonra larval savunmanın zayıfladığını düşünmekteyiz. Böcek hemositleri ile ilgili çalışmaların çoğunda açlık, enfeksiyon ve yaralanma gibi durumlarda hemosit miktarındaki değişiklikler (Gupta 1985; Lastra vd., 2001; Sewify ve Hashem 2001), mitoz bölünme, hemositlerin farklılaşması (Yamashita ve Iwabuchi, 2001), gelişimin farklı evrelerinde mitoz bölünme geçiren hemosit sayıları ve hemosit fonksiyonları sırasında görülen apoptozis olayı (Pech ve Strand 2000; Le vd., 2003) araştırılmıştır. Çeşitli fungus türlerinin böceklerin toplam hemosit sayısı üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmalar literatürde yer alsa da *Penicillium* türlerinin *E. kuehniella* larvalarının hemosit sayıları ile ilgili ilişkilerinin yer aldığı bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Bu eksikliğin bu çalışma ve daha sonra yapılacak çalışmalar ile destekleneceği kanısındayız.

Çalışmamızda, *E. kuehniella* larvalarının, *P. mallochii* etanol ekstresi ve konidia ile muamelesi hemolenfte indüklenen antimikrobiyal peptitleri ortaya çıkardı. Septik vücut hasarından ve mikrobiyal enfeksiyondan sonra proteinler hemolenf içine salınır. Böceklerle yapılan araştırmalarda, hemosele enjekte edilen bakteri veya mantarların peptitlerin sentezini arttırdığını gösterilmiştir (Zhang vd., 2009). AMP'lerin varlığına ilişkin humoral bağışıklık tepkisinin önemli bir analizi, inhibisyon bölgesi analizleri ile yapılır (Morejon ve Michel, 2023). Çalışmamızda fungus dozları uygulamasından sonra farklı zamanlarda (24 ve 48 saat) toplanan hemolenfin antibakteriyal aktivitesi disk difüzyon ile belirlendi. Böcek hemolenfinin anti-mikrobiyal aktivitesi, AMP'lerin salgılanmasıyla artmaktadır (Uvell ve Engström, 2007). Elde ettiğimiz sonuçlar *P. mallochii* etanol ekstresi ve konidia dozlarının larvalara uygulamadan sonraki 24 saatte antimikrobiyal aktiviteyi tetiklediğini gösterdi. Benzer şekilde *Zophobas atratus* ve *Bombus terrestris* gibi diğer böceklerle yapılan

çalışmalarda hemolenfin antimikrobiyal aktivitesinin uygulamadan sonraki 24. ve 48. saatte maksimum seviye ulaştığı rapor edilmiştir (Korner ve Schmid-Hempel, 2004). Anti-bakteriyel aktivite testi sonuçlarına göre kontrol grubu böcek hemolenfinin test bakterilerine karşı çok zayıf bir anti-bakteriyel aktivite gösterdiği belirlendi. Enfekte olmayan böceklerde metabolik değişiklikler, stres etkenleri ve yaşlanma, AMP'lerin ekspresyonunu tetikleyebilir (Bland, 2023).

Bakteriyel veya fungal bir patojen hemoseli enfekte ettiğinde, reseptörler tarafından tespit edilir. AMP'lerin indüklenmesi yağ dokuda ve hemolenfte başlar (Boderick vd., 2009). Gram (+) bakteriler ve mantarlar, böcekte AMP üretimini tetikleyen Toll yolunu aktive eder. Enfekte hücrelerin doğal ortamındaki farklılıklar ve yok edilen hücreler tarafından salınan bileşikler, enfeksiyon hakkında bilgi sağlamaktadır (Yoon vd., 2018; Swelum vd., 2020). Sonuçlarımız, *E. kuehniella* larvalarının konidialara, etanol ekstresinden daha duyarlı olduğunu gösterdi. *E. kuehniella* larvalarına konidia uygulaması yapılması sonucunda toplanan hemolenfin anti-bakteriyel aktivitesinde ciddi değişiklikler gözlendi. Konidia uygulaması sonucu toplanan hemolenfin antibakteriyel aktivitesinde Gram (+) bakteri *S. aureus*'ta (13 ve 9 mm / 24 ve 48 saat) en iyi inhibisyon bölgesi belirlendi. Diğer Gram (+) bakteri *B. cereus*'ta 24 saatte zon oluşumu gözlenmezken, 48 saatte zon oluşumunun arttığı gözlendi. Gram (-) bakterilerden *E. coli* (16 ve 15 mm/24 ve 48 saat), *P. vulgaris* (20 ve 18 mm/24 ve 48 saat) ve *K. pneumonia*'da (24 ve 26 mm/24 ve 48 saat) ise etkili antibakteriyel aktivite belirlendi. Konidia tarafından uyarılan hemolenfin anti-bakteriyel aktivitesinin sonuçlarından elde edilen veriler, böcek savunma mekanizması tarafından üretilen AMP'lerin Gram (-) bakteriler üzerinde daha etkili olduğunu gösterdi. Ekstre uygulaması sonucu toplanan hemolenf için en iyi inhibisyon bölgesi Gram (+) bakterilerden *S. aureus* ile (18 ve 11 mm /24 ve 48 saat) *B. cereus* (10 ve 12 mm /24 ve 48 saat)'da gözlendi. Ayrıca Gram (-) bakterilerden *E. coli* (20 ve 16 mm/24 ve 48 saat) *P. vulgaris* (15 ve 16 mm/24 ve 48 saat) ve *K. pneumoniae* (14 ve 16 mm/24 ve 48 saat) zerinde antibakteriyel aktivite belirlendi. Ekstre uygulanması sonucu toplanan hemolenften elde edilen veriler, böcek savunma mekanizması tarafından üretilen AMP'lerin her iki bakteri grubunda da etkili olduğunu gösterdi.

Araştırmalar, test edilen bakterilerin replikasyon oranının antibakteriyel aktivite sonuçlarındaki farklılıklardan sorumlu olabileceğini ve hızla replike olan suşların *in vitro* analizlerinin hemolenfin antimikrobiyal aktivitesini engellediğini ve dolayısıyla zon

oluşumunu engellediğini öne sürmektedir (Haine vd., 2008; League vd., 2017). AMP'lere duyarlı patojen bakteriler arasında *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Citrobacter freundii*, *Francisella tularensis*, *Streptococcus sanguinis*, *S. aureus* ve *Bacillus coagulans* yer alır (Ursic-Bedoya vd., 2011) ve çalışmamızda *P. mallochii* tarafından indüklenen hemolenflerin *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *S. aureus*'a duyarlı olduğu bulundu. Disk difüzyon testinde tespit ettiğimiz hemolenfin antimikrobiyal aktivitesinin, çalışmada kullanılan *P. mallochii*'nin hemolenfteki antimikrobiyal peptitlerin üretimini tetiklenmesi ile elde edildiğini düşünmekteyiz. Bu durum, farklı mikrobiyal etkenlere karşı geniş savunma sağlayan humoral bağışıklık tepkilerine ilişkin literatürü desteklemektedir (Coggins vd., 2012; Rhodes vd., 2018). Böcek konakları, mikrobiyal bileşikler ve tehlike sinyalleri (hasar üzerine konak hücreler tarafından salınan moleküller) arasındaki dengeyi izlemek ve sürdürmek için çeşitli kontrol mekanizmaları geliştirmiştir. Böylece böceklerin savunma mekanizmaları, faydalı mikroorganizmaların tanınmasına ve korunmasına olanak tanırken, hücre hasarına neden olan patojenik mikropları tanıdığı anda onları ortadan kaldıracak şekilde tepki verir (Lazzaro ve Rolff, 2011). Yararlı mikroorganizmaları patojenlerden ayırmanın yanı sıra, vücut boşluğunda patojenlerin varlığıyla tetiklenen bağışıklık tepkileri de vardır. Bu tepkiler, farklı patojen suşları için farklı AMP'lerin ekspresyonuna neden olduğu için türe özgüdür (Lu ve St. Leger, 2016). Bu nedenle çalışmada kullanılan *P. mallochii*'nin konidia ve etanol ekstraktlarının hemolenfte farklı antimikrobiyal peptit sentezini tetiklediğini düşünüyoruz.

Zararlı böceklerin biyolojik kontrolünde önemli rol oynayan parazitoit arılar, Hymenoptera takımının büyük bir kısmını oluşturur. Parazitoitlerin zararlı böceklerin biyolojik mücadelesinde etkili bir şekilde kullanılabilmesi için konak-parazitoit ilişkisinin çok iyi bilinmesi gerekmektedir (Beckage ve Gelman, 2004; Er, 2011). Parazitoitler ile fungal biyolojik kontrol ajanlarının birlikte uygulanması, zararlılarla mücadele daha etkili olmayı sağlar. Çeşitli bulgularda, fungal biyolojik kontrol ajanlarının ve parazitoitlerin/predatörlerin bir arada var olabildiklerini ve farklı zararlı türlerini kontrol altında tutabildiklerini göstermiştir. Ancak, EPFlerin bazı parazitoitlerde yetişkin veya larva yaşamı ve diğer biyolojik gelişim parametreleri üzerindeki zararlı etkileri de bildirilmiştir (Nielsen vd., 2005; Mas vd., 2019). Literatürde *V. canescens*'in *E. kuehniella*'nın biyolojik kontrolü için oldukça umut verici bir aday olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada *P. mallochii* ve parazitoit *V. canescens* arasındaki etkileşim ile bu iki farklı kontrol ajanının *E. kuehniella* üzerindeki kombine biyolojik kontrolü ile ilgili ilk bilgiler sunuldu. Fungusun parazitoitin ergin öncesi gelişim süresine etkisi, parazitlenmiş doz uygulanmış, doz uygulanmış parazitlenmiş

larvalardan çıkan parazitoitlerin hayatta kalma süresi, parazitoitin fungus etanol ekstresi ve konidiası uygulanmış ve uygulanmamış larvalara tercihi farklı etkileşim senaryoları altında incelendi. Konağın içinde veya dışında gelişen parazitoitin larva evresi, mantarların ve bunların uygulandığı zamanla yakın bir ilişkiye sahiptir (Rashki vd., 2009). Çalışmamızda *V. canescens*'in biyolojisi ve davranışına ilişkin bazı parametrelerdeki değişikliklerin, *P. mallochii*'nin ekstre ve konidia dozlarını uygulamadaki zaman aralığına bağlı olduğu belirlendi.

Tez çalışması kapsamında *P. mallochii* ekstre ve konidia doz konsantrasyonları, parazitlenme sonrasındaki 1., 4. ve 8. günde *E. kuehniella* larvalarına uygulandı. Parazitlenme sonrasında yapılan doz uygulamaları sonucunda doz konsantrasyonu arttıkça ergin çıkış sayısının azaldığı görüldü. Corbet ve Rotheram'ın (1965) yaptığı çalışmaya göre *V. canescens*'in gelişiminde parazitlenmeden sonraki 1. günde yumurta evresinde, parazitlenmeden sonraki 4. günde 1. larva döneminde, parazitlenmeden sonraki 8. günde ise 3. larva döneminde olduğu bilinmektedir. *E. kuehniella*'nın parazitlenmiş larvalarının *P. mallochii* ile enfekte edilmesi sonucunda, *V. canescens*'in yumurta ve larval aşamalarının hayatta kalma oranının azaldığı, larva aşamasının yumurta aşamasından daha fazla etkilendiği görülmüştür. Ayrıca parazitlenme sonrası farklı zamanlarda yapılan uygulamalara göre de 8. günde parazitoit çıkış sayısının daha çok etkilendiği görülmüştür. *Heliothis zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae) larvalarının parazitizmden bir gün sonra *Nomuraea rileyi* mantarı ile enfekte olması durumunda parazitoit *Microplitis croceipes* Cresson'ın (Hymenoptera: Braconidae) gelişimini inhibe ettiği belirlenmiştir (King ve Bell, 1978). Parazitoit ve EPF arasındaki etkileşimlerde uygulama zamanına bağlı olarak parazitlenme oranındaki azalma *V. canescens*'in larval dönemlerinin *P. mallochii*'nin çimlenmesine, penetrasyonuna ve kolonizasyonuna karşı daha yüksek bir duyarlılığa sahip olabileceğini düşündürmektedir. İlk larva dönemi ile EPF arasındaki bu ilişki Kim vd., (2005), Rashki vd., (2009) ve Emami vd., (2013) tarafından da gözlemlenmiştir.

Parazitoitler tarafından konak böceğin hemolenfine salgılanan fungistatik bir madde vardır, bu madde mikoz gelişimini engeller ve normal parazitoit gelişimi ve ergin birey çıkışını sağlar. Bu fungistatik madde, parazitizm ile konağın mantar enfeksiyonu arasındaki zaman aralığıyla bağlantılı olarak oluşur (Emami vd., 2013). Tez çalışması kapsamında, *V. canescens*'in ergin öncesi gelişim süresinin konidial doz uygulamaları sonucunda her üç zaman aralığında da yüksek dozlara doğru arttığı gözlemlendi. Ekstre dozu uygulamalarında da ergin öncesi gelişim süresinde kontrole göre yumurta evresinde (parazitlenmeden sonraki

1. gün) yapılan uygulamaların etkili olmadığı ancak uygulamanın parazitlenmeden sonraki 4. günde (1. larva evresinde) yapılmasına bağlı olarak düşük dozlarda bu sürenin uzadığı yüksek dozlarda ise azaldığı gözlemlendi. 3. Larva evresi (parazitlenmeden sonraki 8. gün) sırasında yapılan uygulamaların ergin çıkış süresinde farklılıklara yol açtığı ve en yüksek dozda ergin çıkış süresinin 30 güne kadar uzadığı gözlemlendi. Sonuçlarımız, parazitlenmiş *E. kuehniella* larvaları için sub-letal konidia ve ekstre konsantrasyonlarının, *V. canescens* yetişkinlerinin ortaya çıkışını olumsuz etkilemediğini ancak çıkış süresinde değişiklikler olduğunu gösterdi. Konakların parazitoitin yumurta bırakmasından 1 veya daha fazla gün sonra *P. mallochii* ile muamele edilmesi durumunda parazitoitin patojene göre avantajlı hale gelerek gelişimini tamamladığı kanısındayız. Rohlf (2008) tarafından yapılan fungus, parazitoit ve konak etkileşimi çalışmasında; *Drosophila melanogaster* (konak), *Asobara tabida* (parazitoit) ve *Aspergillus niger* (fungus) kullanılmıştır. Çalışmada fungusla ait konidiosporlar ve sekonder metaboliti olan kojik asit denenmiştir. Fungus açısından etkileşim değerlendirildiğinde; *Aspergillus niger* konidiospor üretim yoğunluğu *D. melanogaster* larvalarının varlığından olumsuz etkilenmiştir. Parazitlenme sonrasında doz uygulaması yapılmasının tüm dozlarda ve zaman aralıklarında ergin hayat uzunluğunu kısalttığı belirlendi. Bu durumda parazitoitin yaşam süresinin kısalması biyolojik mücadele çalışmalarında *P. mallochii* ile *V. canescens*'in kombine uygulamasının parazitlenme sonrası doz uygulama aşamasında antagonistik bir etkileşim olduğunu gösterdi. Fungusun parazitoitin büyüme ve gelişimi üzerindeki potansiyel etkileri incelendiğinde en yüksek ekstre dozu olan 10 mg/mL'de parazitoitin boy uzunluğunun ve ağırlığının azaldığı gözlemlendi. Konidial süspansiyon uygulamalarında ise en çok yumurta aşamasında ergin boy uzunluğunda değişiklik kaydedildi. Boy uzunluklarındaki ve ağırlıktaki bu değişiklikler parazitlenme sonrası uygulanan fungus dozlarının konak fizyolojisinin olumsuz etkilendiğini göstermektedir.

Fungusların ve parazitoitlerin eş zamanlı kullanımı, dişi parazitoitler fungus konidia ile kontamine olmuş bölgelerde konak aradığında parazitoitler için zararlı olabilir. Fungal enfeksiyon başladıktan sonra, fungus gelişimi genellikle parazitoitin gelişimine üstün gelir. Bu durum doğal düşmanların birlikte uygulanmasında öncelik etkisi olarak bilinir (Abbas, 2020). Bu etkiyi gözlemleyebilmek için, tez çalışması kapsamında etkileşim çalışmalarının ikinci aşamasında, *E. kuehniella* larvalarına *P. mallochii* ekstre ve konidia doz konsantrasyonları uygulandıktan sonra, hayatta kalan larvalar ile *V. canescens* erginleri bir araya getirildi. Doz uygulaması sonrası parazitlenme aşamasında doz uygulamasını takip eden 1., 4. ve 8. günler seçildi. Doz uygulaması sonucu parazitlenmede doz konsantrasyonu ve doz

uygulanmasından sonraki süre arttıkça (1.günden 8. güne doğru) ergin parazitoit çıkışı azaldı. Mantarla enfekte olmuş konaklar, konak içindeki larva parazitoitlerinin gelişimini olumsuz yönde etkiler ve bu etki, mantarın türüne ve konsantrasyonunun yanı sıra enfeksiyon ile parazitizm arasındaki süreye de bağlıydı (Abbas, 2020). Yaprak bitleri *Pandora neoaphidis* mantarı ile enfekte olduğunda, parazitoit *Aphidius rhopalosiphi* tarafından parazitlendikten sonra, 4 günden az bir süre içinde parazitoit gelişimini tamamlayamadığı görülmüştür (Powell vd., 1986). Ayrıca bazı parazitoitler, mantarla enfekte olmuş ve enfekte olmamış konaklar arasında ayırım yapabilir ve enfekte olmuş konakları parazitlemezler (Abbas, 2020). Parazitizm oranı, parazitoitin enfekte konakları ayırt etme yeteneği ile sıkça ilişkilendirilmiştir. Dişiler, genellikle fungus uygulanmış konaklar ve sağlıklı konaklar arasında bir seçim yapma ihtimali olduğunda fungus uygulanmış konaklara yumurtlamaktan kaçınmaktadır (Koller vd., 2023). Mantarla enfekte olmuş bir konakta gelişen parazitoitler üzerinde ölümcül olmayan etkiler de mümkündür (El-Sufty Potrich vd., 2017). *V. canescens*'in ergin öncesi gelişim süresinin konidial doz uygulamaları sonucunda her üç zaman aralığında da yüksek dozlara doğru arttığı gözlemlendi. Ekstre dozu uygulamalarından sonra parazitlemede ergin öncesi gelişim süresinde kontrole göre her üç günde de en yüksek dozda ergin öncesi gelişim süresinin kısaldığı en düşük dozda ise uzadığı belirlendi. Doz uygulamasından sonraki 8. günde parazitleme yapılan gruplarda ergin öncesi gelişim süresinin 1 mg/mL doz uygulamasından itibaren azalmaya başladığı belirlendi. *Anastrepha obliqua* Macquart (Diptera: Tephritidae)'nın *Coptera haywardi* Loiacono (Hymenoptera: Diapriidae) ile parazitlenmiş pupalarına *B. bassiana*'nın kuru konidiasının uygulanması durumunda, parazitoitin yumurta, larva ve pupa gelişimine zarar vermediği ve ergin parazitoitlerin yumurta verimini azaltmadığı gösterilmiştir (Martinez-Barrera vd., 2019). *P. mallochii* enfeksiyonuna maruz kalan *E. kuehniella* larvalarından çıkan *V. canescens* erginlerinde, fungusa maruz kalmayan larvalardan ortaya çıkan parazitoit erginlere (kontrol grubu) kıyasla hayat uzunluğunda yüksek konidia ve ekstre dozlarında azalma görülürken, en düşük konidia ve ekstre dozlarında bu sürenin uzadığı gözlemlendi. Bu durumda biyolojik mücadele çalışmalarında *P. mallochii* ile *V. canescens*'in kombine uygulamasının doz sonrası parazitleme aşamasında parazitoitin hayat uzunluğunun yüksek doz uygulamalarında kısılması antagonistik, ancak düşük konidia (10^5 konidia/mL) ve ekstre dozunda (0,1 mg/mL) hayat uzunluğunun kontrole göre uzaması ise sinerjistik bir etkileşim olduğunu gösterdi. Bizim çalışmamızdan farklı olarak, *Isaria fumosorosea* mantarına maruz kaldıktan 24, 48 veya 72 saat sonra *D. noxia* yaprak bitlerinde gelişen *A. asychis* parazitoitlerinin hayat uzunluğu üzerinde hiçbir etki göstermediği belirlenmiştir

(Mesquita ve Lacey, 2001). *P. fumosoroseus*, Rus buğday yaprak biti (*Diuraphis noxia*) ve yaygın parazitoiti *Aphelinus asychis* arasındaki etkileşim çalışmalarında, yaprak bitleri ilk olarak *P. fumosoroseus* (5.2×10^4 konidia/cm²) ile muamele edilmiştir. Daha sonra 1 saat boyunca 4 ila 5 günlük çiftleşmiş parazitoit dişilere maruz bırakılmıştır. Bunun sonucunda *P. fumosoroseus*'a maruz kalmış yaprak bitlerine parazitoit dişilerinin yumurta bırakmada daha az zaman harcadığı görülmüştür (Mesquita ve Lacey, 2001). Entomopatojen fungus *B. bassiana* ile yaprak biti parazitoiti *Diaeretiella rapae* McIntoch (Hymenoptera: Braconidae) arasındaki etkileşimlerin laboratuvar koşullarında değerlendirildiği çalışmada, yaprak bitlerine *B. bassiana* püskürtülmesinin ardından 0, 24 ve 48. saatlerde parazitoitlere maruz bırakılmıştır. Bu iki biyolojik kontrol ajanının birlikte uygulanması için en iyi zaman aralığının 0-24 saat dilimi olduğunu ve yaprak biti kontrolü üzerinde kombinasyon halinde kullanılabilir olduğunu belirlenmiştir (Martins vd., 2014). Parazitoitler ve funguslar, konak içinde birbirleri üzerinde olumsuz etkiler yaratabilir, ancak konak dışında parazitoitler fungusların yeni konak popülasyonlarına yayılmasına yardımcı olabilir. Bu nedenle, bu türler arasındaki etkileşimin net etkisini tam olarak belirlemek için her iki yönün de incelenmesine ihtiyaç vardır (Hochberg, 1991 a, b). Deneylerimizin sonuçları, paylaşılan konağa yapılan uygulamanın zamanlamasına bağlı olarak, konağın parazitoit ve fungus arasındaki konak içi etkileşimlerin sonucunu etkileyebileceğini gösterdi.

Fungus dozları ile enfekte edildikten sonra parazitlenme yapılan konaklardan çıkan parazitoitlerin ağırlıklarında dalgalanmalar belirlendi. Ayrıca 10 mg/mL ekstre dozu uygulaması sonucu parazitlemeye bağlı olarak konaklardan çıkan erginlerin boy uzunluğu azaldı. Bu durumun sebebi parazitoit gelişiminin konak kalitesine (konak dönemi, konak ağırlığı, konak sağlığı, konağın fizyolojik durumu, konağın ölüm riski) bağlı olmasından kaynaklanmaktadır (Caron vd. 2009).

Etkileşim senaryolarımızın üçüncü aşamasında ergin parazitoitlere konidia ve ekstre doz uygulaması yapılarak, konakları parazitlenme etkisi değerlendirildi. Yüksek doz uygulamalarından sonra parazitlenme oranının düştüğü ve çıkış yapan parazitoit sayısının azaldığı gözlemlendi. *B. bassiana* ve *M. anisopliae*'nin 10^7 konidia/mL konsantrasyonunda uygulanması, kahve çekirdeği kurdu *Hypothenemus hampei* Ferrari'nin (Coleoptera: Curculionidae) parazitoiti olan *Cephalonomia stephanoderis* Betrem'in (Hymenoptera: Betilidae) yetişkinlerinin sırasıyla %48 ve %40'ını öldürdüğü belirlenmiştir (Aristizabal vd., 1995). Konidial süspansiyon uygulamasında konak larvalarından çıkan ergin parazitoitlerin ergin öncesi gelişim süresinin doz arttıkça uzadığı belirlendi. Ayrıca ekstre dozu uygulamalarında doz arttıkça sürenin önce kısaldığı sonra tekrar uzadığı belirlendi. V.

canescens'in doğrudan *P. mallochii*'nin konidiası ve ekstresi ile enfekte edilmesi sonucu, *V. canescens*'in parazitlenme oranının azaldığı ve *E. kuehniella*'dan çıkan yeni parazitoidlerin hayat uzunluğunun kısaldığı belirlendi. Bizim çalışmamıza benzer olarak, Mama Sambo vd., (2022) yaptığı çalışmada, *Dolichogenidea gelechiidivoris* (Hymenoptera: Braconidae)'in doğrudan *M. anisopliae* ICIPE 20'nin kuru konidiaları ile enfekte edilmesinin, parazitizm yüzdesini ve parazitoidin ömür uzunluğunu azalttığı belirlenmiştir. Nozad-Bonab vd., (2021) yaptığı çalışmada *Trichogramma brassicae* Bezdenko'yu (Hymenoptera: Trichogrammatidae) *M. anisopliae* ile enfekte etmenin parazitoidin ömrünü azalttığını bulmuşlardır. Benzer şekilde Presa-Parra vd. (2021) *M. anisopliae* ile enfekte olmuş *Diachasmimorpha longicaudata* Ashmead'in (Hymenoptera: Braconidae) yaşam süresinin, kontrollere göre çok daha kısa olduğunu belirtmiştir. Parazitoidlerin erginlerine uygulanan mantar dozlarının, erginlerde farklı ölüm oranlarına neden olduğu görülmüştür. Ayrıca ergin parazitoidlere doz uygulanması sonrasında yapılan parazitlenme çalışmaları sonucunda yüksek konidia doz uygulamasının yeni çıkan parazitoid boyunu küçülttüğü, düşük ekstre doz uygulamasının ise boyunu arttırdığı belirlendi. Ayrıca sadece konidial uygulama sonucunda doz arttıkça konaktan yeni çıkan erginlerin ağırlığının azaldığı belirlendi. Bu durum parazitlenme sırasında ergin parazitoid tarafından konağa bulaşan fungus konidiasının konağın fizyolojik durumunu olumsuz etkilemesinden kaynaklanmaktadır (Caron vd. 2009). Bugüne kadar sahada *V. canescens* erginleri üzerinde mantar türlerinin neden olduğu enfeksiyonlara ilişkin herhangi bir rapor bulunmamaktadır ve çalışmamız sınırlı da olsa ilk laboratuvar çalışmasıdır. Genel olarak mantarların, uygulama yapılan konağın üzerinde veya içindeki parazitoidlerin gelişimi üzerindeki etkisi (gelişim süresi, ergin boy uzunluğu, ağırlığı ve hayat uzunluğu) konağın türüne, dönemine beslenme durumuna, her bir konaktaki parazitoid sayısına, sıcaklık ve neme göre değişmektedir (Harvey ve Thompson, 1995). Bu parametreler çevre faktörü ile konağın kalitesine bağlı olsa da konağın ilişkili olduğu biyolojik kontrol ajanları ve etkileşim zamanlaması da farklılıkların oluşmasına neden olmaktadır. Saha çalışmaları ise böcek zararlılarına karşı biyo-kontrol ajanı olarak mantarlar ve parazitoidler arasındaki kombinasyonun başarısını ortaya koymaktadır. Uygun zamanlama ile parazitoidler veya predatörler, tarladaki böceklerin biyolojik kontrolü için mantarlarla birleştirilebilir (Abbas, 2020).

Mortalite deneylerinin sonuçları, IPM için kombine biyopestisitlerin geliştirilmesine güçlü bir destek sağlamaktadır. Zararlı ölümlerindeki doğrudan artışa ek olarak, EPFnin yayılmasının daha hızlı olabileceğine ve zararlının yumurta veriminin azaldığına dair göstergeler bulunmaktadır. Fungus konsantrasyonu arttıkça ölüm oranında artış

kaydedilirken daha düşük dozda elde edilen ölüm düzeyi zararlı kontrol programlarında yeterli olabilir. Zararlı kontrolüne yönelik çalışmalarda mantar-böcek etkileşiminde daha fazla veri sağlanabilmesi için zararlının biyolojisinin detaylı olarak bilinmesi gerekmektedir. Çalışma sonucunda, *P. mallochii* konidial süspansiyonlarının ve ekstresinin, yumurta sayısında azalmaya neden olduğunu gösterdi. Elde edilen sonuçlara göre fungus etanol ekstresinin ve konidial süspansiyonların kullanımının biyolojik mücadelede etkili olacağı sonucuna varılmaktadır. Bununla birlikte, mantarın sekonder metabolitlerinin kullanılması, özellikle yüksek sıcaklıklar ve kuraklık gibi elverişsiz hava koşullarında ve kimyasal pestisitlerin varlığında organizmanın doğrudan kullanılmasıyla karşılaştırıldığında en iyi yöntem olabilir. Bu mantar türevi bileşiklerin biyolojik kontrol ajanları olarak kullanılmasını tavsiye etmek için bu bileşenlerin hem temas hem de besleme etkilerinin saha deneylerinde yürütülmesi gerekmektedir. Bu çalışmalara ek olarak biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılacak yeni mantar türlerinde insan ve çevre üzerindeki patojenite mekanizmalarının aydınlatılması gerekmektedir. Çalışmamızda elde edilen veriler *P. mallochii*'nin kullanılabilirliği en iyi doz değerinin belirlenmesinde genotoksosite ve sitotoksosite sonuçlarını da sunmaktadır. Buna ek olarak parazitoit arılar üzerinde yapılan üç farklı senaryoya sahip etkileşim deneylerinde; fungusların ve parazitoitlerin kombine etkileri incelendi. Fungusun hedef zararlı tür üzerinde %50'sini öldürücü etki gösteren ancak parazitoit üzerinde düşük toksisite gösteren (%3-5) ve parazitoitin parazitlenme davranışı ile hayat uzunluğunu olumsuz etkilemeyen dozların seçilmesi kilit bir adımdır. Senaryolar arasında doz sonrası parazitlenme aşamasında; konidial süspansiyonda 10^5 konidia/mL ve etanol ekstresi uygulamalarında 0,1 veya 0,5 mg/mL konsantrasyonlarının *P. mallochii*'nin biyolojik mücadele çalışmalarında uygulanabilir ve etkili dozları olduğu düşünülmektedir.

5. KAYNAKLAR (APA)

- Abbas, M.S.T. (2020). Interactions between Entomopathogenic Fungi and Entomophagous Insects. *Advances in Entomology*, 8, 130-146, doi.org/10.4236/ae.2020.83010.
- Abd El-Aziz, N. and Awad, H. H. (2010). Changes in the haemocytes of *Agrotis ipsilon* larvae (Lepidoptera: Noctuidae) in relation to dimilin and *Bacillus thuringiensis* infections. *Micron*, 41(3), 203-209, doi.org/10.1016/j.micron.2009.11.001.
- Aguila, L.C.R., Akutse, K.S., Ashraf, H.J., Bamisile, B.S., Lin, J., Dai, J., Wang, H. and Wang L. (2021). The survival and parasitism rate of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) on its host exposed to *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). *Agronomy*, 11:1496. doi.org/10.3390/agronomy11081496.
- Aiuchi, D., Saito, Y., Tone, J., Kanazawa, M., Tani, M. and Koike, M. (2012). The effect of entomopathogenic *Lecanicillium* spp. (Hypocreales: Cordycipitaceae) on the aphid parasitoid *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae). *Applied Entomology Zoology*, 47, 351-357, doi.org/10.1007/s13355-012-0125-7.
- Akbari, S., Mirfakhraie, S., Aramideh, S. and Safaralizadeh, M.H. (2020). Effect of fungal isolates and imidacloprid on cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* and its parasitoid *Diaeretiella rapae*. *Zemdirbyste-Agriculture*, 107:255–262. doi.org/10.13080/z-a.2020.107.033.
- Alikhani, M., Safavi, S.A. and Iranipou S. (2019). Effect of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, on demographic fitness of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29, 23, doi.org/10.1186/s41938-019-0121.
- Al-Keridis, L.A. (2015). Application of *Penicillium* sp as entomopathogenic fungi to control the red rust beetle *Tribolium castaneum* (Hbst.) (Coleoptera:Tenebrionidae). *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 12, 7-12, doi.org/dx.doi.org/10.13005/bbra/2165.
- Allahyari, R., Aramideh, S., Michaud, J.P., Safaralizadeh, M.H. and Rezapanah, M.R. (2020). Behavioral and developmental responses of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) to larvae of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) inoculated with various concentrations of *Bacillus thuringiensis* var.

- kurstaki* (Bacillales: Bacillaceae). *Journal of Insect Science*, 20:129. doi.org/10.1093/jisesa/ieaa129.
- Altimira, F., Arias-Aravena, M., Jian, L., Real, N., Correa, P.; González, C., et al. (2022). Genomic and experimental analysis of the insecticidal factors secreted by the entomopathogenic fungus *Beauveria pseudobassiana* RGM 2184. *Journal of Fungi*, 8(3), 253, doi.org/10.3390/jof8030253.
- Alwaneen, W.S., Mureed, H., Koko, D.S., Rasool, K.G., Mehmood, K., Tufail, M. et al. (2020a). Entomopathogenicity of *Beauveria Bassiana* Against Immature Life Stages Of Almond Moth, *Cadra Cautella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 57(5), 1230-1235, doi.org/10.21162/PAKJAS/20.708.
- Alwaneen, W.S., Mureed, H., Koko, DS., Rasool, K.G., Mehmood, K., Tufail, M. and Aldawood, A.S. (2020b). Entomopathogenicity of *Beauveria Bassiana* Against Immature Life Stages of Almond Moth, *Cadra Cautella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 57(5), 1230-1235, doi.org/10.21162/PAKJAS/20.708.
- Andrade, F. G., Negreiro, M. C. C., Levy, S. M., Fonseca Inês, C.B., Ashida, M. and Soderhall, K. (1984). The prophenoloxidase 141 activating system in crayfish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 77, 21-26, doi.org/10.1016/0305-0491(84)90217-7.
- Anwar, W., Haider, M.S., Shahid, A.A., Mushtaq, H., Hameed, U., Rehman, M.Z.U., et al. (2017). Genetic diversity of *Fusarium* isolated from members of Sternorrhyncha (Hemiptera): Entomopathogens against *Bemisia tabaci*. *Pakistan Journal of Zoology*, 49 (2), 639-645, doi.org/10.17582/journal.pjz/2017.49.2.639.645.
- Anwar, W., Nawaz, K., Javed, M.A., Akhter, A., Shahid, A.A., Haider, M.S., et al. (2021). Characterization of fungal flora associated with sternorrhyncha insects of cotton plants. *Biologia*, 76, 533-547, doi.org/10.2478/s11756-020-00549-0.
- Aqueel, M.A. and Leather, S.R. (2013). Virulence of *Verticillium lecanii* (Z.) against cereal aphids; does timing of infection affect the performance of parasitoids and predators? *Pest Manager Science*, 69:493–498. doi.org/10.1002/ps.3398.
- Araujo, E.S., Poltronieri, A.S., Poitevin, C.G., Mirás-Avalos, J.M., Zawadneak, M.A.C. and Pimentel, I.C. (2020). Compatibility between entomopathogenic fungi and egg parasitoids (Trichogrammatidae): A laboratory study for their combined use to control *Duponchelia fovealis*. *Insects*, 11:630. doi.org/10.3390/insects11090630.

- Arboleda-Valencia, J.W., Gaitan-Bustamante, A.L., Valencia Jimenez, A. and Grossi-De-Sa, M.F. (2011). Cytotoxic Activity of Fungal Metabolites from the Pathogenic Fungus *Beauveria bassiana*: An Intraspecific Evaluation of Beauvericin Production. *Current Microbiology*, 63, 306-312, doi.org/10.1007/s00284-011-9977-2.
- Arcala, F.B. (2021). Morphological and molecular characterization of fungal entomopathogen *Isaria fumosorosea* (Wize) Brown and Smith as bioinsecticide against cucurbit leafworm, *Diaphania indica* Saunders (Lepidoptera: Pyralidae), in cucumber. *International Journal of Agriculture Forestry and Life Sciences*, 5(1), 106-112. Erişim adresi: <https://dergipark.org.tr/en/pub/ijafsls/issue/60445/841779>.
- Aristizabal, I., Pardey, A. and Cordoba, B.C. (1995). Effect of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on the Coffee Berry Borer Parasitoid, *Cephalonomia stephannoderis*. *Revista Colombiana de Entomologia*, 21, 199-204, doi.org/10.25100/socolen.v21i4.9985.
- Arunthirumeni, M., Vinitha, G. and Shivakumar, M.S. (2023). Antifeedant and larvicidal activity of bioactive compounds isolated from entomopathogenic fungi *Penicillium* sp. for the control of agricultural and medically important insect pest (*Spodoptera litura* and *Culex quinquefasciatus*). *Parasitology International*, 92, 102688, doi.org/10.1016/j.parint.2022.102688.
- Askary, H. and Brodeur, J. (1999). Susceptibility of larval stages of the aphid parasitoid *Aphidius nigripes* to the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 73, 129 -132, doi.org/10.1006/jipa.1998.4824.
- Aslam, M., Khan, K.A. and Bajwa, M.Z.H. (2002). Potency of some spices against *Callosobruchus chinensis* L. *Journal of Biological Sciences*, 2(7), 449-452, doi.org/10.3923/jbs.2002.449.452.
- Assaf, L.H., Haleem, R.A. and Abdullah, S.K. (2011). Association of Entomopathogenic and Other Opportunistic Fungi with Insect in Dormant Locations. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 4(2), 87-92, Erişim adresi: <https://jjbs.hu.edu.jo/FILES/v4n2/Paper%20No.4.%20modified%20.pdf>.
- Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Rumbos, C.I. and Kontodimas, D.C. (2017). Influence of Temperature and Relative Humidity on the Insecticidal Efficacy of *Metarhizium anisopliae* against Larvae of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) on Wheat. *Journal of Insect Science*, 17(1), 221–7, doi.org/10.1093/jisesa/iew107.

- Bajzelj, B., Richards, K. S., Allwood, J. M., Smith, P., Dennis, J. S., Curmi, E. and Gilligan, C. A. (2014). Importance of food-demand management for climate mitigation. *Nature Climate Change*, 4(10), 924, doi.org/10.1038/nclimate2353
- Bayissa, W., Ekesia, S., Mohameda, S.A., Kaayab, G.P., Wagachab, J.M., Hannac, R., et al. (2016). Interactions among vegetable infesting aphids, the fungal pathogen *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales) and the predatory coccinellid *Cheilomenes lunata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Biocontrol Science and Technology*, 26 (2), 274–290, doi.org/ 10.1080/09583157.2015.1099148.
- Beckage, N.E. and Gelman, D.B. (2004). Wasp parasitoid disruption of host development: implications for new biologically based strategies for insect control. *Annual Review of Entomology*, 49, 299-330, doi.org/10.1146/annurev.ento.49.061802.123324.
- Beline, T. (2018). Entomopathogenic Nematodes as Biocontrol Agents of Insect Pests. *CAB Reviews*, 13, 58, doi.org/10.1079/PAVSNNR201813058.
- Berrocal, A., Navarrete, J., Oviedo, C. and Nickerson, K.W. (2012). Quorum sensing activity in *Ophiostoma ulmi*: Effects of fusel oils and branched chain amino acids on yeast-mycelial dimorphism. *Journal of Applied Microbiology*, 113, 126–134, doi.org/10.1111/j.1365- 2672.2012.05317.x.
- Bland, M. L. (2023). Regulating metabolism to shape immune function: Lessons from *Drosophila*. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 138, 128-141, doi.org/10.1016/j.semcd.2022.04.002.
- Boderick, N. A., Welchman, D. P. and Lemaitre, B. (2009). Recognition and Response to Microbial Infection in *Drosophila*. In J. Rolff and S. E. Reynolds (eds.). *Insect Infection and Immunity, Evolution, Ecology, and Mechanisms*. Oxford University Press.
- Bogus, M. I., Wieloch, W. and Zuber, M.L. (2017). Coronatin-2 from the entomopathogenic fungus *Conidiobolus coronatus* kills *Galleria mellonella* larvae and incapacitates hemocytes. *Bulletin of Entomological Research*, 107, 66–76, doi.org/10.1017/S0007485316000638.
- Boucias, D., Liu, S., Meagher, R. and Baniszewski, J. (2016). Fungal dimorphism in the entomopathogenic fungus *Metarhizium rileyi*: Detection of an in vivo quorum-sensing system. *Journal of Invertebrate Pathology*, 136, 100–108. doi.org/10.1016/j.jip.2016.03.013
- Bouhri, Y., Aşkun, T., Tunca, B., Deniz, G., Aksoy, S.A. and Mutlu, M. (2020). The orange-red pigment from *Penicillium mallochii*: Pigment production, optimization, and

- pigment efficacy against Glioblastoma cell lines. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23, doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101451.
- Boxall, R.A. (2001). Post-harvest losses to insect-a world overview. *International Biodeterioration&Biodegradation*, 48, 137-152, doi.org/10.1016/S0964-8305(01)00076-2
- Boz, A. (2013). *Üç farklı konak türünün parazitoit Venturia canescens grav. (Hymenoptera: Ichneumonidae) erginlerindeki toplam protein, lipit, karbohidrat miktarlarına ve parazitoitin bazı biyolojik özelliklerine etkileri.* (Doktora tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 334888).
- Boztaş, G., Yazıcı, M. M., Hasenekoğlu, İ. and Şahin, F. (Temmuz, 2009). İki entomopatojen fungus izolatının Mysuz percicae'ye etkileri, *Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi* (s.15-18) 2, Van.
- Brey, P.T., Lee, W.J., Yamakawa, M., Koizumi, Y. and Perrot, S. (1993). Role of the integument in insect immunity: epicuticular abrasions and induction of cecropin synthesis in cuticular epithelial cell. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90, 6275-6279, doi.org/10.1073/pnas.90.13.6275.
- Brobyn, P. J., Clark, S. J. and Wilding. N. (1988). The effect of fungus infection of *Metopolophium dirhodum* (Hom: Aphididae) on the oviposition behavior of the aphid parasitoid *Aphidius rhopalosiphi* (Hym: Aphidiidae). *Entomophaga*, 33, 333-338, doi.org/10.1007/BF02372623.
- Butt, T.M., Coates, C.J., Dubovskiy, I.M. and Ratcliffe, N.A. (2016). Entomopathogenic fungi: New insights into host-pathogen interactions. *Advances in Genetics*, 94, 307-364, doi.org/10.1016/bs.adgen.2016.01.006.
- Butt, T.M., Jackson, C. and Magan, N. (2001). Introduction – fungal biological agents: progress, problems and potential. In T.M. Butt, C. Jackson and N. Magan (Eds.), *Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems & Potential* (pp. 1-8), CAB: International.
- Cai, Y., Fan, J., Sun, S., Wang, F., Yang, K., Li, G. and Pang, Y. (2012). Interspecific interaction between *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus and *Microplitis bicoloratus* (Hymenoptera: Braconidae: Microgastrina) in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Journal of Economic Entomology*, 105:1503–1508. doi.org/10.1603/EC12077.

- Canter, L.W. (2018). *Environmental impact of agricultural production activities*, Toyalar & Francis Group, US: CRC Press.
- Caron, V., Myers, J.H. and Gillespie, D.R. (2009). The failure to discriminate: superparasitism of *Trichoplusia ni* Hübner by a generalist tachinid parasitoid. *Bulletin of Entomological Research*, 1–7. doi.org/10.1017/S0007485309990198.
- Castelo, M. K., Corley, J. C. and Desouhant, E. (2003). Conspecific Avoidance During Foraging in *Venturia canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae): The Roles of Host Presence and Conspecific Densities. *Journal of Insect Behavior*, 16(2), 307 – 318, doi.org/10.1023/A:1023928204793.
- Castrillo, L.A., Roberts, D.W. and Vandenberg, J.D. (2005). The fungal past, present, and future: Germination, ramification, and reproduction. *Journal of Invertebrate Pathology*, 89, 46-56, doi.org/10.1016/j.jip.2005.06.005.
- Chauzat, M.P., Purvis, G. and Dunne, R. (2002). Release and Establishment of a Biological Control Agent, *Psyllaephagus pilosus* for *Eucalyptus Psyllid* (*Ctenarytaina eucalypti*) in Ireland. *Annals of Applied Biology*, 141, 293-304, doi.org/10.1111/j.1744-7348.2002.tb00221.x.
- Chen, W., Xie, W., Cai, W., Thaochan, N. and Hu, Q. (2021). Entomopathogenic Fungi Biodiversity in the Soil of Three Provinces Located in Southwest China and First Approach to Evaluate Their Biocontrol Potential. *Journal of Fungi*, 7, 984. doi.org/10.3390/jof7110984.
- Chen, Z., Guo, S., Cao, J., Pang, X., Geng, Z., Wang, Y., et al. (2018). Insecticidal and repellent activity of essential oil from *Amomum villosum* Lour. and its main compounds against two stored-product insects. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 2265-2275, doi.org/10.1080/10942912.2018.1508158.
- Chirault, M., Lucas, C., Goubault, M., Chevrier, C., Bressac, C. and Le'cureuil, C. (2015). A combined approach to heat stress effect on male fertility in *Nasonia vitripennis*: from the physiological consequences on spermatogenesis to the reproductive adjustment of females mated with stressed males. *PLOS ONE*, 10: e0120656, doi.org/10.1371/journal.pone.0120656.
- Cho, E.M., Kirkland, B.H., Holder, D.J. and Keyhani, N.O. (2007). Phage display cDNA cloning and expression analysis of hydrophobins from the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Cordyceps). *Microbiology*, 153(10), 3438–3447, doi.org/10.1099/mic.0.2007/008532-0.

- Coggins, S. A., Estévez-Lao, T. Y. and Hillyer, J. F. (2012). Increased survivorship following bacterial infection by the mosquito *Aedes aegypti* as compared to *Anopheles gambiae* correlates with increased transcriptional induction of antimicrobial peptides. *Developmental & Comparative Immunology*, 37, 390–401. doi.org/10.1016/j.dci.2012.01.005.
- Cooper, D. and Eleftherianos, I. (2017). Memory and Specificity in the Insect Immune System: Current Perspectives and Future Challenges. *Front. Immunol*, 8, 539, doi.org/10.3389/fimmu.2017.00539.
- Corbet, S. A. (1968). The influence of *Ephestia kuehniella* on the development of its parasite *Nemeritis canescens*. *Journal of Experimental Biology*, 48(2), 291 – 304, doi.org/10.1242/jeb.48.2.291.
- Corbet, S. A. (1971). Mandibular Gland Secretion of Larvae of the Flour Moth, *Anagasta kuehniella*, contains an Epideictic Pheromone and elicits Oviposition Movements in a Hymenopteran Parasite. *Nature*, 232, 481 – 484, doi.org/10.1038/232481b0.
- Corbet, S. A. and Rotherham, S. (1965). The life history of the ichneumonid *Nemeritis* (Devorgilla) *canescens* (Gravenhorst) as a parasite of the Mediterranean flour moth, *Ephestia* (Anagasta) *kuehniella* Zeller, under laboratory conditions. *General Entomology*, 40(4- 6), 67 – 72, doi.org/10.1111/j.1365-3032.1965.tb00316.x.
- Çelik Biçer, E., Güner, P. and Er, A. (2023). Nane (*Mentha spicata* L.) uçucu yağının depo zararlısı *Ephestia kuehniella* Z. (Lepidoptera: Pyralidae)’nın iki farklı gelişim evresine etkisi. *Balikesir Üniversitesi Fen BilimLeri Enstitüsü Dergisi*, 25(2), 661-674, doi.org/10.25092/baunfbed.1255362.
- da Costa, G.L. and de Oliveira, P.C. (1998). *Penicillium* Species in Mosquitoes from Two Brazilian Regions. *Journal of Basic Microbiology*, 38, 343–347, doi.org/10.1002/(sici)1521-4028(199811)38:5/6<343::aid-jobm343>3.3.co;2-q.
- de Oliveira Barbosa Bitencourt, R., Salcedo-Porras, N., Umaña-Díaz, C., Da Costa Angelo, I. and Lowenberger, C. (2020). Antifungal immune responses in mosquitoes (Diptera: Culicidae): A review. *Journal of Invertebrate Pathology*, 178, 107505, doi.org/10.1016/j.jip.2020.107505.
- Deacon, J.W. (1983). *Microbial control of pests and diseases*. Van nostrand. New York.
- Del Pilar Castillo, M., Ander, P., Stenström, J. and Torstensson, L. (2000). Degradation of the herbicide bentazon as related to enzyme production by *Phanerochaete chrysosporium* in two solid substrate fermentation systems. *World Journal of*

- Microbiology and Biotechnology*, 16, 289–295, doi.org/10.1023/A:1008936617596.
- Demirbağ, Z., Nalçacıoğlu, R., Katı, H., Demir, İ., Sezen, K., ve Ertürk, O. (2008). *Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele*. Trabzon, Esen Ofset Matbaacılık.
- Domsch, K.H., Gams, W. and Anderson, T.H. (1980). *Compendium Of Soil Fungi*. London: Academic Press.
- Dörtok, A. ve Aksoy, A. (2018). Türkiye buğday sektörünün eşanlı model yöntemiyle tahmini. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 21 (4), 580-586. Erişim adresi: <http://dogadergi.ksu.edu.tr/tr/pub/issue/37499/433628>.
- Du, M., Liu, X., Xu, J., Li, S., Wang, S., Zhu, Y. And Wang, J. (2020). Antimicrobial Effect of *Zophobas morio* Hemolymph against Bovine Mastitis Pathogens. *Microorganisms*, 8(10),1488, doi.org/10.3390/microorganisms8101488.
- El-Adawy, A.M.M., Sayed, A. and Abd El-Gawad, H.A.S. (2012). *Anagasta kuehniella* as an Isolation Bait of Entomopathogenic Agents. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 90(2), 601-606. Erişim adresi: https://www.researchgate.net/publication/275891202_Anagasta_kuehniella_as_an_Isolation_Bait_of_Entomopathogenic_Agents
- Elgorashi, E.E., Taylor, J.L.S., Maes, A., Staden, J., van De Kimpe, N. and Verschaeve, L. (2003). Screening of medicinal plants used in South African traditional medicine for genotoxic effects. *Toxicology Letters*, 143, 195–207, doi.org/10.1016/S0378-4274(03)00176-0.
- Eliopoulos, P. A. (2007). The importance of food supplements for parasitoids of stored product pests: the case of *Venturia canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae). S. Navarro, C. Adler, J. Riudavets and V. Stejskal (Eds.), *IOBC/wprs Bulletin*, (pp.37 – 41). Dijon, France.
- Elkhateeb, W.A., Mousa, K.M., Elnahass, M.O. and Daba, G.M. (2021). Fungi against insects and contrariwise as biological control models. *Egyptian Journal of Biology Pest Control*, 31 (1), 1–9, doi.org/10.1186/s41938-020-00360-8.
- El-Saadony, M.T., Sitohy, M.Z., Ramadan, M.F. and Saad, A.M. (2021). Green nanotechnology for preserving and enriching yogurt with biologically available iron (II). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 69, 102645. doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102645.
- El-Sufty Potrich, M., Alves, L.F.A., Lozano, E.R., Bonini A.K. and Neves, P.M.O.J. (2017). Potential Side Effects of the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium*

- anisopliae* on the Egg Parasitoid *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under Controlled Conditions. *Journal of economic entomology*, 110, 2318–2324, doi: 10.1093/jee/tox257.
- Emami, F., Alich, M. and Minaei, K. (2013). Interaction between the Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) and the Parasitoid Wasp, *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Entomological and Acarological Research*, 45, 205-209, doi.org/10.4081/jear.2013.e4.
- Emekçi, M. ve Ferizli, A.G. (2000, August). Current status of stored product protection in Turkey. C. Adler and M. Schoeller (Eds.), *IOBC / WPRS Bulletin*, (pp. 39-45). Dijon, France.
- Er, A. (2011). *Endoparazitoit Pimpla turionellae (L.) (Hymenoptera; Ichneumonidae) Zehiri ve Parazitlemesinin Konak Hemositlerine Etkileri*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir.
- Erler, F. and Ateş, A.O. (2015). Potential of two entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Coleoptera: Scarabaeidae), as biological control agents against the June beetle. *Journal of insect science*, 15(1), 44, doi.org/10.1093/jisesa/iev029. Print 2015.
- Erzurum, K. (2001). Gıdalarda mikotoksin oluşumunu etkileyen faktörler. *Gıda*, 26 (4), 289-293. Erişim adresi: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/gida/issue/6931/92553>.
- Escribano, A., Williams, T., Goulson, D., Cave, R.D., Chapman, J.W. and Caballero P. (2001). Consequences of interspecific competition on the virulence and genetic composition of a nucleopolyhedrovirus in *Spodoptera frugiperda* larvae parasitized by *Chelonus insularis*. *Biocontrol Science Technology*, 11:649–662. doi.org/10.1080/09583150120076193.
- Fancelli, M., Dias, A.B., Delalibera, I.J., Cerqueira de Jesus, S., Souza do Nascimento, A., Oliveira e Silva, S., et al. (2013). *Beauveria bassiana* Strains for Biological Control of *Cosmopolites sordidus* (Germ.) (Coleoptera: Curculionidae) in Plantain. *BioMed Research International*, doi.org/10.1155/2013/184756.
- Farahani, H. K., Moghadassi, Y., Pierre, J.S., Kraus, S. and Lihoreau, M. (2021). Poor adult nutrition impairs learning and memory in a parasitoid wasp. *Nature Scientific Reports*, 11, 16220, doi.org/ 10.1038/s41598-021-95664-6.
- Feng, P., Shang, Y., Cen, K. and Wang, C. (2015). Fungal biosynthesis of the bibenzoquinone oosporein to home insect immunity. *Proceedings of the National*

- Academy of Sciences of the United States of America*, 112 (36), 11365–11370, doi.org/10.1073/pnas.1503200112.
- Fernández-Grandon, G.M., Harte, S.J., Ewany, J., Bray, D. and Stevenson, P.C. (2020). Additive effect of botanical insecticide and entomopathogenic fungi on pest mortality and the behavioral response of its natural enemy. *Plants*, 9:173. doi.org/10.3390/plants9020173.
- Flinn, P.W. and Scholler, M. (2012). Biological control: Insect pathogens, parasitoids, and predators. In D.W. Hagstrum, T.W. Phillips and G. Cuperus (Eds.), *Stored product protection* (pp. 203–212), Kansas State University, Manhattan, KS.
- Fornelli, F., Minervini, F. and Logrieco, A. (2004). Cytotoxicity of fungal metabolites to lepidopteran (*Spodoptera frugiperda*) cell line (SF-9). *Journal of invertebrate pathology*, 85, 74–79, doi.org/10.1016/j.jip.2004.01.002.
- Fujita, S. (2013). Simple modified method for fungal slide preparation. *Medical mycology journal*, 54(2), 141-146, doi.org/10.3314/mmj.54.141.
- Garcia-Lara, J., Needham, A.J. and Foster, S.J. (2005) Invertebrates as animal models for *Staphylococcus aureus* pathogenesis: a window into host-pathogen interaction. *FEMS immunology and medical microbiology*, 43(3), 311-323, doi.org/10.1016/j.femsim.2004.11.003.
- Gauthier, G.M. (2015). Dimorphism in Fungal Pathogens of Mammals, Plants, and Insects. *PLOS Pathogens*, 11(2), e1004608, doi.org/10.1371/journal.ppat.1004608.
- Gillespie, J.P., Kanost, M.R. and Trenczek, T. (1997). Biological mediators of insect immunity. *Annual review of entomology*, 42, 611-643, doi.org/10.1146/annurev.ento.42.1.611.
- Godfray, H.C.J. (1994). *Parasitoids behavioral and evolutionary ecology*. Princeton University Press.
- Goettel, M.S., Eilenberg, J. and Glare, T. (2005). Entomopathogenic fungi and their role in regulation of insect populations. In L.I. Gilbert, K. Iatrou and S.S. Gill (Eds.), *Comprehensive Molecular Insect Science* (pp. 361- 405). Amsterdam, Holland.
- Gonzalez, F., Tkaczuk, C., Dinu, M.M., Fiedler, Z., Vidal, S., Zchori-Fein, E., et al. (2016). New opportunities for the integration of microorganisms into biological pest control systems in greenhouse crops. *Journal of Pest Science*, 89 (2), 295–311, doi.org/10.1007/s10340-016-0751-x.
- Grafton, R. Q., Daugbjerg, C. and Qureshi, M. E. (2015). Towards food security by 2050. *Food Security*, 7(2), 179-183, doi.org/10.1007/s12571-015-0445-x.

- Gullan, P. J. and Cranston, P. S. (2012). *The Insects: An Outline of Entomology (Böcekler: Entomolojinin Ana Hatları)*, Nobel Akademik Yayıncılık, Canberra, Australia.
- Gupta, A.P. (1985). Cellular Elements in the Hemolymph, In G.A. Kerkut and L.I. Gilbert. (Eds.), *Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology* (pp. 401-451), New York: Pergamon.
- Guru-Pirasanna-Pandi, G., Adak, T., Gowda, B., Patil, N., Annamalai, M. and Jena, M. (2018). Toxicological effect of underutilized plant, *Cleistanthus collinus* leaf extracts against two major stored grain pests, the rice weevil, *Sitophilus oryzae* and red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 154, 92-99, doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.02.024.
- Guyonnet, D., Belloir, C., Suschetet, M., Siess, M.H. and Le Bon, A.M. (2002). Mechanisms of Protection Against Aflatoxin B(1) Genotoxicity in Rats Treated by Organosulfur Compounds from Garlic. *Carcinogenesis*, 23(8), 1335-1341, doi.org/10.1093/carcin/23.8.1335.
- Güner, P., Aşkun, T. and Er, A. (2023a). Entomopathogenic Fungi and Their Potential Role In The Sustainable Biological Control of Storage Pests. *Commagene Journal of Biology*, 7(1), 90-97, doi.org/10.31594/commagene.1284354.
- Güner, P., Aşkun, T. ve Er, A. (2023b). Evaluation of antibacterial activity Induced by *Penicillium mallochii* in the hemolymph of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *International Journal of Nature and Life Sciences*, 7 (2), 79-88, doi.org/10.47947/ijnls.1362362.
- Güneş, E. ve Turmuş, E. (2020). Dünyada ve Türkiye’de Gıda Güvenliği/Güvencesinin Hububat Sektörü Yönüyle Değerlendirilmesi. *Evaluation of Grain Sector in Terms of Food Safety/Security in Turkey and the World*, 7(3), 124-143, doi.org/10.5505/tjob.2020.36449.
- Haine, E. R., Moret, Y., Siva-Jothy, M. T. And Rolff, J. (2008). Antimicrobial defense and persistent infection in insects. *Science*, 322, 1257-1259, doi.org/10.1126/science.1165265.
- Hall, T.A. (1999). BIOEDIT: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor And Analysis Program For Windows 95/98/ NT. *Biology, Computer Science*, 41, 95-98, doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-14998u1.29.
- Harvey, J. A. and Thompson, D. J. (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. Erişim adresi: <https://www.eje.cz/pdfs/eje/1995/02/07.pdf>
- Harvey, J. A. and Vet, L. E. (1997). *Venturia canescens* parasitizing *Galleria mellonella* and *Anagasta kuehniella*: differing suitability of two hosts with highly variable growth potential. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 84, 93 – 100, doi.org/10.1046/j.1570-7458.1997.00202.x.
- Harvey, J.A., Harvey, I.F. and Thompson, D.J. (2001). Life time reproductive success in the solitary endoparasitoid, *Venturia canescens*. *Journal of Insect Behaviour*, 14, 573–593, doi.org/10.1023/A:1012219116341.
- Harvey, J.A., Harvey, I.F. and Thomson, D.J. (1994). Flexible larval feeding allows use of a range of host sizes by a parasitoid wasp. *Ecology*, 75, 1420-1428, doi.org/10.2307/1937465.
- Hasan, S., Ahmad, A., Purwar, A., Khan, N., Kundan, R. and Gupta, G. (2013). Production of Extracellular Enzymes in the Entomopathogenic Fungus. *Verticillium lecanii*. *Bioinformation*, 9, 238-242, doi.org/10.6026/97320630009238.
- Hochberg, M.E. (1991a) Intra-host interactions between a braconid endoparasitoid, *Apanteles glomeratus*, and a baculovirus for larvae of *Pieris brassicae*. *Journal of Animal Ecology*, 60(1), 51-63, doi.org/10.2307/5444.
- Hochberg, M.E. (1991b). Extra-host interactions between a braconid endoparasitoid, *Apanteles glomeratus*, and a baculovirus for larvae of *Pieris brassicae*. *Journal of Animal Ecology*, 60, 65-77, doi.org/10.2307/5445.
- Hultmark, D. (2003). *Drosophila* immunity: Paths and patterns. *Current opinion in immunology*, 15, 12–19, doi.org/10.1016/S0952-7915(02)00005-5.
- Humber, R.A. (2008). Evaluation of Entomopathogenicity in Fungi. *Journal of Invertebrate Pathology*, 98, 262-266, doi.org/10.1016/j.jip.2008.02.017.
- Hung, S.Y., Boucias, D. G. and Vey, A. J. (1993). Effect of *Beauveria bassiana* and *Candida albicans* on the cellular defense response of *Spodoptera exigua*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 61(2), 179-87, doi.org/10.1006/jipa.1993.1032.
- Husain, M., Waleed, S., Alwaneen, K., Mehmood, K.G., Rasool, M., Tufail, M., et al. (2017). Biological traits of *Cadra cautella* (Lepidoptera: Pyralidae) reared on Khodari date fruits under different temperature regimes. *Journal of Economic Entomology*, 110, 1923-1928, doi.org/10.1093/jee/tox162
- Ibarra-Cortes, K.H., González-Hernández, H., Guzmán-Franco, A.W., Ortega-Arenas, L.D., Villanueva-Jiménez, J.A. and Robles-Bermúdez, A. (2018). Interactions

- between entomopathogenic fungi and *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) populations under laboratory conditions. *Journal of Pest Science*, 91:373–384. doi.org/10.1007/s10340-017-0870-z.
- Idrees, A., Qadir, Z.A., Akutse, K.S., Afzal, A., Hussain, M., Islam, W., et al. (2021). Effectiveness of Entomopathogenic Fungi on Immature Stages and Feeding Performance of Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae. *Insects*, 12, 1044, doi.org/10.3390/insects12111044.
- Imamura, T., Todoriki, S., Sota, N. and Nakakita, H. (2004). Effect of soft-electron (low-energy electron) treatment on three stored-product insect pests. *Journal of Stored Products Research*, 40(2), 169–177, doi.org/10.1016/S0022-474X(02)00095-4.
- Ito, E., Ukpohwo, R. and Okiriguo, I. (2018). Insecticidal activity of *Xylopia aethiopica* (Family; Annonaceae) against *Callosobruchus maculatus* (F) (Coleoptera: Bruchidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Biological Studies*, 1(3), 106-115, doi.org/10.62400/jbs.v1i3.23.
- Jaber, L.R. and Araj, S.E. (2017). Interactions among endophytic fungal entomopathogens (Ascomycota: Hypocreales), the green peach aphid *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae), and the aphid endoparasitoid *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*, doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.04.005.
- Jaber, L.R. and Ownley, B.H. (2017). Can we use entomopathogenic fungi as endophytes for dual biological control of insect pests and plant pathogens. *Biological Control*, 116, 36- 45, doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.01.018.
- Jackson, T.A. and Saville, D.J. (2000). Bioassays of replicating bacteria against soil-dwelling insect pest. In: Navon, A. and Ascher, K.R.S. (Eds.). *Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes*. (pp. 73-94), CABI, New York.
- Jarrahi, A. and Safavi, S.E. (2016). Sublethal effects of *Metarhizium anisopliae* on life table parameters of *Habrobracon hebetor* parasitizing *Helicoverpa armigera* larvae at different time intervals. *BioControl*, 61 (2), 167–175, doi.org/10.1007/s10526-015-9707-y.
- Jin, K., Peng, G., Liu, Y. and Xia, Y. (2015). The acid trehalase, ATM1, contributes to the in vivo growth and virulence of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium acridum*. *Fungal Genetics and Biology*, 77, 61–67, doi.org/10.1016/j.fgb.2015.03.013.

- Kaur, S., Kaur, H.P., Kaur, K. and Kaur, A. (2011). Effect of different concentrations of *Beauveria bassiana* on development and reproductive potential of *Spodoptera litura* (Fabricius). *Journal of Biopesticides*, 4, 161 –168. Erişim adresi: http://www.jbiopest.com/users/lw8/efiles/Vol_4_2_257C.pdf.
- Kaur, S., Thakur, A. and Rajput, M. (2014). A laboratory assessment of the potential of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin as a biocontrol agent of *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Stored Products Research*, 59, 185-189, doi.org/10.1016/j.jspr.2014.08.004.
- Khan, S.A., Ranjha, M.H., Khan, A.A., Sagheer, M., Abbas, A. and Hassan, Z. (2019). Insecticidal Efficacy of Wild Medicinal Plants, *Datura alba* and *Calotropis procera*, against *Trogoderma granarium* (Everts) in Wheat Store Grains. *Pakistan Journal of Zoology*, 51(1), 289-294, doi.org/10.17582/journal.pjz/2019.51.1.289.294.
- Kılınçer, N., Yiğit, A., Kazak, C., Er, M.K., Kurtuluş, A. ve Uygun, N. (2010). Teoriden Pratiğe Zararlılarla Biyolojik Mücadele. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 1, 15-60, Erişim adresi: https://www.biyolojikmucadele.org.tr/dergi_detay.asp?id=70
- Kırpık, M.A., Kılıçle, P.A. and Asker, Y. Y. (2019). Defne (*Laurus nobilis* L.) ve Zahter (*Thymbra spicata* L.) Uçucu Yağlarının Farklı Konsantrasyonlarda *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) ve *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) Üzerine Fumigant Etkilerinin Araştırılması. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 9(3), 1234-1242, doi.org/10.21597/jist.488946
- Kidanu, S. (2020). Research and Application of Entomopathogenic Fungi as Pest Management Option: A Review. *Journal of Environment and Earth Science*, 10(3), 31–39, doi.org/10.7176/JEES/10-3-03.
- Kim, G. S. and Kim, Y. (2010). Up-regulation of circulating hemocyte population in response to bacterial challenge is mediated by octopamine and 5- 128 hydroxytryptamine via Rac1 signal in *Spodoptera exigua*. *Journal of insect physiology*, 56, 559-566, doi.org/10.1016/j.jinsphys.2009.11.022.
- Kim, J. J., Kim, K. C. and Roberts, D.W. (2005). Impact of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* on development of an aphid parasitoid, *Aphidius colemani*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 88, 254 -256, doi.org/10.1016/j.jip.2005.01.004.

- King, E.G. and Bell, V. (1978). Interaction between a Braconid, *Microplitis croceipes*, and a Fungus, *Nomuraea rileyi*, in Laboratory-Reared Bollworm Larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 31, 337-340, doi.org/10.1016/0022-2011(78)90225-2.
- Klein, B.S. and Tebbets, B. (2007). Dimorphism and virulence in fungi. *Current Opinion in Microbiology*, 10, 314–319, doi.org/10.1016/j.mib.2007.04.002.
- Klowden, M.J. and Pallai, S.R. (2022). *Physiological Systems in Insects*, 3rd ed.; Academic Press: San Diego, CA, USA.
- Kocatürk, S., Barış, M., Özmen, O. ve Gülay, T. (1994, Ocak). Orta Anadolu Bölgesi'nde kımlı (*Aelia rostrata* Boh.)'da saptanan entomopatojen funguslar ve etkinlikleri üzerinde araştırmalar. C. Öncüler (Ed.), *Türkiye 3. Biyolojik Mücadele Kongresi* (s. 299-308), İzmir.
- Kolchevskaya, E.N. and Kolchevkii, A.G. (1988). Analysis of Isozymes of Nonspecific Esterases in Cabbage moth infected with *Vairimorpha antheraeae* microsporidia. *Byull, VIZR*, 71.
- Koller, J., Sutter, L., Gonthier, J., Collatz, J. and Norgrove L. (2023). Entomopathogens and Parasitoids Allied in Biocontrol: A Systematic Review. *Pathogens*, 20;12(7):957. doi.org/10.3390/pathogens12070957.
- Koo, H. N., Yoon, S.H., Shin, Y.H. and Yoon, C. (2011). Effect of electron beam irradiation on developmental stages of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 14(3), 243–247, doi.org/10.1016/j.aspen.2011.03.001.
- Koo, H. N., Yun, S. H., Yoon, C. and Kim, G. H. (2012). Electron beam irradiation induces abnormal development and the stabilization of p53 protein of American serpentine leafminer, *Liriomyza trifolii* (Burgess). *Radiation Physics and Chemistry*, 81(1), 86–92, doi.org/10.1016/j.radphyschem.2011.09.008.
- Korner, P. and Schmid-Hempel, P. (2004). In vivo dynamics of an immune response in the bumble bee *Bombus terrestris*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 87, 59-66, doi.org/10.1016/j.jip.2004.07.004.
- Krishnan, N. and Kodrik, D. (2006). Antioxidant enzymes in *Spodoptera littoralis* (Boisduval) are they enhanced to protect gut tissues during oxidative stress. *Journal of Insect Physiology*, 5, 11-20, doi.org/10.1016/j.jinsphys.2005.08.009.
- Kumar, D. and Kalita, P. (2017). Reducing postharvest losses during storage of grain crops to strengthen food security in developing countries. *Foods*, 6(1), 8, doi.org/10.3390/foods6010008

- Kumar, D., Pandey, J. P., Jain, J. Mishra, P.K. and Prasad, B.C. (2011). Qualitative and quantitative changes in protein profile of various tissue of tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury. *International Journal of Zoological Research*, 7, 147–155, doi.org/ 10.3923/ijzr.2011.147.155.
- Kylsten, P., Kimbrell, D.A., Daffre, S., Samakovlis, Ch. and Hulmark, D. (1992). The lysozyme locus in *Drosophila melanogaster*: different genes are expressed in midgut and salivary glands. *Molecular & general genetics*, 232(3), 335-343, doi.org/10.1007/BF00266235.
- Labauda, S. and Griffin, C.T. (2018). Transmission Success of Entomopathogenic Nematodes Used in Pest Control. *Insects*, 9, 72-91, doi.org/10.3390/insects9020072.
- Lacetera, N. (2018). Impact of climate change on animal health and welfare. *Animal Frontiers*, 9(1), 26-31, doi.org/10.1093/af/vfy030
- Langfelder, K., Streibel, M., Jahn, M., Haase, B.G. and Brakhage, A.A. (2003). Biosynthesis of fungal melanins and their importance for human pathogenic fungi. *Fungal Genetics and Biology*, 38(2), 143–158, doi.org/10.1016/s1087-1845(02)00526-1.
- Larone, D.H. (1995). *Medically Important Fungi, A Guide To Identification*. Washington: ASM press.
- Lastra, C.C.L., Gibson, D.M. and Hajek, A.E. (2001). Survival and differential development of *Entomophaga maimaiga* and *Entomophaga aulicae* (Zygomycetes: Entomophthorales) in *Lymantria dispar* hemolymph. *Journal of invertebrate pathology*, 78, 201-209, doi.org/10.1006/jipa.2001.5069.
- Lauziere, I., Pérez-Lachaud, G. and Brodeur, J. (2000). Effect of female body size and adult feeding on the fecundity and longevity of the parasitoid *Cephalonomia stephanoderis* Betrem (Hymenoptera: Bethyridae). *Annals of the Entomological Society of America*, 93(1), 103–109, doi.org/10.1603/0013-8746(2000)093[0103:EOFBSA]2.0.CO;2.
- Lavine, M.D. and Strand, M.R. (2002). Insect hemocytes and their role in immunity. *Insect biochemistry and molecular biology*, 32, 1295-1309, doi.org/10.1016/s0965-1748(02)00092-9.
- Lazzaro, B. P. and Rolff, J. (2011). Immunology. Danger, microbes, and homeostasis. *Science*, 332, 43-44, doi.org/10.1126/science.1200486.

- Le, N.T., Asgari, S., Amaya, K., Tan, F.F. and Beckage, N.E. (2003). Persistence and expression of *Cotesia congregata* polydnavirus in host larvae of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Journal of Insect Physiology*, 49, 533-543, doi.org/10.1016/S0022-1910(03)00052-0.
- League, G. P., Estevez-Lao, T. Y., Yan, Y., Garcia-Lopez, V. A. and Hillyer, J. F. (2017). *Anopheles gambiae* larvae mount stronger immune responses against bacterial infection than adults: evidence of adaptive decoupling in mosquitoes. *Parasite Vector*, 10, 367. doi.org/10.1186/s13071-017- 2302-6.
- Lee, W.J. and Brey, P.T. (1995). Isolation and characterization of the lysozymeencoding gene from the silkworm *Bombyx mori*. *Gene*, 161, 199-203, doi.org/10.1016/0378-1119(95)00199-g.
- Leitao, A. L. (2009). Potential of *Penicillium* Species In The Biomediation Field, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 6(4), 1393-1417, doi.org/10.3390/ijerph6041393.
- Litwin, A., Nowak, M. and Różalska, S. (2020). Entomopathogenic fungi: unconventional applications. *Reviews in Environmental Science and Bio / Technology*, 19(1), 23–42, doi.org/10.1007/s11157-020-09525-1.
- Los, A. and Strachecka, A. (2018). Fast and Cost-Effective Biochemical Spectrophotometric Analysis of Solution of Insect Blood and Body Surface Elution. *Sensors*, 18(5),1494, doi.org/10.3390/s18051494.
- Louw, J.P. and Korsten, L. (2014). Pathogenic *Penicillium* spp. on apple and pear. *Plant Disease*, 98 (5), 590-598, doi.org/10.1094/PDIS-07-13-0710-RE.
- Lu, H. L. and St. Leger, R. J. (2016). Insect Immunity to entomopathogenic fungi. *Advances in Genetics*, 94, 251-285. doi.org/10.1016/bs.adgen.2015.11.002.
- Luo, Z., Li, Y., Mousa, J., Bruner, S., Zhang, Y., Pei, Y., et al. (2015). Bbmsn2 acts as a pH-dependent negative regulator of secondary metabolite production in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Environmental microbiology*, 17(4), 1189-1202, doi.org/10.1111/1462-2920.13648.
- Luo, Z., Ren, H., Mousa, J.J., Rangel, D.E., Zhang, Y., Bruner, S.D., et al. (2017). The PacC transcription factor regulates secondary metabolite production and stress response but has only minor effects on virulence in the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Environmental microbiology*, 19(2), 788-802, doi.org/10.1111/1462-2920.13648.

- Ma, M., Luo, J., Li, C., Eleftherianos, I., Zhang, W. and Xu, L. (2024). A life-and-death struggle: interaction of insects with entomopathogenic fungi across various infection stages. *Frontiers in Immunology*, 14, 1329843, doi.org/10.3389/fimmu.2023.1329843.
- Mackauer, M. (1986). Growth and developmental interactions in some aphids and their hymenopteran parasites. *Journal of Insect Physiology*, 32, 275-280, doi.org/10.1016/0022-1910(86)90039-9.
- Mahdian, S.H.A. and Rahman, M.K. (2008). Insecticidal effect of some spices on *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) in black gram seeds. *University Journal of Zoology Rajshahi University*, 27, 47-50, doi.org/10.3329/ujzru.v27i0.1953.
- Malassigne, S., Moro, C.V. and Luis, P. (2020). Mosquito Mycobiota: An Overview of Non-Entomopathogenic Fungal Interactions. *Pathogens*, 9, 564, doi.org/10.3390/pathogens9070564.
- Mama Sambo, S., Akutse, K.S., du Plessis, H., Aigbedion-Atalor, P.O., Mohamed, S.A. and Ndlela, S. (2022). Interactions between the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* ICIPE 20 and the Endoparasitoid *Dolichogenidea gelechiidivoris*, and Implications for Combined Biocontrol of *Tuta absoluta*. *Biology*, 11, 1323, doi.org/10.3390/biology11091323.
- Mamay, M. ve Mutlu, Ç. (2019). Optimizing container size and rearing density for rapid and economic mass rearing of *Oenopia conglobata*(Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Coccinellidae). *Turkish Journal of Entomology*, 43 (4), 395-408, doi.org/10.16970/entoted.562724.
- Mantzoukas, S., Lagogiannis, I., Mpekiri, M., Pettas, I. and Eliopoulos, P.A. (2019). Insecticidal Action of Several Isolates of Entomopathogenic Fungi against the Granary Weevil (*Sitophilus granarius*). *Agriculture*, 9(10), 222, doi.org/10.3390/agriculture9100222.
- Marshall, S. and Arenas, G. (2003). Antimicrobial peptides: A natural alternative to chemical antibiotics and a potential for applied biotechnology. *Electronic Journal of Biotechnology*, 6, 271-284, doi.org/10.4067/S0717-34582003000300011.
- Martínez-Barrera, O., Toledo, J., Liedo, P., Gómez, J. Valle-Mora, J., Cancino, J., et al. (2019). Does *B. bassiana* (Hypocreales: Cordycipitaceae) affect the survival and fecundity of the parasitoid *C. haywardi* (Hymenoptera: Diapriidae). *Environmental Entomology*, 48, 156–162, doi.org/10.1093/ee/nvy182.

- Martins, I.C.F., Silva, R.J., Alencar, J.R.D.C.C., Silva, K.P., Cividanes, F.J., Duarte, R.T., et al. (2014). Interactions between the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) and the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Braconidae) on *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, 107 (3), 933–938, doi.org/10.1603/EC13542.
- Mas, N.G., Medina, M.C., Sánchez, F.G. and Moraga E.Q. (2019). Bottom-up effects of endophytic *Beauveria bassiana* on multitrophic interactions between the cotton aphid, *Aphis gossypii*, and its natural enemies in melon. *Journal of Pest Science*, 92,1271–1281, doi.org/10.1007/s10340-019-01098-5.
- Mburu, D.M., Maniania, N.K. and Hassanali, A. (2012). Comparison of volatile blends and nucleotide sequences of two *Beauveria Bassiana* Isolates of different virulence and repellency towards the termite *Macrotermes Michealseni*. *Journal of chemical ecology*, 39 (1),101–8, doi.org/10.1007/s10886-012-0207-6.
- Mburu, D.M., Ndung'u, M.W., Maniania, N.K. and Hassanali, A. (2011). Comparison of volatile blends and gene sequences of two isolates of *Metarhizium anisopliae* of different virulence and repellency toward the termite *Macrotermes michaelsoni*. *The Journal of experimental biology*, 214(6), 956–62, doi.org/10.1242/jeb.050419 73.
- Memişoğlu, H. and Özer, M. (Ocak, 1994). Ankara ilinde Avrupa sünesi (*Eurygaster maura* L., Hemiptera: Scutelleridae)'nin doğal düşmanları ve etkinlikleri. *Türkiye 3. Biyolojik Mücadele Kongresi Ege Üniversitesi, Bildiri Kitabı*, (s. 175- 186), İzmir.
- Mesquita, A.L.M. and Lacey, L.A. (2001). Interactions among the entomopathogenic fungus, *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes), the parasitoid, *Aphelinus asychis* (Hymenoptera: Aphelinidae) and their aphid host. *Biological Control*, 22 (1), 51–59, doi. org/10.1006/bcon.2001.0950.
- Meyling, N.V. and Pell, J.K. (2006). Detection and avoidance of an entomopathogenic fungus by a generalist insect predator. *Ecological Entomology*, 31(2),162–71, Doi.org/10.1111/j.0307- 6946.2006.00781.x.
- Michalaki, M.P., Athanassiou, C.G., Steenberg, T. and Buchelos, C.Th. (2007). Effect of *Paecilomyces fumosoroseus* (Wise) Brown and Smith (Ascomycota: Hypocreales) alone or in combination with diatomaceous earth against *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Ephestia kuehniella* Zeller

- (Lepidoptera: Pyralidae). *Biological Control*, 40, 280–286, doi.org/10.1016/j.cropro.2005.10.015.
- Mohammed, A.A. and Hatcher, P.E. (2017). Combining entomopathogenic fungi and parasitoids to control the green peach aphid *Myzus persicae*. *Biological Control*, 110, 44–55, doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.03.012.
- Morejon, B. and Michel, K. (2023). A zone-of inhibition assay to screen for humoral antimicrobial activity in mosquito hemolymph. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 891577, doi.org/10.3389/fcimb.2023.891577.
- Mowlds, P., Barron, A. and Kavanagh, K. (2008). Physical stress primes the immune response of *Galleria mellonella* larvae to infection by *Candida albicans*, *Microbes and Infection*, 10, 628–634, doi.org/10.1016/j.micinf.2008.02.011.
- Myles, T. (2002). Alarm, aggregation, and defense by *Reticulitermes flavipes* in response to a naturally occurring isolate of *Metarhizium anisopliae*. *Sociobiology* 40,243–255, doi.org/10.1006/pest.2001.2581.
- Naruzawa, E.S. and Bernier, L. (2014). Control of yeast-mycelium dimorphism in vitro in Dutch elm disease fungi by manipulation of specific external stimuli. *Fungal Biology*, 118, 872–884, doi.org/10.1016/j.funbio.2014.07.006.
- Navon, A. and Ascher, K.R.S. (2000). *International, Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes*. Wallingford: CABI.
- Nicoletti, R., Andolfi, A., Becchimanzi, A. and Salvatore, M.M. (2023). Anti-Insect Properties of Penicillium Secondary Metabolites. *Microorganisms*, 11,1302, doi.org/10.3390/microorganisms11051302.
- Nielsen, C., Skovgård, H. and Steenberg, T. (2005). Effect of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on survival and reproduction of the filth fly parasitoid, *Spalangia cameroni* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Environmental Entomology*, 34, 133–139, doi.org/10.1603/0046-225X-34.1.133.
- Nieminen, S.M., Maki-Paakkanen, J., Hirvonen, M.R., Roponen, M. and von Wright, A. (2002). Genotoxicity of gliotoxin, a secondary metabolite of *Aspergillus fumigatus*, in a battery of short-term test systems. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 520, 161–170, doi.org/10.1016/S1383-5718(02)00202-4.
- Nikolaou, P., Marciniak, P., Adamski, Z., and Ntalli, N. (2021). Controlling Stored Products Pests with Plant Secondary Metabolites: A Review. *Agriculture*,11(9), 879, doi.org/10.3390/agriculture11090879

- Nozad-Bonab, Z., Hejazi, M.J., Iranipour, S., Arzanlou, M. and Biondi, A. (2021). Lethal and sublethal effects of synthetic and bio-insecticides on *Trichogramma brassicae* parasitizing *Tuta absoluta*. *PLoS ONE*, 16(7), e0243334, doi.org/10.1371/journal.pone.0243334.
- Olive, P.L. and Banath, P.J. (2006). The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells. *Nature Protocols*, 1(1), 23-29, doi.org/10.1038/nprot.2006.5.
- Oreste, M., Bubici, G., Polisenio, M. and Tarasco, E. (2016). Effect of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on the *Trialeurodes vaporariorum*-*Encarsia Formosa* system. *Journal of Pest. Science*, 89:153–160. doi.org/10.1007/s10340-015-0660-4.
- Ormond, E., Thomas, A.P.M., Pell, J.K., Freeman, S.N. and Roy, H.E. (2011). Avoidance of a generalist entomopathogenic fungus by the ladybird, *Coccinella septempunctata*. *FEMS Microbiology Ecology*, 77, 229–237, doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01100.x.
- Orozco, R.A., Lee, M.M. and Stock, S.P. (2014). Soil sampling and isolation of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae, Heterorhabditidae). *Journal of Visualized Experiments*, 11 (89), 52083. doi.org/10.3791/52083.
- Ortiz-Urquiza, A. and Keyhani, N.O. (2013). Action on the surface: Entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. *Insects*, 4(3), 357–374, doi.org/10.3390/insects4030357.
- Ortiz-Urquiza, A., Keyhani, N.O. and Quesada-Moraga, E. (2013). Culture conditions affect virulence and production of insect toxic proteins in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology*, 23(10), 1199–1212, doi.org/10.1080/09583157.2013.822474.
- Özkan, C. (1999). *Venturia canescens* (Grav.) (Hymenoptera:Ichneumonidae) ile *Ephestia kuehniella* Zell. (Lepidoptera:Pyralidae) Arasında Bazı Biyolojik İlişkiler Üzerine Araştırmalar (Doktora Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 83397).
- Özkan, C. (2007). Effect of food, light and host instar on the egg load of the synovigenic endoparasitoid *Venturia canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Journal of Pest Science*, 80(2), 79 – 83, doi.org/10.1007/s10340-006-0155-4.
- Pal, S. and Wu, L.P. (2019). Lessons from the Fly: Pattern Recognition in *Drosophila melanogaster*. In: U. Kishore (ed) *Target Pattern Recognition in Innate Immunity Springer* (pp. 162-174), New York: Springer-Verlag.

- Pech, L.L. ve Strand M.R. (2000), Plasmacytes from the moth *Pseudoplusia includens* induce apoptosis of granular cells. *Journal of insect physiology*, 46, 1565- 1473, doi.org/10.1016/s0022-1910(00)00083-4.
- Pedrini, N., Crespo, R. and Juárez, M.P. (2007). Biochemistry of insect epicuticle degradation by entomopathogenic fungi. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C. Toxicology & Pharmacology*, 146(1-2), 124–137, doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.08.003.
- Peterson, S.W., Pérez, J., Vega, F.E. and Infante, F. (2003). *Penicillium brocae*, a new species associated with the coffee berry borer in Chiapas, Mexico. *Mycologia*, 95(1),141–147, doi.org/10.2307/3761973.
- Phukan, M., Hazarika, L.K., Barooah, M., Puzari, K.C. and Kalita, S. (2008). Interaction of *Dicladispa armigera* (Coleoptera: Chrysomelidae) haemocytes with *Beauveria bassiana*. *International Journal of Tropical Insect Science*, 28(2), 88- 97, doi.org/10.1017/S1742758408004049
- Pitt, J. I. (2000). *A laboratory guide to common Penicillium species*, Food Science, Australia.
- Powell, W., Wilding, N., Brobyn, P.J. and Clark, S.J. (1986). Interference between Parasitoids (Hym.: Aphidiidae) and Fungi (Entomophthorales) Attacking Cereal Aphids. *Entomophaga*, 31, 293-302, doi.org/10.1007/BF02373339.
- Presa-Parra, E., Hernández-Rosas, F., Bernal, J.S., Valenzuela-González, J.E., Martínez-Tlapa, J. and Birke, A. (2021). Impact of *Metarhizium robertsii* on adults of the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* and parasitized *Anastrepha ludens* larvae. *Insects*, 12, 125, doi.org/10.3390/insects12020125.
- Quesada-Moraga, E. and 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, doi.org/10.1080/0958315031000110346.
- Quesada-Moraga, E., Garrido-Jurado, I., Yousef-Yousef, M. and González-Mas, N. (2022) Multitrophic interactions of entomopathogenic fungi in biocontrol. *BioControl*, 2022;67:457–472. doi.org/10.1007/s10526-022-10163-5.
- Radwan, M.H, Alaidaroos, B. A., Jastaniah, S.D., Abu El-Naga, M.N., El-Gohary, E.E., Barakat, E. M. S., El Shafie, A.M., Abdou, M.A., Mostafa, N.G., El-Saadony, M.T. and Momen, S.A.A. (2022). Evaluation of antibacterial activity induced by

- Staphylococcus aureus* and Ent A in the hemolymph of *Spodoptera littoralis*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29 (4), 2892-2903. doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.01.025.
- Rahman, M. M., Roberts, H.L.S. and Schmid, O. (2007). Factors affecting growth in the *Venturia canescens* in the flour moth *Ephestia kuehniella*. *Journal of Insect Physiology*, 53,463–467, doi.org/10.1016/j.jinsphys.2007.01.007.
- Rajitha, K., Savithri, G. and Sujathamma, P. (2013). Hemocyte population dynamics in fifth instar silkworm *Bombyx mori* L. inoculated with *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. *International Journal of Agricultural Science and Research*, 3, 265–276, Erişim adresi: https://www.researchgate.net/publication/237077114_haemocyte_population_dynamics_in_fifth_instar_silkworm_bombyx_mori_l_inoculated_with_beauveria_bassiana_bals_vuill
- Raper, K.B. and Thom, C. (1949). *A manual of the Penicilli*, Baltimore, The Williams and Wilkins Company.
- Rashki, M., Kharazi-Pakdel, A., Allahyari, H. and Van Alphen, J.J.M. (2009). Interactions among the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales), the parasitoid, *Aphidius matricariae* (Hymenoptera: Braconidae), and its host, *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Biological Control*, 50 (3), 324–328, doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.04.016.
- Ratcliffe, N. A. (1993). Cellular defense responses of insects: unresolved problems. In N.E. Beckage, S.N. Thompson and B.A. Federici (Eds.), *Parasites and Pathogens of Insects*.(pp. 267–304), California: Riverside.
- Ratcliffe, N.A., Rowley, A.F., Fitzgerald, S.W. and Rhodes, C.P. (1985). Invertebrate immunity: basic concepts and recent advances. *International Review of Cytology-a Survey of Cell Biology*, 97, 186–350, doi.org/10.1016/S0074-7696(08)62351-7.
- Rees, D. (2007). *Insects of stored grain*. Australia: Csiro publishing.
- Rhodes, V. L., Thomas, M. B. and Michel, K. (2018). The interplay between dose and immune system activation determines fungal infection outcome in the African malaria mosquito. *Anopheles gambiae*. *Developmental & Comparative Immunology*, 85, 125-133. doi.org/10.1016/j.dci.2018.04.008.
- Rivera, K.G., Díaz, J., Chavarría-díaz, F., Garcia, M., Urb, M., Thorn, R.G., et al. (2012). *Penicillium mallochii* and *P. guanacastense*, two new species isolated from Costa Rican caterpillars. *Mycotaxon*, 119(1), 315-328, doi.org/10.5248/119.315.

- Rivers, D. B., Ruggiero, L. and Hayes, M. (2002). The ectoparasitic wasp *Nosonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) differentially affects cells mediating the immune response of its flesh fly host, *Sarcophaga bullata* Parker (Diptera: Sarcophagidae). *Journal of Insect Physiology*, 48, 1053–1064, doi.org/10.1016/s0022-1910(02)00193-2.
- Rohlf, M. (2008). Host–parasitoid interaction as affected by interkingdom competition. *Oecologia*, 155, 161–168, doi.org/10.1007/s00442-007-0900-2.
- Rosenheim, J.A., Kaya, H.K., Ehler, L.E., Marois, J.J. and Jaffee, B.A. (1995). Intraguild Predation among Biological Control Agents: Theory and Evidence. *Biological Control*, 5, 303–335, doi.org/10.1006/bcon.1995.1038.
- Rosetto, M., Manetti, A.G., Giordano, P.C., Marri, L., Amons, R., Baldari, C.T., et al. (1996). Molecular characterization of ceratotoxin C, a novel antibacterial female-specific peptide of the ceratotoxin family from the medfly *Ceratitis capitata*. *European journal of biochemistry*, 241 (2), 330, doi.org/10.1111/j.1432-1033.1996.00330.x.
- Roy, H., Steinkraus, D.C., Eilinberg, J., Hajek, A.E. and Pell, J.K. (2006). Bizarre interactions and endgames: entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. *Annual Review of Entomology*, 51, 331–357, doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.150941.
- Roy, H.E. and Pell, J.K. (2000). Interactions between entomopathogenic fungi and other natural enemies: Implications for biological control. *Biocontrol Science Technology*, 10:737–752. doi.org/10.1080/09583150020011708.
- Ruiz, M.J. and Marzin, D. (1997). Genotoxicity of six pesticides by *Salmonella* mutagenicity test and SOS chromotest. *Mutation research*, 390, 245–255, doi.org/10.1016/s1383-5718(97)00021-1.
- Rumbos, C.I. and Athanassiou, C.G. (2017). Use of entomopathogenic fungi for the control of stored-product insects: can fungi protect durable commodities. *Journal of Pest Science*, 90, 839–854, doi.org/10.1007/s10340-017-0849-9
- Russell, V.W. and Dunn, P.E. (1996). Antibacterial proteins in the midgut of *Manduca sexta* during metamorphosis. *Journal of Insect Physiology*, 42, 65–71, doi.org/10.1016/0022-1910(95)00083-6.
- Russo, J., Brehelin, M. and Carton, Y. (2001). Haemocyte changes in resistant and susceptible strains of *D. melanogaster* caused by virulent and avirulent strains of

- the parasitic wasp *Leptopilina bouvardi*. *Journal of Insect Physiology*, 47, 167-172, doi.org/10.1016/s0022-1910(00)00102-5.
- Safavi, S.A., Kharrazi, A., Rasouljan, G.R. and Bandani, A.R. (2010). Virulence of Some Isolates of Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana* on *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) Larvae. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 12, 13-21, Erişim adresi: <https://jast.modares.ac.ir/article-23-8866-en.pdf>
- Salem, S.A., Abou-Ela, R.G., Matter, M.M. and El-Kholy, M.Y. (2007). Entomocidal effect of *Brassica napus* extracts on two stored pests, *Sitophilus oryzae* (L.) and *Rhyzopertha dominica* (Fab.) (Coleoptera). *Journal of Applied Sciences Research*, 3(4), 317-322, Erişim adresi: <https://www.aensiweb.com/old/jasr/jasr/2007/317-322.pdf>.
- Salt, G. (1975). The fate of an internal parasitoid, *Nemeritis canescens*, in a variety of insects. *Transactions of the Royal Entomological Society*, 127, 141 – 161, doi.org/10.1111/j.1365-2311.1975.tb00562.x.
- Salt, G. (1976). The hosts of *Nemeritis canescens* a problem in the host specificity of insect parasitoids. *Ecological Entomology*, 1, 63 – 67, doi.org/10.1111/j.1365-2311.1976.tb01205.x.
- Samson, R.A., Hoekstra, E.S. and Oorschot, C.A. (1981). *Introduction To Food-Borne Fungi*. Delft: Centraalbureau Voor Schimmelcultures.
- Sandhu, S.S., Sharma, A.K., Beniwal, V., Goel, G., Batra, P., Kumar, A., et al. (2012). Myco-Biocontrol of Insect Pests: Factors Involved, Mechanism, and Regulation. *Journal of Pathogens*, (9),126819, doi.org/10.1155/2012/126819.
- Sang, T., Crawford, D.J. and Stuessy, T.F. (1995). Documentation of reticulate evolution in peonies (*Paeonia*) using internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA: Implications for biogeography and concerted evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92, 6813-6817, doi.org/10.1073/pnas.92.15.6813.
- Santamarina, M.P., Rosello, J., Llacer, R. and Sanchis, V. (2002). Antagonistic activity of *Penicillium oxalicum* Corrie and Thom, *Penicillium decumbens* Thom and *Trichoderma harzianum* Rifai isolates against fungi, bacteria and insects. *Revista Iberoamericana de Micología*, 19,99–103. Erişim adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12828512/>.
- Santi, L., Beys da Silva, W.O., Berger, M., Guimarães, J.A., Schrank, A. and Vainstein, M.H. (2010). Konidial surface proteins of *Metarhizium anisopliae*: Source of

- activities related with toxic effects, host penetration and pathogenesis. *Toxicon*, 55(4), 874–880, doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.12.012.
- Santos, A.L.Z., Pinto, C.P.G., Fonseca, S.S., de Azevedo, E.B., Polanczyk, R.A. and Rossi G.D. (2022). Immune interactions, risk assessment and compatibility of the endoparasitoid *Cotesia flavipes* parasitizing *Diatraea saccharalis* larvae exposed to two entomopathogenic fungi. *Biological Control*, 166:104836. doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.104836.
- Sapna, M., Peeyush, K. and Anushree, M. (2015). The effect of *Beauveria bassiana* infection on cell mediated and humoral immune response in house fly, *Musca domestica* L. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(19), 15171-15178, doi.org/10.1007/s11356-015-5105-3.
- Sayers, E.W., Bolton, E.E., Brister, J.R., Canese, K., Chan, J., Comeau, D.C., et al. (2022) Database resources of the national center for biotechnology information. *Nucleic Acids Research*, 7;50(D1):D20-D26. doi.org/10.1093/nar/gkab1112.
- Schmidt, O., Theopold, U. and Strand, M. (2001). Innate immunity and its evasion and suppression by Hymenopteran endoparasitoids. *BioEssays*, 23, 344-351, doi.org/10.1002/bies.1049.
- Scieuzo, C., Giglio, F., Rinaldi, R., Lekka, M.E., Cozzolino, F., Monaco, V., Monti, M., Salvia, R. and Falabella, P. (2023). In Vitro Evaluation of the Antibacterial Activity of the Peptide Fractions Extracted from the Hemolymph of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Insects*, 14(5),464. doi.org/10.3390/insects14050464.
- Serebrov, V.V., Gerber, O.N., Malyarchuk, A.A., Martemyanov, V.V., Alekseev, A.A. and Glupov, V.V. (2006). Effect of Entomopathogenic Fungi on Detoxification Enzyme Activity in Greater Wax moth *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera, Pyralidae) and Role of Detoxification Enzymes in Development of Insect resistance to Entomopathogenic Fungi. *Biology Bulletin*, 33(6), 581-586, doi.org/10.1134/S1062359006060082.
- Sewify, G.H. and Hashem, M.Y. (2001). Effect of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin on cellular defence response and oxygen uptake of the wax moth *Galleria mellonella* L. (Lep., Pyralidae). *Journal of Applied Entomology*, 125, 533-536, doi.org/10.1046/j.1439-0418.2001.00564.x.
- Shah, P.A. and Pell, J.K. (2003). Entomopathogenic Fungi as Biological Control Agents. *Applied microbiology and Biotechnology*, 61, 413-423, doi.org/10.1007/s00253-003-1240-8.

- Shakarami, J., Eftekharifar, R., Latifian, M., and Jafari, S. (2015). Insecticidal activity and synergistic effect of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and three botanical compounds against third instar larvae of *Ephesia kuehniella* Zeller. *Research on Crops*, 16(2), 296-303, doi.org/10.5958/2348-7542.2015.00044.3.
- Sharma, A., Sharma, S. and Yadav, P.K. (2023). Entomopathogenic fungi and their relevance in sustainable agriculture: A review. *Cogent Food & Agriculture*, 9(1), 2180857, doi.org/10.1080/23311932.2023.2180857.
- Skinner, M., Parker, B.L. and Kim, J.S. (2014). Role of Entomopathogenic Fungi in Integrated Pest Management. *Integrated Pest Management*, 169–191, doi.org/10.1016/B978-0-12-398529-3.00011-7.
- Soliman, N.A. (2020). Toxicological and biochemical Effects of *Beauveria bassiana* (Bals.) on Peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders) Immature Stage. *Journal of Plants Protection and Pathology*, 11(11), 579– 585, doi.org/10.21608/jppp.2020.133805.
- Staples, J.A. and Milner, R.J. (2000). A laboratory evaluation of the repellency of *Metarhizium anisopliae* conidia to *Coptotermes lacteus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Sociobiology*, 36(1),133–148. Erişim adresi: <https://www.researchgate.net/publication/279910098>.
- Strand, M.R. (2008). The insect cellular immune response. *Insect Sci*, 15, 1–14, doi.org/10.1111/j.1744-7917.2008.00183.x.
- Strasser, H., Vey, A. and Butt, T.M. (2000). Are There any Risks in Using Entomopathogenic Fungi for Pest Control, with Particular Reference to the Bioactive Metabolites of *Metarhizium*, *Tolypocladium* and *Beauveria* species. *Biocontrol Science and Technology*, 10, 717- 735, doi.org/10.1080/09583150020011690.
- Straub, C. S., Finke, D.L. and Snyder, W.E. (2008). Are the conservation of natural enemy biodiversity and biological control compatible goals. *Biological Control*, 45, 225-237, doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.05.013.
- Swelum, A. A., Shafi, M. E., Albaqami, N. M., El-Saadony, M. T., Elsify, A., Abdo, M., et al. (2020). COVID-19 in human, animal, and environment: a review. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 578, doi.org/10.3389/fvets.2020.00578.
- Swofford, D.L. (2002). PAUP*. *Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods)*, version 4.0. Sunderland, Sinauer Associates, doi.org/10.1111/j.0014-3820.2002.tb00191.x

- Talwar, B.H. (2005). *Isolation and Characterisation of Entomopathogenic Fungi and their Effectiveness*, Doctor of Philosophy, Dharward University of Agricultural Sciences, Department of Agricultural Microbiology, College of Agriculture, Dharward-580 005.
- Tamayo-Mejía, F., Tamez-Guerra, P., Guzmán-Franco, A.W. and Gomez-Flores, R. (2015). Can *Beauveria bassiana* Bals. (Vuill) (Ascomycetes: Hypocreales) and *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) be used together for improved biological control of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae)? *Biological Control*. 90:42–48. doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.05.014.
- Teetor-Barch, G.H. and Roberts, D.W. (1983). Entomogenous *Fusarium* species. *Mycopathologia*, 84; 3–16, doi.org/10.1007/BF00436991.
- Teixeira, M.F.N.P., Souza, C.R. and Morais, P.B. (2022). Diversity and enzymatic capabilities of fungi associated with the digestive tract of larval stages of a shredder insect in cerrado and Amazon forest, Brazil. *Brazilian journal of biology*, 11, 82, doi.org/ 10.1590/1519-6984.260039.
- Teke, M.A. (2019). *Bazı bitki uçucu yağlarının Sitophilus granarius L.(Coleoptera: Curculionidae) ve Tribolium castaneum (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) üzerindeki insektisidal ve davranışsal etkileri* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez no 553536).
- Tellez, J.A., Mercado, M.G. and Asaff, A.A. (2009). Mecanismos de Accion y Respuesta en la Relación de Hongos Entomopatógenos e Insectos. *Revista Mexicana de Micología*, 30, 73-80. Erişim adresi: https://www.researchgate.net/publication/237041725_Mecanismos_de_accion_y_respuesta_en_la_relacion_de_hongos_entomopatogenos_e_insectos.
- Tice, T.T., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., et al. (2000). Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines for In Vitro and In Vivo Genetic Toxicology Testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 35, 206 –221, doi.org/10.1002/(sici)1098-2280(2000)35:3<206::aid-em8>3.0.co;2-j
- Todoriki, S., Mahbub Hasan, M.D., Miyanoshita, A. and Imamura, T. (2006). Assessment of electron beam-induced DNA damage in larvae of chestnut weevil, *Curculio sikkimensis* (Heller) (Coleoptera: Curculionidae) using comet assay. *Radiation Physics and Chemistry*, 75(2), 292–296, doi.org/10.1016/j.radphyschem.2005.08.001.

- Torres-Barragán, A., Anaya, A.L., Alatorre, R. and Toriello, C. (2004). Entomopathogenic fungi from El Eden ecological reserve, Quintana Roo, Mexico. *Mycopathologia*, 158, 61-71, doi.org/10.1023/B:MYCO.0000038424.01369.c8
- Trivedi, A., Nayak, N. and Kumar, J.J. (2018). Recent advances and review on use of botanicals from medicinal and aromatic plants in stored grain pest management. *Journal of entomology and zoology studies*, 6, 295-300, Erişim adresi: https://www.researchgate.net/publication/325171619_Recent_advances_and_review_on_use_of_botanicals_from_medicinal_and_aromatic_plants_in_stored_grain_pest_management.
- Tunca, H. (2005). *Cadra cautella Walker (Lepidoptera: Pyralidae)'nın Yumurta-Larva Parazitoiti Chelonus oculator Panzer (Hymenoptera: Braconidae)'un Biyolojisi Ve Davranışı Üzerinde Araştırmalar (Yüksek Lisans Tezi)*. Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) (2020). *Tahıllar ve Diğer Bitkisel Ürünlerin Alan ve Üretim Miktarları*. Ankara: Türkiye İstatistik Kurumu.
- Tüven, A. (2006). Farklı Dozlarda Konağa Verilen Gibberellik Asitin Parazitoit *Apanteles Galleriae* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae) Biyolojisine Etkileri. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir.
- Ueno, T. (1998). Selective host-feeding on parasitized hosts by the parasitoid *Itopectis naranyae* (Hym: Ichneumonidae) and its implication for biological control. *Bulletin of Entomological Research*, 88, 461-466, doi.org/10.1017/S0007485300042206.
- Ursic-Bedoya, R., Buchhop, J., Joy, J. B., Durvasula, R. and Lowenberger, C. (2011). Prolixicin: a novel antimicrobial peptide isolated from *Rhodnius prolixus* with differential activity against bacteria and *Trypanosoma cruzi*. *Insect Molecular Biology*, 20, 775-786. doi.org/10.1111/j.1365-2583.2011.01107.
- Usta, G. (2021). *Xylocoris flavipes Reuter (Heteroptera: Anthocoridae)'in depolanmış ürün zararlılarından Ephestia kuehniella zeller (Lepidoptera: Pyralidae) yumurtalarında biyolojisi ve av tercihleri üzerine araştırmalar*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Iğdır Üniversitesi Tarım Bilimleri Anabilim Dalı, Iğdır.
- Uvell, H. and Engström, Y. (2007). A multilayered defense against infection: combinatorial control of insect immune genes. *Trends in Genetics*, 23, 342-349, doi.org/10.1016/j.tig.2007.05.003.

- Uygun, N. (2013). Doğal Dengenin Korunması ve Biyolojik Mücadelenin Önemi. *Çukurova Üniversitesi Haber Merkezi*, Erişim adresi: <http://habermerkeziarsiv.cu.edu.tr/biyolojikmucadele1.asp>.
- Uygun, N., Ulusoy, M. R. ve Satar, S. (2016). Biyolojik mücadele. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 1(1), 1-14, Erişim adresi: <https://dergipark.org.tr/pub/tbmd/issue/22453/240183>
- Uzuner, S., Güner, B. G., Ayar, Ö. ve Yaman, M. (2017). Biyolojik mücadelede kullanılan entomopatojenlerin arılar üzerine etkileri. *Arıcılık araştırma dergisi*, 9(1), 9-19, Erişim adresi: <https://dergipark.org.tr/pub/aader/issue/33694/376871>
- Velmurugan, P., Lee, Y.H., Venil, C.K., Lakshmanaperumalsamy, P., Chae, J.C. and Oh, B.T. (2010). Effect of light on growth, intracellular and extracellular pigment production by five pigment-producing filamentous fungi in synthetic medium. *Journal of bioscience and bioengineering*, 109, 346–350, doi.org/10.1016/j.jbiosc.2009.10.003.
- Vey, A. Hoagland R. and . Butt T.M. (2001). Toxic metabolites of fungal biocontrol agents. in T.M. Butt, C. Jackson and N. Magan (Eds.), *Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems & Potential* (pp. 311–346), CAB: International.
- Villani, M.G., Krueger, S.R., Schroeder, P.C., Frank. C., Consolie, N.H., Preston-Wilsey, L.M., et al. (1994). Soil application effects of *Metarhizium anisopliae* on Japanese Beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) behavior and survival in turfgrass microcosms. *Environmental Entomology*, 2,502–513, doi.org/10.1093/ee/23.2.502.
- Vilmos, P. and Kurucz, E. (1998). Insect immunity: evolutionary roots of the mammalian innate immune system. *Immunology Letters*, 62(2), 59-66, [doi.org/10.1016/s0165-2478\(98\)00023-6](https://doi.org/10.1016/s0165-2478(98)00023-6).
- Vinson, S.B. and Iwantsch, G.F. (1980). Host Suitability for Insect Parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 25(1), 397-419, doi.org/10.1146/annurev.en.25.010180.002145.
- Visagie, C.M., Renaud, J.B., Burgess, K.M.N., Malloch, D.W., Clark, D., Ketch, L., et al. (2016). Fifteen new species of *Penicillium*. *Persoonia*, 36, 247–280, doi.org/10.3767/003158516X691627.
- Wang, H., Peng, H., Li, W., Cheng, P. and Gong, M. (2021). The Toxins of *Beauveria bassiana* and the Strategies to improve their Virulence to Insects. *Frontiers in Microbiology*, 12, doi.org/10.3389/fmicb.2021.705343.

- Wang, L., Huang, J., You, M., Guan, X. and Liu, B. (2007). Toxicity and feeding deterrence of crude toxin extracts of *Lecanicillium* (*Verticillium lecanii*:Hyphomycetes) against sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Pest Manager Science*, 63, 381-387, doi.org/ 10.1002/ps.1359.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J.W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, T.J. White (eds) *PCR protocols: a guide to methods and applications* (pp.315–322), New York, USA.
- Whiting, P.W. (2005). Genetic studies on the Mediterranean flour-moth, *Ephestia kühniella* Zeller. *Journal of Experimental Zoology*, 28(3), 413–445, doi.org/10.1002/jez.1400280304
- Willey, K.B., Cox, P.D., Wakefield, M., Price, N.R., Moore, R. and Bell, B.A. (2002). The use of entomopathogenic fungi for stored product pest control-The MYCOPEST Project. Integrated Protection of Stored Products. *IOBC Bulletin*, 25(3), 15-19, Erişim adresi: https://www.researchgate.net/publication/287821087_The_use_of_entomopathogenic_fungi_for_stored_product_pest_control_the_MYCOPEST_project_Integrated_Protection_of_Stored_Products.
- Wu, G., Jiang, S. and Miyata, T. (2004). Effects of Synergists on Toxicity of Six Insecticides in Parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Aphididae). *Journal of Economics Entomology*, 97, 2057-2066, doi.org/10.1603/0022-0493-97.6.2057.
- Yamashita, M. ve Iwabuchi, K. (2001). *Bombyx mori* prohemocyte division and differentiation in individual microcultures. *Journal of insect physiology*, 47, 325-331, doi.org/10.1016/s0022-1910(00)00144-x,
- Ye, C., Song, Z.T., Wu, W., Zhang, N.U., Saba, L. Xing, L., et al. (2021). Endocuticle is involved in caste differentiation of the lower termite. *Current Zoology*, 67(5), 489–499, doi.org/10.1093/cz/zoab005.
- Yoon, B., Jackman, J., Valle-González, E. and Cho, N. J. (2018). Antibacterial free fatty acids and monoglycerides: biological activities, experimental testing, and therapeutic applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 19 (4), doi.org/10.3390/ijms19041114.
- Yu, J., Cleveland, T.E., Nierman, W.C. and Bennett, J. W. (2005). *Aspergillus flavus* genomics: gateway to human and animal health, food safety, and crop resistance to

- disease. *Revista iberoamericana de micología*, 22, 194–202, doi.org/10.1016/s1130-1406(05)70043-7.
- Yun, S. H., Lee, S. W., Koo, H. N. and Kim, G. H. (2014). Assessment of electron beam-induced abnormal development and DNA damage in *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Radiation Physics and Chemistry*, 96, 44–49, doi.org/10.1016/j.radphyschem.2013.08.008.
- Zaim, M. and Guillet, P. (2002). Alternative insecticides: an urgent need. *Trends in Parasitology*, 18(4),161–3, doi.org/10.1016/s1471-4922(01)02220-6.
- Zhang, L., Fasoyin, O.E., Molnár, I. and Xu, Y. (2020). Secondary metabolites from hypocrealean entomopathogenic fungi: Novel bioactive compounds. *Natural Product Reports*, 37, 1181–1206, doi.org/10.1039/c001459c.
- Zhang, Z.M., Wu, W.W. and Li, G.K. (2009). Study of the alarming volatile characteristics of *Tessaratomya papillosa* using SPME-GC-MS. *Journal of Chromatographic Science*, 47, 291-295, doi.org/10.1093/chromsci/47.4.291.
- Zibae, A., Bandani, A.R. and Malagoli, D. (2012). Methoxyfenozide and pyriproxyfen alter the cellular immune reactions of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) against *Beauveria bassiana*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 102, 30–37, doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.10.006.
- Zibae, A., Bandani, A.R., Talaei-Hassanlouel, R. and Malagoli, D. (2011). Cellular immune reactions of the sunn pest *Eurygaster integriceps*, to the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* and its secondary metabolites. *Journal of Insect Science*, 11, 1–16, doi.org/ 10.1673/031.011.13801.
- Zimmermann, G. (2007a). Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, 17, 553-596, doi.org/10.1080/095831507013090067.
- Zimmermann, G. (2007b). Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology*, 17, 879-920, doi.org/10.1080/0958315070159396.
- Zupko, K., Sklan, D. and Lensky, Y. (1993). Proteins of the honeybee (*Apis mellifera* L.) body surface and exocrine glands. *Journal of Insect Physiology*, 39, 41-46, doi.org/10.1016/0022-1910(93)90016-K.

EKLER

EKLER

EK A: Mikotoksin analiz sonuçları

Rapor No : 18073060-125.05-	3713 , 17825	
Talep Eden : TÖLİN AŞKUN.		
Adres : BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN-ED BİLİMSEL ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ		
Örnek: FUNGAL METABOLİT (CB-16)		
Parti / Lot No :	Barkod No : 22S0001189	
Örnek Sayısı : 1	Son kullanım Trh :	
Örneğin getiriliş şekli : Kargo ile	Üretim Tarihi :	
Kabul anındaki durumu : Cam Şişe	Enstitü örnek kayıt no : 22-3797/001	
	Kabul tarihi ve saati : 06/12/2022 15:00:00	
	Analiz Tarihi : 07/12/2022 - 15/12/2022	
Şahit numune bilgileri : () Müşteriye geri iade () Şahit numune mevcut (x) Şahit numune alınmamıştır		
Analiz	Sonuç	Yöntem
Aflatoksin (B1, B2, G1, G2)	Tespit edilmedi (µg/kg)	D.05.G116 (İşletme İçerisi Metot-HPLC FLD)
Aflatoksin B1	Tespit edilmedi (µg/kg)	D.05.G116 (İşletme İçerisi Metot-HPLC FLD)
Okratoksin A	Tespit edilmedi (µg/kg)	D.05.G120 (İşletme İçerisi Metot-HPLC FLD)
Açıklamalar: Müşteriden alınan bilgi/veri analiz raporu için kullanıldığında, bu raporun hazırlanmasında müşteri tarafından sağlanan ... bilgileri kullanılmıştır. Laboratuvar müşteri tarafından sağlanan bilgi/veriden sorumlu tutulamaz.		
Sorumlu İmzalar:		
Bu rapor ve sonuçları talepte bulunan kuruluş ve müşterilerince ticaret ve reklam amaçları ile kullanılamaz. Rapor tamamen veya kısmen çoğaltılamaz/yayınlanamaz. Rapor (*) işaretli analizler akredite edilmiştir. İmzasız analiz raporları geçersizdir.		
Bu rapor 2 sayfa olup, 2 asıl (1 asıl müşteri, 1 asıl MAM) olarak hazırlanmıştır.		
P K 21. 41470 GEBZE/KOCAELİ T 0 262 677 20 00 F 0 262 641 23 09 http://mam.su.izmir.gov.tr		Sayfa 2 / 2
K 01.38/Ek 1/01		Microsoft Store

EK B: NCBI veri bankasına yüklenen ITS baz dizisi

CCCGTGTTTATTGTACCTTGTTGCTTCGGCAGGCCCGCCTCACGGCCGCCGGGG
GGCTTCCGCCCCCGGGCCCGCGCCTGCCGGAGACAATCTTGAACGCTGTCTGA
AGAATGCAGTCTGAGCGATTAAGCAAATTAAGTTAAACTTTCAACAACGGAT
CTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAATTAATGTGA
ATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGT
ATTCCGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCCCGGCTTGT
GTGTTGGGTCTTGTCCCCCTCGGGGGACAGGCCCGAAAGGCAGTGGCGGCACC
GTCCGATCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTCACCCGCTCTGTAGGCCCGGCCGG
CGCTT

EK C: Filogenetik ağacı oluştururken kullanılan DNA dizilerinin grafik görüntüsü

