

ALG BAZLI BIYOPESTİSİTLERİN UYGULAMA YÖNTEMLERİNİN BÖCEK MORTALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Oğuzhan DUYAR^{1,a*}, Özgür BAYTUT^{2,b}.



¹ Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Samsun, Türkiye

² Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Samsun, Türkiye

*Corresponding Author:

E-mail: oguzhan.duyar@tarimorman.gov.tr

[Received 02th March 2025; accepted 24th June 2025]

a:  ORCID 0009-0005-4864-0976, b:  ORCID 0000-0002-8424-4672

ÖZET. Tarımsal üretimde zararlı böceklerin neden olduğu kayıplar, kimyasal pestisitlerin yoğun kullanımına rağmen önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Kimyasal ajanların çevresel etkileri ve direnç gelişimi göz önünde bulundurulduğunda, çevre dostu alternatifler olarak biyopestisitlere duyulan ihtiyaç artmaktadır. Bu çalışmada, laboratuvar koşullarında kültüre alınan *Phormidium* sp. ekstraktının kahverengi kokarca [*Halyomorpha halys*] nimfleri üzerindeki insektisidal etkisi araştırılmıştır. Kuru biyokütle, metanolde ekstrakte edilmiş, rotary evaporatörle yoğunlaştırıldıktan sonra %0,1 Tween-20 çözeltisi içinde yeniden çözülerek stok çözelti hazırlanmıştır. Ekstrakt, topikal [üstüne püskürtme] ve besine uygulama olmak üzere iki farklı yöntemle uygulanmış; kontrol grubunda ise yalnızca çözücü kullanılmıştır. Denemeler 25 ± 2 °C sıcaklık, $\%60 \pm 5$ bağıl nem ve 16:8 saat aydınlık:karanlık fotoperiyod koşullarında yürütülmüştür. Mortalitede Abbott düzeltmesi uygulanmış ve veriler Friedman testi ile analiz edilmiştir. Sonuçlar, kontrol grubunda mortalite gözlenmezken, biyopestisit uygulamalarının her iki formunun da Abbott-düzeltilmiş mortaliteyi anlamlı düzeyde artırdığını göstermiştir [topikal: $\%23.13 \pm 15.01$; besine uygulama uygulaması: $\%22.51 \pm 26.08$]. İstatistiksel analizler gruplar arasında anlamlı fark olduğunu ortaya koymuştur [$\chi^2[2]=16.31$, $p<0.001$; $W=0.544$]. Wilcoxon işaretli-sıra testleriyle yapılan post-hoc karşılaştırmalarda, kontrol ile topikal uygulama [$p=0.000488$] ve kontrol ile besine uygulama uygulaması [$p=0.005062$] arasında anlamlı farklılıklar tespit edilirken, iki uygulama yöntemi arasında anlamlı fark saptanmamıştır [$p=0.929$]. Çevresel faktör analizinde, bağıl nem ile besine uygulama uygulaması arasında orta düzeyde pozitif korelasyon belirlenmiştir [$\rho=0.521$, $p=0.047$]. Bu bulgular, *Phormidium* sp. ekstraktının kahverengi kokarca mücadelesinde potansiyel bir biyopestisit ajanı olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Biyopestisit, Mikroalg ekstraktı, Phormidium sp., Halyomorpha halys, İnsektisidal etki*

GİRİŞ

Tarımsal üretimde zararlı böceklerin neden olduğu verim kayıpları, küresel gıda güvenliğinin en önemli tehditlerinden birini oluşturmaktadır. Dünya çapında gıda üretiminin %10–30'u böcek zararlılarından kaynaklanmakta, ayrıca invazif [yabancı bir coğrafyadan] türlere bağlı ekonomik kayıplar yıllık 20 milyar doları aşmaktadır [1,2]. Kimyasal pestisitlerin yoğun kullanımı kısa vadede etkili olsa da, uzun vadede çevre kirliliği, biyolojik çeşitlilik kaybı, kalıntı sorunları ve pestisit direnci gelişimi gibi ciddi sonuçlar ortaya çıkarmıştır [1]. Hemiptera takımı dahil olmak üzere 500'den fazla böcek türü, piretroidler, neonikotinoidler ve organofosforlar gibi yaygın kullanılan insektisitlere karşı direnç kazanmıştır [2,3]. Bu bağlamda, çevre dostu ve ekolojik açıdan sürdürülebilir alternatif zararlı kontrol stratejilerine duyulan ihtiyaç giderek artmaktadır.

Biyopestisitler, EPA tarafından "doğal kaynaklı malzemeler [hayvanlar, bitkiler, bakteriler ve belirli mineraller] türetilen mahsul koruma ajanları" olarak tanımlanmıştır [4]. Biyopestisit üretimi için kaynaklar arasında mikroalgler [özellikle siyanobakteriyumlar] özel bir konuma sahiptir. Mikroalgler, yüksek biyokütle üretimi ve düşük arazi gereksinimi nedeniyle avantajlıdır. [1]. Siyanobakteriyumlar oksijenik fotosentez yapabilen tek prokaryotlar zararlı böcekler, patojenik funguslar ve nematodlara karşı etkinlik gösterebilen fenoloji bileşikleri, terpenoidler, alkaloidler ve peptid toksinleri üretme kapasitesine sahiptir [1,5].

Halyomorpha halys Stål [Hemiptera: Pentatomidae], 2010 yılında Türkiye'ye giriş yapan invazif bir istilacı tür olup, mısır, pamuk, yer fıstığı ve meyvecilik sektöründe ciddi ekonomik zararlara neden olmuştur [2]. Polifag beslenme alışkanlığı nedeniyle [300'den fazla bitki türünü enfekte edebilir] kimyasal pestisit uygulamalarına rağmen yönetimi hızla zorlaşmıştır [2]. Insektisit direncinin genetik, metabolik, davranışsal ve fizyolojik temelleri özellikle metabolik direnç [artan detoksifikasyon enzimleri: esterazlar, glutathione S-transferazlar, sitokom P450 monooksijenazlar] kahverengi kokarca ve benzer zararlıların yönetim başarısızlığının temel nedenini oluşturmaktadır [2].

Phormidium sp.'nin kahverengi kokarcaya karşı biyopestisit potansiyeli, bilginiz dahilinde henüz araştırılmamıştır. Ancak siyanobakteriyumlar arasında *Phormidium* türleri, fenolik bileşikler, yağ asitleri ve peptid toksinleri üretiminin yüksek düzeyi ve ticari kültürünün düşük maliyeti nedeniyle ideal bir biyopestisit kaynağı olarak nitelendirilebilir [1,5]. Bu çalışmanın amacı, laboratuvar koşullarında *Phormidium* sp. ekstraktının *Halyomorpha halys* 3. instar nimfleri üzerindeki insektisidal etkinliğini belirlemek, topikal ve besin uygulaması yöntemlerini karşılaştırmak ve çevresel faktörlerin [sıcaklık, bağıl nem] etkisini değerlendirmektir. Elde edilen sonuçlar, çevre dostu ve sürdürülebilir tarımsal zararlı yönetim araçlarının geliştirilmesine katkı sağlayabilir [1,2].

MATERYAL VE METOD

Alg Materyali ve Ekstrakt Hazırlığı

Phormidium sp. biyokütlesi, laboratuvar koşullarında kültüre alınmış ve sıvı azot ile dondurularak kurutulmuş, ardından ezilerek toz haline getirilmiştir. Kuru biyokütle, %100 metanol içerisinde 20 g/500 mL [1:25 w/v] oranında çözülerek 40 mg/mL stok çözelti hazırlanmıştır [6]. Bu solvent seçimi ve oranı, bitki ve mikroalg ekstraksiyon çalışmalarında fenolik bileşiklerin maksimal kurtarılması için optimize edilmiş parametrelerdir [7,8].

Ekstraksiyon işlemi, yüksek frekanslı ultrasonik titreşim [40 ± 3 kHz, 10 saat] uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon, kavitasyon etkisi aracılığıyla hücre duvarını parçalar ve biyoaktif bileşiklerin diffüzyonunu hızlandırır [6,9]. Elde edilen ekstrakt, kademeli filtrasyon [Whatman No.1 ve 0,45 µm membran] sonrasında rotary evaporatörde 40 °C banyo sıcaklığı ve 200 mbar vakum altında yoğunlaştırılmıştır. Bu sıcaklık seçimi, ısıya duyarlı fenolik bileşiklerin degradasyonundan kaçınmak için kritiktir [7,8].

Metanol tamamen uzaklaştırıldıktan sonra, kuru ekstre %0,1 Tween-20 içeren distile suda çözülerek yeniden 40 mg/mL stok çözelti elde edilmiştir [toplam hacim 500 mL]. Tween-20, emülgatör olarak hidrofobik ekstraktın suda dispersiyonunu sağlayarak formülasyon kararlılığını artırır. Işık ve ısıya duyarlı bileşenlerin bozulmasını önlemek amacıyla tüm işlemler amber cam şişelerde ve karanlık ortamda yürütülmüştür. Deney çözeltileri, uygulama günlerinde taze hazırlanmış ve kullanılana kadar 4 °C'de muhafaza edilmiştir.

UV-Vis Spektrofotometrik Analiz

Toplam fenolik madde miktarı ölçümleri Shimadzu UV-1900i [Shimadzu Corporation, 2018] spektrofotometre [LabSolutions UV-Vis 1.13 yazılımı] ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 1: UV-Vis Spektrofotometrik Ölçümler

Dalga Boyu	Ölçülen Parametre	Absorbansi Değeri	Yorum
750,0 nm	Genel Biyokütle/Proteinler	0,090	proteinin konsantrasyonu
415 nm	Karotenoidler & Klorofil a*	0,210	fotosintez pigmentleri zengin
517,0 nm	Fikobiliproteinler [Phycocyanin]	0,160	karakteristik siyanobakteri pigmenti
595,0 nm	Alofikosiyenin & Diğer Pigmentler	0,122	ek pigment aktivitesi

Deneme Tasarımı ve Uygulamalar

Çalışmada, kahverengi kokarca [*Halyomorpha halys*] nimf [olgunlaşmamış] bireyleri kullanılmıştır. Her deney birimi, 30 nimf içeren bir kap olarak düzenlenmiş; kontrol, topikal uygulama ve besin uygulaması olmak üzere üç grup oluşturulmuştur [30 birey/grup]. Kapların taban alanı 300 cm²'dir. Örneklem büyüklüğü [n=30/grup], entomolojik biyoassay çalışmalarında istatistiksel güç sağlayacak düzeyde belirlenmiştir [2,3].

Tablo 2: Deney Tasarımı

Grup	Uygulanacak İşlem	N [birey]
Kontrol	%0,1 Tween-20 [taşıyıcı çözelti]	30
Topikal	Ekstraktın vücuda püskürtülmesi	30
Besine	Ekstraktın besin içine eklenmesi	30

Topikal uygulama: Her kapta bireylere toplam 10 mL ekstrakt çözeltisi püskürtülmüş, bu miktar 400 mg/kap ekstrakta karşılık gelmiştir [yaklaşık 13,3 mg/birey]. Kontakt toksisite testleri bu doz aralığında standart protokol olarak kullanılır. Uygulama 1., 4. ve 8. günlerde yapılmıştır.

Besin uygulaması: Aynı hacimde ekstrakt çözeltisi [10 mL], böceklerin beslendiği taze bitki materyalinin yüzeyine püskürtülmüştür. Uygulama dozu 1,33 mg/cm² [yaklaşık 1333 µg/cm²] olarak hesaplanmıştır. Sistemik yoldan alınan ekstraktın kümülatif mortalite üretmesi gerektiğinden, uygulama 1., 4. ve 8. günlerde tekrarlanmıştır.

Kontrol grubu: Aynı şartlarda, yalnızca %0,1 Tween-20 çözeltisi uygulanmıştır. Kontrol grubu, taşıyıcı maddenin [Tween-20] böcek mortalitesine katkısını belirlemek için kritiktir [4].

Püskürtme sonrası kaplar, yüzey tamamen kuruyuncaya kadar [yaklaşık 15–20 dakika] bekletilmiş ve ardından standart koşullarda inkübasyona alınmıştır. Kurutma süresi, formülasyonun tam uygulanmasını ve böceklerin ekstrakta maruz kalma düzeyini standardize etmek için gereklidir.

DeneySEL Koşullar

Denemeler, laboratuvar ortamında sabit çevre koşullarında yürütülmüştür [25 ± 2 °C sıcaklık, %60 ± 5 bağıl nem, 16:8 saat aydınlık:karanlık fotoperiyodu] [2,10]. Bu parametreler, Hemiptera türlerinin metabolik ve davranışsal tepkilerini standardize etmek için yaygın olarak kullanılan şartlardır. Deneme süresince böcekler taze fasulye meyvesi ile beslenmiş ve besin materyali iki günde bir yenilenmiştir. Besin tazeleme, ekstraktın bozulmasını ve besinin kalitesini kontrol altında tutmayı sağlar.

Mortalite Değerlendirmesi

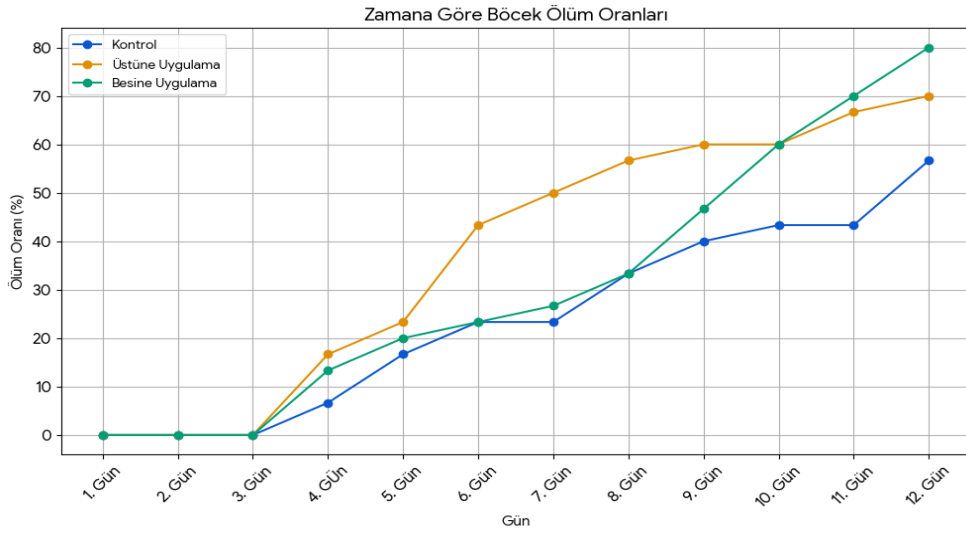
Bireylerin mortalitesi, 15 gün boyunca günlük olarak kaydedilmiştir. Mortalite kriterleri olarak, hareketsiz ve dış uyaranlara tepkisiz bireyler ölü kabul edilmiştir [3]. Veriler, kontrol grubuna göre Abbott formülü ile düzeltilmiştir [11]. Abbott formülü, kontrol grubunda doğal olarak gerçekleşen ölümleri hesaba katarak tedavi grubundaki gerçek mortaliteyi belirler ve entomolojik biyoassaylerde standart bir yöntemdir [2,11]. Negatif Abbott değerleri [tedavi grubunda kontrol grubundan daha düşük mortalite görüldüğünde] 0 olarak kabul edilmiştir, çünkü negatif mortalite biyolojik olarak anlamsızdır.

İstatistiksel Analiz

Mortalite verilerinin normal dağılım göstermediği Shapiro-Wilk [12] testi ile doğrulanmış [p < 0,05] ve bu nedenle nonparametrik testler tercih edilmiştir. Tekrarlı ölçüm yapısı nedeniyle veriler Friedman testi ile analiz edilmiştir [13].

Tablo 3: Deneme Günlerine Göre Uygulama Sayıları

Gün	Tarih	Kontrol [Sayı]	Üstüne Uygulama [Sayı]	Besine Uygulama [Sayı]
1. Gün	08.08.2025	30	30	30
2. Gün	09.08.2025	30	30	30
3. Gün	10.08.2025	30	30	30
4. Gün	11.08.2025	28	25	26
5. Gün	12.08.2025	25	23	24
6. Gün	13.08.2025	23	17	23
7. Gün	14.08.2025	23	15	22
8. Gün	15.08.2025	20	13	20
9. Gün	16.08.2025	18	12	16
10. Gün	17.08.2025	17	12	12
11. Gün	18.08.2025	17	10	9
12. Gün	19.08.2025	13	9	6
13. Gün	20.08.2025	11	7	5
14. Gün	21.08.2025	11	7	4
15. Gün	22.08.2025	8	6	3



Şekil 1: Deney günlerine göre uygulama gruplarında canlı birey sayılarının değişimi

Tablo 4: *Uygulama Yöntemlerine Göre Mortalitenin İstatistiksel Karşılaştırılması*

Uygulama Yöntemi	Mortalite [%]	Standart Sapma [\pm]	İstatistiksel Anlamlılık
Kontrol	0	—	Referans
Topikal	23,1	14,5	$p < 0,001^*$
Besine	22,5	25,2	$p < 0,001^*$

Friedman testinde anlamlı fark tespit edildiğinde, gruplar arası ikili karşılaştırmalar için Wilcoxon işaretli-sıra testi uygulanmış ve tip I hata oranını kontrol altında tutmak amacıyla Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır [14]. Bonferroni düzeltmesi, çoklu karşılaştırmalarda yanlış pozitif bulguların ortaya çıkma riskini azaltır ve istatistiksel güveni artırır [14].

Tedavi etkisinin büyüklüğünü değerlendirmek için Kendall's W katsayısı raporlanmıştır [15]. Kendall's W, 0 ile 1 arasında değer alır; 0.1 altı zayıf, 0.3–0.5 arası orta, 0.5 üstü güçlü etki büyüklüğünü gösterir [Kendall & Smith, 1939]. Mortalitenin çevresel değişkenlerle [sıcaklık ve bağıl nem] ilişkisi Spearman korelasyon analizi ile test edilmiştir [16]. Spearman korelasyonu, parametrik olmayan veriler için uygun bir korelasyon yöntemidir ve değişkenler arasındaki monoton ilişkileri değerlendirir [16].

Tüm istatistiksel analizler R yazılımı [versiyon 4.3.2] [17] ile gerçekleştirilmiştir. Anlamlılık düzeyi $\alpha = 0,05$ olarak belirlenmiştir. Grafikler ve veri görselleştirmeleri için dplyr ve ggplot2 paketi [18,19] kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bulgular

Kontrol grubunda, 15 günlük deneme süresi boyunca herhangi bir mortalite gözlenmemiştir [0/150 birey, n=5 tekrar]. Bu bulgu, kullanılan taşıyıcı maddenin [%0.1 Tween-20] ve böceklerin yaşam koşullarının zararlı olmadığını, gözlenen mortalitenin tamamıyla ekstrakta atfedilebileceğini doğrulamaktadır. Diğer yandan, *Phormidium* sp. ekstraktının hem topikal hem de besin yoluyla uygulandığı gruplarda Abbott-düzeltilmiş mortalite oranları istatistiksel olarak anlamlı biçimde artmıştır.

Topikal uygulama grubunda gözlenen mortalite 29.2 ± 17.3 [n=5; aralık: %10–50] olup, Abbott düzeltmesi sonrasında 23.13 ± 15.01 hesaplanmıştır. Besin uygulaması grubunda ise gözlenen mortalite 28.6 ± 31.2 [n=5; aralık: %5–63] olmasına karşılık, Abbott-düzeltilmiş değer 22.51 ± 26.08 'e düşmüştür. Her iki gruptaki yüksek standart sapma, replika deneyler arasındaki biyolojik değişkenliği [böcek büyüklüğü farklılıkları, ekstraksiyon varyasyonu, mikro-ortam heterojenliği] yansıtmaktadır.

Friedman testi, tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermiştir [$\chi^2[2] = 16.31, p < 0.001$]. Bu sonuç, uygulama stratejisinin [kontrol vs. topikal vs. besin] mortalite düzeylerinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Tedavi etkisinin büyüklüğü Kendall's $W = 0.544$ olarak hesaplanmış olup, bu değer güçlü bir etki büyüklüğünü göstermektedir. Böylelikle, biyopestisit uygulamalarının kahverengi kokarca nimfleri üzerinde sadece istatistiksel olarak değil, pratik açıdan da anlamlı bir toksik etkisi bulunmaktadır.

Sonuçlar, kontrol grubu ile topikal uygulama arasında [$p = 0.000488$] ve kontrol grubu ile besin uygulaması arasında [$p = 0.005062$] anlamlı farklar belirlenmiştir. Tersine, topikal ve besin uygulamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir [$p = 0.929$]. Bu bulgu, iki uygulama yönteminin mortalite bakımından benzer düzeyde etkili olduğunu, dolayısıyla her iki stratejinin potansiyel olarak tarımsal uygulamada tercih edilebileceğini göstermektedir.

Mann-Kendall trend analizi uygulanarak, deneme süresi boyunca mortalitenin zamansal eğilimi değerlendirilmiştir. Besine uygulama grubunda, mortalitenin 15 gün boyunca istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı tespit edilmiştir [$Z = 3.29, p = 0.001$]. Bu bulgu, besine uygulanan ekstraktın kümülatif veya Sistemik bir etki oluşturduğunu, zamanla böcek biyokütlesinde artan hasar yarattığını göstermektedir. Topikal uygulama grubunda ise anlamlı bir trend gözlenmemiştir [$Z = 1.51, p = 0.131$]. Bu fark, iki uygulama mekanizmasının farklı etki profillerine işaret etmektedir: topikal uygulama akut/kontakt etkisi, besin uygulaması ise daha yavaş ve kümülatif Sistemik etkisi ile karakterize olabilir.

Spearman korelasyon analizi uygulanarak, deneysel ortam koşullarının [sıcaklık, bağıl nem] mortalite oranları ile ilişkisi incelenmiştir. Sıcaklık ile mortalite arasında anlamlı bir korelasyon olmadığı belirlenmiştir [topikal: $\rho = -0.217, p = 0.437$; besin uygulaması: $\rho = -0.272, p = 0.326$]. Buna karşılık, bağıl nem ile besin uygulaması grubunda orta düzeyde pozitif ve istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon tespit edilmiştir [$\rho = 0.521, p = 0.047$]. Bu bulgu, yüksek nem koşullarında ekstraktın besine adsorbsiyonunun arttığını veya böceklerin nem-zengin ortamda daha fazla beslendiğini göstermektedir; konuya dair mekanistik açıklama gelecek çalışmalarda araştırılmalıdır.

Kutu grafiği analizi, kontrol grubunun %0 mortalite düzeyinde sabit kaldığını, biyopestisit uygulama gruplarında ise mortalitenin dağılım aralığının belirgin şekilde genişlediğini göstermiştir. Bu geniş dağılım, deneme birimlerindeki heterojenlikleri [bireysel böcek hassasiyeti farklılıkları, yerel ekstraksiyon varyasyonları] yansıtmaktadır. Zaman serisi grafiği incelendiğinde, kontrol grubunun sabit kalmasına karşılık, özellikle besin uygulaması grubunda deneme süresi ilerledikçe mortalite eğiliminin belirgin şekilde arttığı görülmüştür. Bu gözlem, Mann-Kendall trend analizi sonuçlarını ve besine uygulanan ekstraktın kümülatif etkisini desteklemektedir.

Tartışma

Mevcut çalışmada, *Phormidium* sp. ekstraktının kahverengi kokarca [*Halyomorpha halys*] nimfleri üzerinde her iki uygulama yöntemiyle [topikal ve besine uygulama] anlamlı toksik etki gösterdiği belirlenmiştir [%23.1 ve %22.5 mortalite]. Bu

bulgu, siyanobakteriyum kaynaklı biyopestisitlerin kahverengi kokarca mücadelesinde potansiyel bir araç olabileceğini işaret etmektedir. Benzer bir çalışmada [20], *Prunus laurocerasus* yaprak ve tohum ekstraktlarının kahverengi kokarca nimfleri üzerinde 96 saat sonunda %21.5 ile %100 arasında değişen mortalite oranları kaydederek, bitki kaynaklı ekstraktların bu zararlıya karşı etkili olabileceğini göstermiştir. Özellikle N3 instar nimflerinde 20 mL/L dozda %100 mortalite elde edilmesi dikkate değerdir. Siyanobakteriyumların toksik potansiyeli konusunda temel bir çalışma [21] araştırmasında, beş farklı tatlısu *Phormidium* türünün [*Ph. bijugatum*, *Ph. molle*, *Ph. papyraceum*, *Ph. uncinatum*, *Ph. autumnale*] biyoaktif bileşenler ürettiği ve fare modelinde *Ph. bijugatum* ekstraktının %100 mortaliteye neden olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlar, *Phormidium* cinsinin yüksek toksik potansiyele sahip olduğunu doğrulamaktadır. Mevcut çalışmada elde edilen %23 civarındaki mortalite oranları, 15 günlük deney süresine ve laboratuvar koşullarına bağlı olarak literatürdeki bazı çalışmalardan daha düşük görünmektedir, ancak doz optimizasyonu ve uygulama sıklığı çalışmaları yapılarak artırılabilir bir potansiyel taşımaktadır.

İki farklı uygulama yönteminin [topikal ve besine] benzer düzeyde mortalite oluşturması [$p=0.929$], biyoaktif bileşenlerin hem kontakt hem de Sistemik yollardan etkili olabileceğini göstermektedir. Bizim çalışmamızda her iki uygulama yönteminin benzer sonuç vermesi, *Phormidium* ekstraktının çok yönlü etki mekanizmasına işaret etmektedir. Teneva [21] *Phormidium* ekstraktlarının farelerde nörotoksik ve hepatotoksik semptomlar gösterdiğini, ancak ELISA ile belirlenen düşük düzeydeki saksitoksin ve mikrosistin konsantrasyonlarının toksisitenin tamamını açıklayamadığını bildirmişlerdir. Bu durum, *Phormidium* türlerinde henüz tanımlanmamış biyoaktif bileşenlerin varlığına işaret etmektedir.

Besine uygulama grubunda mortalitenin zamanla anlamlı şekilde arttığı [Mann-Kendall: $Z=3.29$, $p=0.001$], topikal uygulamada ise anlamlı bir trend olmadığı [$Z=1.51$, $p=0.131$] tespit edilmiştir. Bu sonuç, besine uygulanan ekstraktın böcek sindirim sistemi üzerinde kümülatif bir etki oluşturduğunu göstermektedir. Teneva [21] çalışmasında, *Phormidium* ekstraktlarının memeli hücre kültürlerinde 24 saat sonunda %46-82 sitotoksosite gösterdiği, ancak 4 saat sonunda daha düşük toksik etki gözlemlendiği bildirilmiştir. Benzer şekilde, Göktürk [20] *P. laurocerasus* ekstraktlarının 24, 48, 72 ve 96. saatlerdeki mortalite oranlarının zamanla anlamlı şekilde arttığını kaydetmiş ve bu artışın artan doz ve zamanla birlikte gözlemlendiğini vurgulamıştır. Dolayısıyla, mevcut çalışmada besine uygulama grubunda görülen kümülatif mortalite artışı, *Phormidium* sp. ekstraktının biyoaktif bileşenlerinin gastrointestinal sistemde birikimi ve toksik etkisinin zamana bağlı olarak güçlenmesi ile açıklanabilir.

Topikal uygulamada trend olmaması, akut kontakt etkisinin hızlı ancak kümülatif olmayan yapısını işaret etmektedir. Göktürk [20] çalışmasında, topikal uygulamanın erginlerde nimflere göre daha az etkili olduğunu gözlemlemiş ve bunu hedef organizmanın fizyolojik farklılıklarına bağlamıştır. Bizim çalışmamızda topikal uygulamanın kümülatif etki göstermemesi, biyoaktif bileşenlerin kutikula bariyerinden penetrasyonunun sınırlı olabileceğini veya başlangıçta etkili olan kontakt toksinlerin hızla

inaktive olduğunu düşündürmektedir. Bu iki mekanizmanın farklılığı, tarımsal uygulamalarda uygulama stratejisi seçiminde esneklik sağlamaktadır.

Mevcut çalışmanın laboratuvar [in vitro] bulguları umut verici olsa da, tarla uygulamasına doğrudan genelleme yapılamaz. Bock [22] pekan ağaçlarında laboratuvar ve tarla koşullarında ilaçlama etkinliğini karşılaştırdıkları çalışmada, laboratuvar da yüksek kaplama gösteren uygulamaların tarlada farklı performans sergilediğini ve yükseklik, hava akımı ve spreyn yoğunluğunun tarla koşullarında etkinliği azalttığını bildirmişlerdir. Bu nedenle, *Phormidium* sp. ekstraktının pratik kullanılabilirliğini değerlendirmek için saha [in vivo] deneyleri ve kontrollü tarla çalışmaları şarttır.

Siyanobakteriyum ekstraktlarının biyopestisit olarak kullanımında aktif bileşenlerin tanımlanması ve standardizasyonu kritik önem taşımaktadır. Teneva [21] HPLC analizleri ile *Phormidium* türlerinin farklı madde profillerine sahip olduğunu ve anatoksin-a'ya yakın retansiyon zamanlarında pikler tespit edildiğini bildirmiştir. ELISA analizleri düşük düzeyde saksitoksinler [0.017-0.033 ppb] ve mikrosistinler [0.024-0.062 ppb] saptamış, ancak bu toksinlerin gözlenen yüksek mortaliteyi tek başına açıklayamayacağını göstermiştir. Bu durum, *Phormidium* türlerinde henüz tanımlanmamış diğer toksik bileşenlerin varlığına işaret etmektedir. Mevcut çalışmada UV-Vis spektrofotometrik analizle fenolik maddeler, karotenoidler ve fikobiliproteinler tespit edilmiş olsa da, insektisidal aktiviteden sorumlu spesifik bileşiklerin tanımlanması için HPLC veya LC-MS analizleri gereklidir. Bu analizler, formülasyon standardizasyonu ve ürün geliştirme açısından hayati öneme sahiptir.

SONUÇ

Gelecek araştırmalar, *Phormidium* sp. ekstraktının kimyasal pestisitler veya diğer biyokontrol ajanları [predatörler, parazitoitler] ile sinerji potansiyelini araştırmalıdır. Göktürk [20] çalışmasında, *P. laurocerasus* ekstraktlarının entegre zararlı yönetimi [IPM] programlarında diğer kontrol yöntemleriyle birlikte kullanılabileceğini öne sürmüştür. Bock [22] pekan ağaçlarında ilaçlama stratejilerini değerlendirdikleri çalışmada, uygulama hacminin ve hızının etkileşimli etkilerinin önemli olduğunu ve farklı kanopi yüksekliklerinde farklı stratejilerin gerekli olabileceğini bildirmişlerdir. Dolayısıyla, *Phormidium* ekstraktının düşük dozlarda kimyasal insektisitlerle kombine edilmesi veya biyokontrol ajanları ile entegre kullanımı, hem etkinliği artırabilir hem de kimyasal kullanımını azaltarak çevresel riskleri minimize edebilir.

Sonuç olarak, bu çalışma *Phormidium* sp. ekstraktının *Halyomorpha halys* nimflerine karşı insektisidal potansiyelini ortaya koymuş ve mikroalg bazlı biyopestisitlerin sürdürülebilir tarımsal zararlı yönetiminde rol oynayabileceğini göstermiştir. Teneva [21] *Phormidium* cinsinin toksijenik olduğunu ve henüz tanımlanmamış biyoaktif bileşenler içerdiğini bildirmiştir. Göktürk [20] ise bitki kaynaklı ekstraktların *H. halys* kontrolünde iyi bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Bock [22] tarla koşullarının laboratuvar sonuçlarından farklı olabileceğini vurgulamıştır. Bu üç temel bulgu ışığında, laboratuvar bulgularının tarla koşullarına genellenebilmesi için kapsamlı saha deneyleri, hedef dışı etki değerlendirmeleri, maliyet-fayda analizleri ve

aktif bileşenlerin tanımlanması gerekmektedir. *Phormidium* gibi siyanobakteriyumların düşük maliyetli ve çevre dostu üretim potansiyeli, entegre zararlı yönetim programlarında kimyasal pestisitlere alternatif veya tamamlayıcı bir seçenek olarak değerlendirilmelidir.

Teşekkür. Bu çalışmanın gerçekleştirilmesi için gerekli olan teknik altyapı desteğini sağlayan ve materyal temininde katkıda bulunan Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'ne (TAGEM) teşekkürlerini sunarım.

KAYNAKLAR

- [1] Costa, J. A. V., Freitas, B. C. B., Cruz, C. G., Silveira, J., Morais, M. G. (2019): Potential of microalgae as biopesticides to contribute to sustainable agriculture and environmental development. *J Environ Sci Health Part B* 54(5): 366-75.
- [2] Siddiqui, J. A., Fan, R., Naz, H., Bamisile, B. S., Hafeez, M., Ghani, M. I., vd. (2023): Insights into insecticide-resistance mechanisms in invasive species: Challenges and control strategies. *Front Physiol* 13: 1112278.
- [3] Hopkinson, J., Balzer, J., Fang, C., Walsh, T. (2023): Insecticide resistance management of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Australian cotton – pyriproxyfen, spirotetramat and buprofezin. *Pest Manag Sci* 79(5): 1829-39.
- [4] Villaverde, J. J., Sevilla-Morán, B., Sandín-España, P., López-Goti, C., Alonso-Prados, J. L. (2014): Biopesticides in the framework of the European Pesticide Regulation (EC) No. 1107/2009. *Pest Manag Sci* 70(1): 2-5.
- [5] Favas, R., Morone, J., Martins, R., Vasconcelos, V., Lopes, G. (2021): Cyanobacteria and microalgae bioactive compounds in skin-ageing: potential to restore extracellular matrix filling and overcome hyperpigmentation. *J Enzyme Inhib Med Chem* 36(1): 1829-38.
- [6] Shen, L., Pang, S., Zhong, M., Sun, Y., Qayum, A., Liu, Y., vd. (2023): A comprehensive review of ultrasonic assisted extraction (UAE) for bioactive components: Principles, advantages, equipment, and combined technologies. *Ultrason Sonochem* 101: 106646.
- [7] Chaves, J. O., De Souza, M. C., Da Silva, L. C., Lachos-Perez, D., Torres-Mayanga, P. C., Machado, A. P. D. F., vd. (2020): Extraction of Flavonoids From Natural Sources Using Modern Techniques. *Front Chem* 8: 507887.
- [8] Sabaragamuwa, R., Perera, C. O. (2023): Total Triterpenes, Polyphenols, Flavonoids, and Antioxidant Activity of Bioactive Phytochemicals of *Centella asiatica* by Different Extraction Techniques. *Foods* 12(21): 3972.
- [9] Liu, Y., Liu, X., Cui, Y., Yuan, W. (2022): Ultrasound for microalgal cell disruption and product extraction: A review. *Ultrason Sonochem* 87: 106054.
- [10] Chamizo, S., Adessi, A., Torzillo, G., De Philippis, R. (2020): Exopolysaccharide Features Influence Growth Success in Biocrust-forming Cyanobacteria, Moving From Liquid Culture to Sand Microcosms. *Front Microbiol* 11: 568224.
- [11] Abbott, W. S. (1925): A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. *J Econ Entomol* 18(2): 265-7.

- [12] Shapiro, S. S., Wilk, M. B. (1965): An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52(3-4): 591-611.
- [13] Friedman, M. (1937): The Use of Ranks to Avoid the Assumption of Normality Implicit in the Analysis of Variance. *J Am Stat Assoc* 32(200): 675-701.
- [14] Dunn, O. J. (1961): Multiple Comparisons among Means. *J Am Stat Assoc* 56(293): 52-64.
- [15] Kendall, M. G., Smith, B. B. (1939): The Problem of m Rankings. *Ann Math Stat* 10(3): 275-87.
- [16] Spearman, C. (1904): "General Intelligence," Objectively Determined and Measured. *Am J Psychol* 15(2): 201.
- [17] R Core Team. (2023): R: A language and environment for statistical computing (Version 4.3.2) [Computer software]. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- [18] Wickham, H. (2016): *ggplot2*. Cham: Springer International Publishing.
- [19] Wickham, H., François, R., Henry, L., Müller, K., Vaughan, D. (2023): *dplyr: A grammar of data manipulation (R package version 1.1.2)* [Computer software].
- [20] Göktürk, T. (2024): Insecticidal effectiveness of *Prunus laurocerasus* leaf and seed extracts on *Halyomorpha halys* nymphs and adults. *Turk J Biodivers* 7(2): 54-62.
- [21] Teneva, I., Dzhambazov, B., Koleva, L., Mladenov, R., Schirmer, K. (2005): Toxic potential of five freshwater *Phormidium* species (Cyanoprokaryota). *Toxicon* 45(6): 711-25.
- [22] Bock, C. H., Cottrell, T. E., Hotchkiss, M. W. (2023): Spray coverage profiles from pecan air-blast sprayers, with a radial air-flow and a volute-generated focused air-flow, as affected by forward speed and application volume. *Crop Prot* 168: 106234.