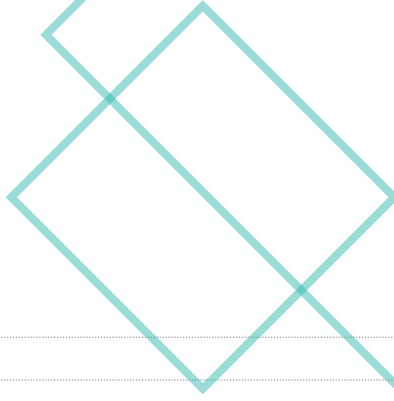




TARIM ZARARLILARIYLA MÜCADELEDE BİYOLOJİK VE BİYOTEKNOLOJİK YAKLAŞIMLAR



Dr. Meltem Ulusoy ve Dr. Adil Denizli

Hacettepe Üniversitesi, Kimya Bölümü, Beytepe, Ankara

2050 YILINDA YAKLAŞIK 10 MİLYARA ULAŞACAĞI TAHMİN EDİLEN DÜNYA NÜFUSUNUN YETERLİ MİKTARDA GIDAYA ERİŞEBİLMESİ İÇİN TARIMSAL ÜRETİMİN %70 ORANINDA ARTIRILMASI GEREKMEKTEDİR (PARDEY, 2014; VOS VE BELLÙ, 2019).

BU HEDEFE ULAŞMANIN ÖNÜNDEKİ ENGELLER ARASINDA İKLİM DEĞİŞİKLİĞİ, KENTLEŞME VE SANAYİNİN BASKILARI İLE TARIM ARAZİLERİNİN AZALMASI, TARIM ALANLARINDAKİ KİRLİLİK ÖNCELİKLE AKLA GELİRKEN, BUNLAR KADAR ÖNEMLİ BİR BAŞKA KONU DA TARIM ZARARLILARININ EKİLİ ALANLARDA, TARLADA, BAHÇEDE BİTKİ ÜZERİNDE SEBEP OLDUKLARI HASAR VE KAYIPLARDIR.

Dünya genelinde tarımsal üretimin yaklaşık %40'ı böcekler, yabancı otlar, bitki hastalıkları ve diğer zararlı organizmalar nedeniyle ürün daha tarlada ve bahçede iken kaybedilmektedir (FAO, 2022; Kashyap, 2026). Bu kayıplar içerisinde böcekler tarafından verilen zarar en önemli paya sahiptir. Dünya genelinde 10.000'den fazla böcek türünün tarım ürünlerine zarar verdiği bilinmektedir. Bu zararlılar yıllık tarımsal üretimin yaklaşık %18 ile %26'sı arasında bir kayba neden olmaktadır (Jampilek ve Kráľová, 2022). Tek ürün, monokültür tarım yapılan yerlerde ve küçük ölçekli işletmelerde bu oran zaman zaman %60 ile %70'e çıkabilmektedir.

Günümüzde tarım zararlıları ile mücadelede hâlâ yaygın olarak kimyasal pestisitler kullanılmaktadır. 2000 ile 2023 yılları arasında dünya genelinde pestisit kullanımı %71 oranında artarak 3,73 milyon tona ulaşmıştır. Türkiye'ye bakıldığında, aynı dönemde pestisit kullanımının %72 artarak 33.471 tondan 57.576 tona yükseldiği görülmektedir (FAO, 2025a). Bu büyümenin arkasında tarım arazilerinin genişlemesi değil, birim alanda kullanılan pestisit miktarının artması yatmaktadır. Aynı topraktan daha fazla üretme baskısı beraberinde daha yoğun kimyasal kullanımını getirmektedir (FAO, 2025b; Basu, 2024). Uzun süreli ve yoğun pestisit kullanımı çeşitli çevresel ve biyolojik sorunlara yol açmaktadır. Bunların başında böceklerin pestisitlere karşı direnç geliştirmesi gelmektedir. Günümüzde kimyasal pestisitlere karşı direnç geliştirdiği bildirilen zararlı tür sayısı en az 954'e ulaşmış olup, bunların 546'sını böcekler ve diğer artropodlar (örneğin akarlar) oluşturmaktadır (Jampilek ve Kráľová, 2022). İkinci olarak, pestisitlerin insan sağlığı üzerindeki etkileri göz ardı edilemez. Ürünlerdeki pestisit kalıntıları akut zehirlenmelerin yanı sıra, uzun süreli maruziyette kanser ve nörolojik bozukluklar gibi kronik hastalıklarla ilişkilendirilmektedir. Üçüncü olarak, ekosistemin bütünlüğü bozulmaktadır. Kimyasal pestisitler arı kolonilerine, doğal avcılara ve toprak mikrobiyomuna doğrudan zarar vermenin yanı sıra, toprağa, havaya ve suya karışarak besin zincirine girmekte, biyobirikim ve biyobü-



yütme yoluyla bu zararı zaman içinde daha da yaygınlaştırmaktadır (Kashyap, 2026).

Bu durum, tarımsal üretimde kimyasal mücadelenin tek başına sürdürülebilir bir çözüm sunamayacağını açıkça ortaya koymakta ve biyolojik ile biyoteknolojik alternatiflere olan gereksinimi artırmaktadır. Bu derleme, tarım zararlılarıyla mücadelede giderek önem kazanan dört temel yaklaşımı ele almaktadır: biyolojik mücadele ajanları, biyopestisitler (mikrobiyal, biyokimyasal ve bitkiye entegre koruyucular), nano-biyopestisitler, RNA interferansı (RNAi) ile CRISPR/Cas9 gen düzenleme teknolojileri. Bu alandaki gelişmelerin bütüncül bir perspektifle değerlendirilmesi, sürdürülebilir tarım ve bitki korumanın bilimsel temellerinin güçlendirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

ENTEĞRE ZARARLI YÖNETİMİ: YÖNTEMLERİ BİR ARAYA GETİRMEK

Entegre Zararlı Yönetimi (Integrated Pest Management, IPM), farklı mücadele yöntemlerini bütüncül bir yaklaşımla bir araya getiren bir zararlı yönetim stratejisidir. Bu strateji, ekolojik ve ekonomik açıdan sürdürülebilir olmayı, toplum sağlığını ve çiftçi refahını gözetmeyi, biyolojik çeşitliliği korumayı hedefler. Temel amacı, zararlı popülasyonlarını tamamen ortadan kaldırmak yerine ekonomik zarar eşiğinin altında tutmaktır. Bu doğrultuda kültürel, mekanik, biyolojik ve kimyasal mücadele yöntem-

leri belirli bir öncelik sırasına göre birlikte kullanılır. Kimyasal pestisitlere ise yalnızca diğer yöntemlerin yeterli olmadığı durumlarda son seçenek olarak başvurulur.

Bu yaklaşım içerisinde biyolojik mücadele ajanları ve biyopestisitler, kendilerine özgü etki mekanizmaları sayesinde zararlı popülasyonlarında direnç gelişimini yavaşlatmakta, kimyasal pestisit kullanımını ve buna bağlı kalıntıları azaltmaktadır. Özellikle tozlayıcılar olmak üzere doğal düşmanlar ve diğer hedef dışı organizmalar üzerinde düşük risk oluşturdukları için çevreyi ve ekolojik dengeyi korumaktadırlar. Sürdürülebilir tarımda biyopestisitlerin IPM programlarına entegre edilmesi, ürün verimi ve kalitesinin artırılmasına katkı sağlayabilmektedir (Marrone, 2025; Mawcha, 2025).

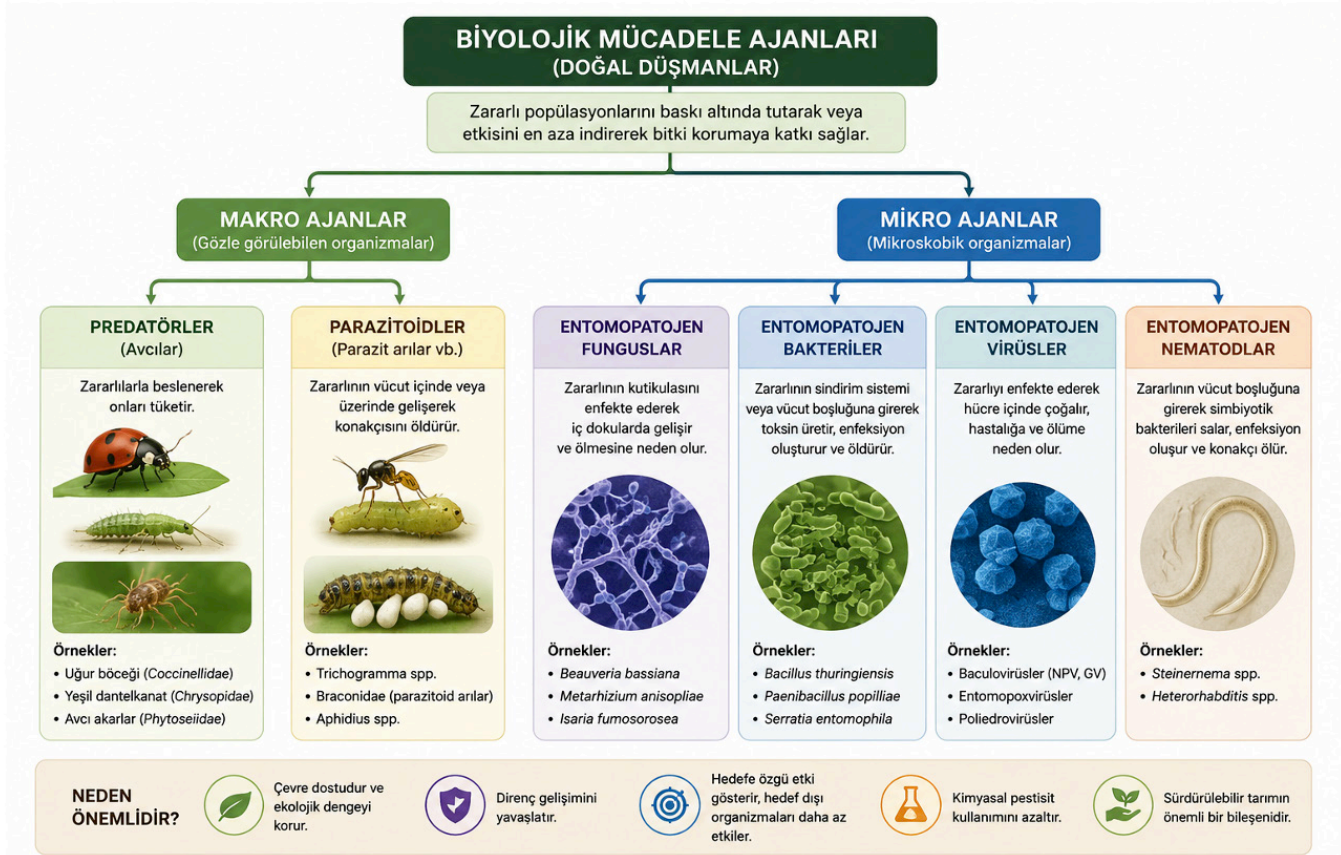
BİYOLOJİK MÜCADELE: DOĞANIN KENDİ DENGE MEKANİZMASI

Zararlı böcek popülasyonları baskı altında tutmak ya da etkisini en aza indirmek için doğal düşmanlar kullanılır (Jha, 2025). Biyolojik mücadele ajanları, kimyasal pestisitlerden farklı olarak alana yerleşip kendi kendini sürdüren popülasyonlar oluşturabilir. Kullanılan stratejiye bağlı olarak tek bir uygulama yeterli olabileceği gibi, belirli aralıklarla tekrarlanan uygulamalarla da uzun süreli kontrol sağlanabilir (Jha, 2025).

Biyolojik mücadelenin tarihi 1700'lü yıllara uzanmaktadır. Bilimsel literatüre "biyolojik mücadele" kavramı olarak 1919 yılında Smith tarafından kazandırılmıştır. İstilacı yabancı otlar, sivrisinekler, böcek zararlı-

ları, bitki hastalıkları ve kemirgenlere karşı uygulanmıştır (Kashyap, 2026). Biyolojik mücadelenin bilinen en eski uygulamalarından biri, yaklaşık 1.700 yıl önce Çin'de narenciye bahçelerinde zararlı böceklerin kontrolü amacıyla avcı dokumacı karıncaların (*Oecophylla smaragdina*) kullanılmasıdır (Hyder, 2025).

Biyolojik mücadele ajanları, makro ajanlar (predatörler ve parazitoidler) ile mikro ajanlar (entomopatojen mikroorganizmalar) olmak üzere iki ana grupta incelenir. Makro ajanlardan predatörler avlanma, parazitoidler ise parazitizm yoluyla zararlı popülasyonlarını baskılarken, mikro ajanlar konak böcekte enfeksiyon oluşturma ya da kaynak rekabeti gibi farklı mekanizmalarla etkili olur (Şekil 1) (Akhtar, 2025).



Şekil 1. Biyolojik mücadele ajanlarının sınıflandırılması. Şekil, yapay zekâ destekli görsel üretim araçları kullanılarak yazar tarafından hazırlanmıştır.

Predatörler

Predatörler, zararlı böceklerle beslenerek onların popülasyonlarını doğrudan azaltan organizmalardır. Uğur böcekleri (Coccinellidae) ve yeşil aslan sinekleri (Chrysopidae) başta olmak üzere çok sayıda predatör böcek, tarımsal zararlı yönetiminde etkin biçimde kullanılmaktadır. Predatörler, farklı zararlı böcek türleriyle beslenerek popülasyonların baskılanmasına katkı sağlamaktadır. Özellikle uğurböcekleri yaprak bitleri, beyaz sinekler, unlu bitler ve kabuklu bitler gibi yumuşak vücutlu zararlıların etkili avcıları arasında yer almaktadır. (Chellappan ve Ranjith, 2023).

Farklı ülkelerde ve iklim koşullarında yürütülen çalışmaların birlikte değerlendirildiği bir araştırmada, predatörlerin zararlı popülasyonlarını anlamlı ölçüde baskılayarak, verim artışına sebep olduğu saptanmıştır (Boldorini, 2024). Omurgalı predatörler de bu süreçte önemli bir rol üstlenmektedir. Kuşlar ve yarasalar çeşitli tarım zararlılarını avlayarak popülasyon baskısı oluşturmaktadır (Tadesse, 2023).

Parazitoidler

Parazitoidler, yaşam döngülerini bir konak böcek üzerinde ya da içinde tamamlayan ve sonunda konağın ölümüne neden olan organizmalardır. Başta Braconidae ve Trichogrammatidae familyalarını kapsayan zarganatlılar (Hymenoptera) ile Tachinidae familyasından sinekler (Diptera), tarımsal zararlı yönetiminde en yaygın kullanılan parazitoid grupları arasındadır (Akhtar, 2025). Bu gruplar içinde Trichogramma türleri özellikle öne çıkmaktadır. Trichogramma türleri, mısır, pamuk ve çeşitli sebzelerde zararlı böceklerin yumurtalarının içine kendi yumurtalarını bırakır. İçeride gelişen parazitoid larvası, yumurtanın içeriğiyle beslenerek konak embriyosunun gelişimini durdurur ve zararlı birey daha yumurta aşamasındayken ortadan kalkar. Bu sayede Trichogramma, zararlı popülasyonlarını erken evrede baskılayan etkili bir biyolojik mücadele aracıdır.

Entomopatojen mikroorganizmalar

Mikro ajanlar içinde entomopatojen mikroorganizmalar önemli bir yer tutmaktadır. Funguslar, bakteriler, virüsler ve nematodlar olmak üzere dört temel kategoriye kapsayan bu grupta *Metarhizium anisopliae* ve *Beauveria bassiana* gibi entomopatojen fungus sporları, böcek kutikulasına tutunmakta ve dış iskeletten içeriye geçerek enfeksiyon başlatmakta, çoğalarak sekonder metabolitler üretmekte ve böceğin ölümüne yol açmaktadır (Tandon, 2024). Entomopatojen bakteriler arasında en yaygın kullanılanı *Bacillus thuringiensis* (Bt)'dir. Bt, belirli böcek gruplarına özgü toksik proteinler (Cry toksinleri) üreterek sindirim sistemi yoluyla zararlıyı öldürmektedir (Vishwakarma, 2026). Entomopatojen virüsler arasında baculovirüsler, özellikle nükleopolihedrovirüsler (NPV), Lepidoptera takımındaki zararlılara karşı yaygın olarak kullanılan biyolojik mücadele etmenleri arasında yer almaktadır. Ağız yoluyla alınan bu virüsler, konak böcek içerisinde çoğalarak ölümüne neden olmaktadır.

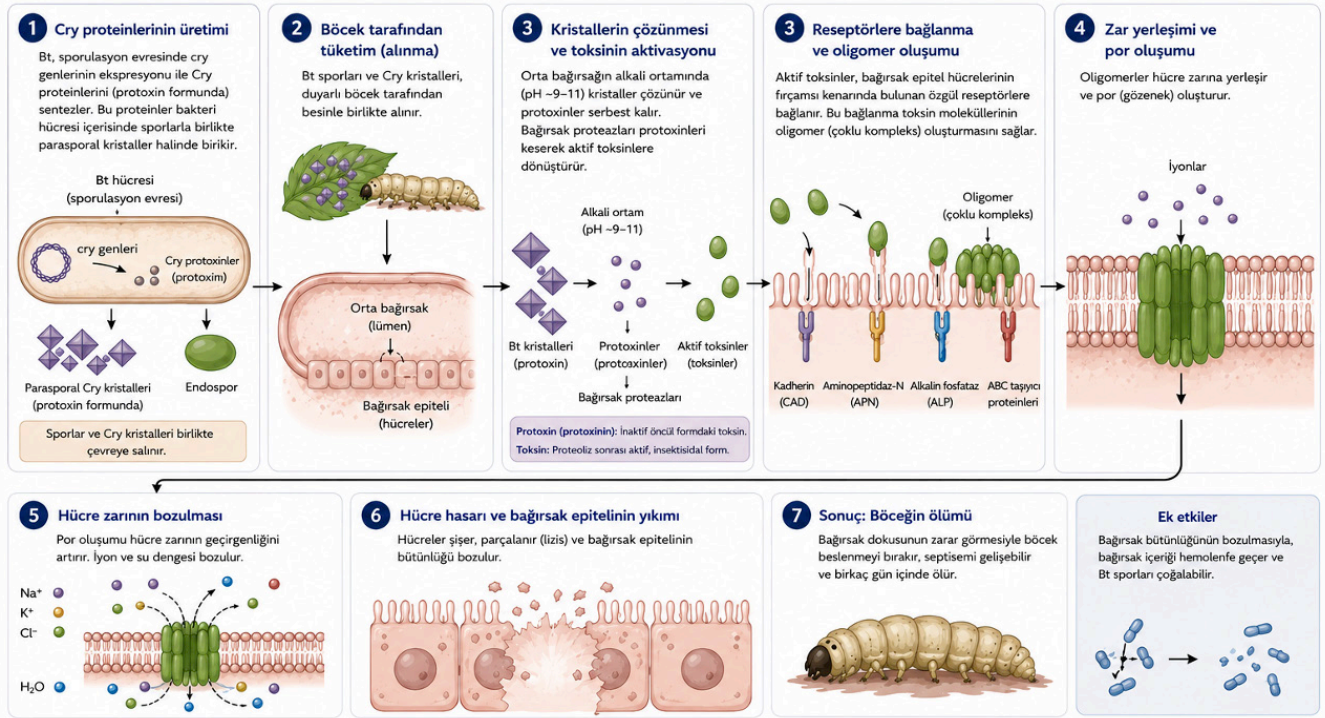
Entomopatojen nematodlar ise Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarına ait olup yaşam döngülerini tamamlayabilmek için canlı böcek konaklarına ihtiyaç duyar. Toprakta yaşayan enfektif genç bireyler, böceğin doğal açıklıklarından vücuda girerek simbiyotik bakterilerini (Xenorhabdus ve Photorhabdus) serbest bırakır. Bu bakteriler hızla çoğalarak böceğin bir ila üç gün içinde ölmesine neden olur. Daha sonra nematodlar ve bakteriler böcek dokularından beslenerek çoğalır ve yeni enfektif bireyler toprağa yayılır (Püza, 2014; San-Blas, 2024). Kitlesel olarak üretilibilmeleri ve hedef dışı organizmalar üzerindeki etkilerinin sınırlı olması, entomopatojen nematodları özellikle toprak altı zararlılarına karşı etkili bir biyolojik mücadele aracı hâline getirmektedir (Thakur, 2025).

BIYOPESTİSİTLER: BİYOLOJİK KÖKENLİ BİTKİ KORUMA ÜRÜNLERİ

Biyopestisitler, bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalar gibi doğal kaynaklardan veya bu organizmalar tarafından üretilen doğal bileşiklerden elde edilen bitki koruma ürünleri olarak tanımlanmaktadır. ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA), biyopestisitleri mikrobiyal biyopestisitler, biyokimyasal biyopestisitler ve bitkiye entegre edilmiş koruyucular (Plant-Incorporated Protectants, PIP) olmak üzere üç ana gruba ayırmaktadır. Düşük toksisite, çevresel etkilerinin görece sınırlı olması, yüksek hedef özgüllükleri, biyolojik olarak parçalanabilir olmaları ve hedef dışı organizmalar üzerinde genellikle daha düşük risk oluşturmaları nedeniyle biyopestisitler sürdürülebilir bitki koruma stratejilerinde önemli bir yer tutmaktadır (Senthil-Nathan, 2015; Kumar, 2021; Mawcha, 2025). Farklı etki mekanizmalarına sahip olmaları sayesinde biyopestisitler direnç yönetimine katkı sağlayabilmekte ve Entegre Zararlı Yönetimi (IPM) stratejilerinde önemli avantajlar sunmaktadır.

Mikrobiyal biyopestisitler

Mikrobiyal biyopestisitler, bakteri, fungus, virüs, protozoa ve nematodlar gibi mikroorganizmalardan veya bunların metabolitlerinden elde edilen, zararlı organizmaların kontrolünde kullanılan biyolojik bitki koruma ürünleridir. Etkilerini hedef organizmayı enfekte ederek, toksin veya sekonder metabolitler üreterek, rekabet oluşturarak ya da diğer biyolojik mekanizmalar aracılığıyla gösterirler (Vero, 2023; Mawcha, 2025). Bu biyopestisitler arasında bakteri, fungus, virüs, protozoa ve nematod kökenli ürünler yer almakta olup, tarımsal uygulamalarda en yaygın kullanılan grupları bakteriyel, fungal ve viral biyopestisitler oluşturmaktadır.



Şekil 2. *Bacillus thuringiensis*'in böceklerde oluşturduğu enfeksiyon mekanizması. Şekil, yapay zekâ destekli görsel üretim araçları kullanılarak yazar tarafından hazırlanmıştır.

Bakteriyel biyopestisitler

Bakteriyel biyopestisitler, spor oluşturan ve spor oluşturmeyen türler olmak üzere iki ana grupta değerlendirilmektedir. Biyopestisit olarak kullanılan bakterilerin büyük çoğunluğunu spor oluşturan türler oluşturmaktadır. Bunun temel nedeni, olumsuz çevre koşullarında oluşturdıkları endosporlar sayesinde yüksek sıcaklık, kuraklık ve UV ışınımı gibi stres koşullarına dayanabilmeleri ve konak dışında uzun süre canlılıklarını koruyabilmeleridir. Bu grupta en yaygın kullanılan biyopestisitlerden biri *Bacillus thuringiensis* (Bt) olup, ürettiği Cry (δ -endotoksin) proteinleri sayesinde başta Lepidoptera, Coleoptera ve Diptera takımlarına ait zararlılar olmak üzere birçok böcek türünün mücadelesinde başarıyla kullanılmaktadır (Basnet, 2022; Jain, 2016).

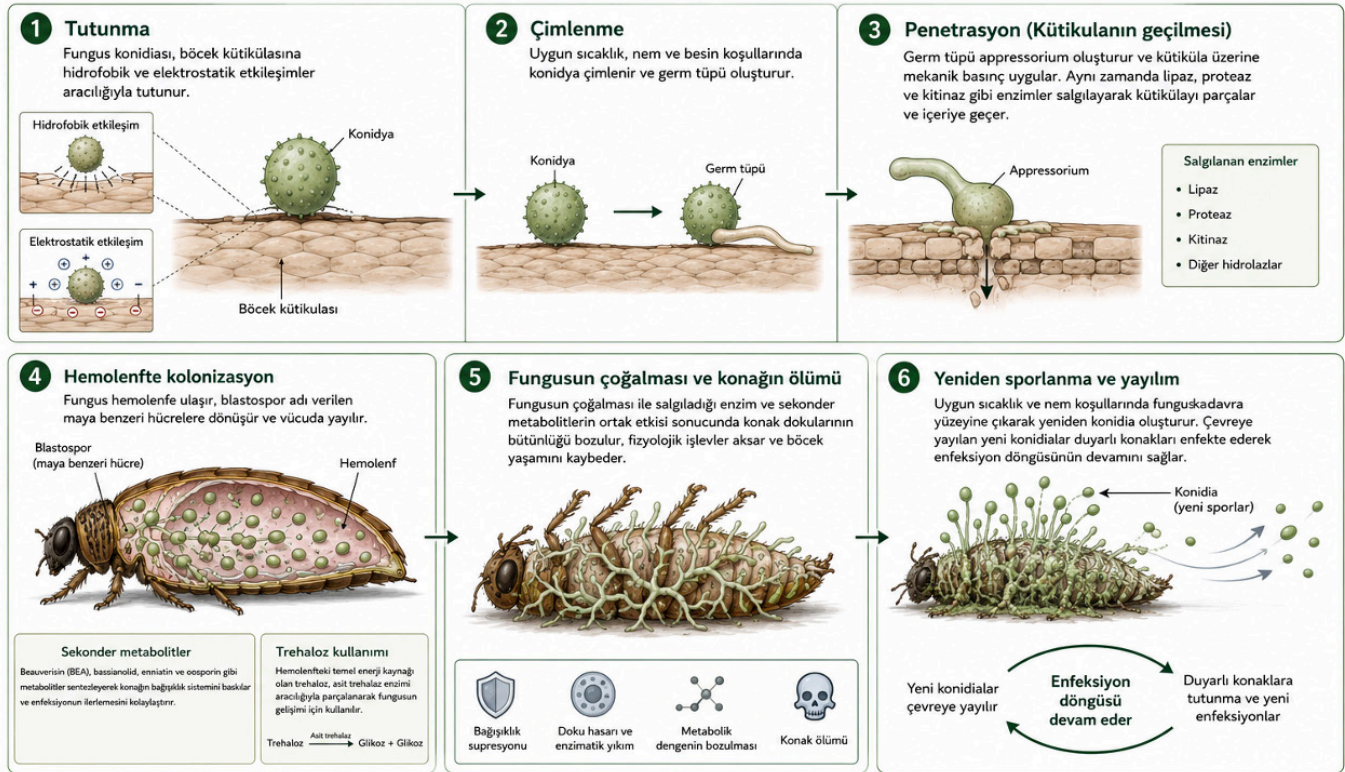
Bt'nin insektisidal etkisi, bakterinin sporulasyon sürecinde ürettiği Cry (crystal) toksinlerinin, paraspöral kristal yapılar ola-

rak depolanmasından kaynaklanmaktadır. Zararlı böcek bu kristalleri tükettiğinde, orta bağırsağın alkali ortamında, protoxin formundaki Cry proteinleri serbest kalır. Bağırsak proteazları da protoxini keserek aktif toksin formuna dönüştürür. Aktifleşen Cry toksinleri, bağırsak epitel hücrelerinin yüzeyindeki kadherin, aminopeptidaz-N (APN), alkalın fosfataz (ALP) ve ABC taşıyıcı proteinleri gibi özgül reseptörlere bağlanır. Bu bağlanmanın ardından toksin molekülleri oligomerleşerek hücre zarında porlar oluşturur. Hücre zarının bütünlüğünün bozulmasıyla iyon ve su dengesi kaybolur, hücre lizisi meydana gelir ve bağırsak epitelinin ciddi şekilde zarar görür (Şekil 2) (Bravo, 2007). Bunun sonucunda larva beslenmeyi bırakır, bağırsak bütünlüğü bozulur ve kısa süre içinde ölür. Larvalarda hareketlerin yavaşlaması, sıvı kıvamında dışkılama ve vücut renginin kahverengiden siyaha dönüşmesi enfeksiyonun tipik belirtileri arasında yer almaktadır.

Cry proteinlerinin hedef özgülülüğü oldukça yüksektir. Örneğin Cry1A proteinleri başlıca Lepidoptera larvalarına, Cry3A ve Cry3B proteinleri Coleoptera larvalarına, Cry4A ve Cry4B proteinleri ise Diptera larvalarına karşı yüksek insektisidal aktivite göstermektedir (Jain, 2016; Palma, 2014).

Fungal biyopestisitler

Fungal biyopestisitler, çok sayıda farklı böcek türünü enfekte edebilmeleri nedeniyle diğer birçok mikrobiyal biyopestisite göre daha geniş bir konak dağılımına sahiptir. Ayrıca enfeksiyon oluşturmaları için konak tarafından tüketilmelerine gerek yoktur. Bu özellikleri, birçok mikrobiyal biyopestisite göre önemli bir avantaj sağlamaktadır. Uygun çevresel koşullarda zararlı böcek popülasyonlarında epizootiklere neden olarak popülasyonların baskılanmasını sağlayabilmektedirler. Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalar, entomopatojen fungusların yalnızca böcek zararlılarını de-



Şekil 3. Entomopatojen fungusların böcek konağındaki enfeksiyon döngüsü. Şekil, yapay zekâ destekli görsel üretim araçları kullanılarak yazar tarafından hazırlanmıştır.

ğil, bitki patojenlerini ve parazit nematodları da baskılayabildiğini, bitki büyümesini desteklediğini ve rizosfer oluşumuna katkıda bulunduğunu göstermektedir (Ownley, 2010; Ramanujam, 2014). Bu grupta en yaygın kullanılan türler Ascomycota filumuna bağlı, Beauveria, Metarhizium, Lecanicillium ve Isaria cinslerine aittir. Suşa bağlı olarak virülans kapasitesi değişen bu funguslar, böceklerin yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere tüm gelişim evrelerinde enfeksiyon oluşturabilmektedir.

Enfeksiyon süreci, konağın fizyolojik durumu ile sıcaklık, nem, pH ve UV ışıını gibi çevresel faktörlerden etkilenen dinamik bir mekanizmadır. İlk aşamada fungus konidileri böcek kütikulasına tutunur ve uygun koşullarda çimlenerek germ tüpü oluşturur. Ardından gelişen appressorium yapısı, salgılanan proteaz, kitinaz ve lipaz enzimleriyle birlikte kütikulanın aşılmasını sağlar. Hemolenfe ulaşan fungus burada çoğalarak çeşitli sekonder metabolitler üretir ve konağın bağışıklık sistemini baskılar. Enfeksiyonun ilerlemesiyle dokuların bütünlüğü bozulur, fizyolojik işlevler durur ve böcek ölür. Son aşamada fungus kadvıra

ra yüzeyinde yeniden konidi oluşturarak çevreye yayılır ve yeni konakları enfekte ederek yaşam döngüsünü sürdürür (Şekil 3) (Holder ve Keyhani, 2005; Zimmermann, 2007).

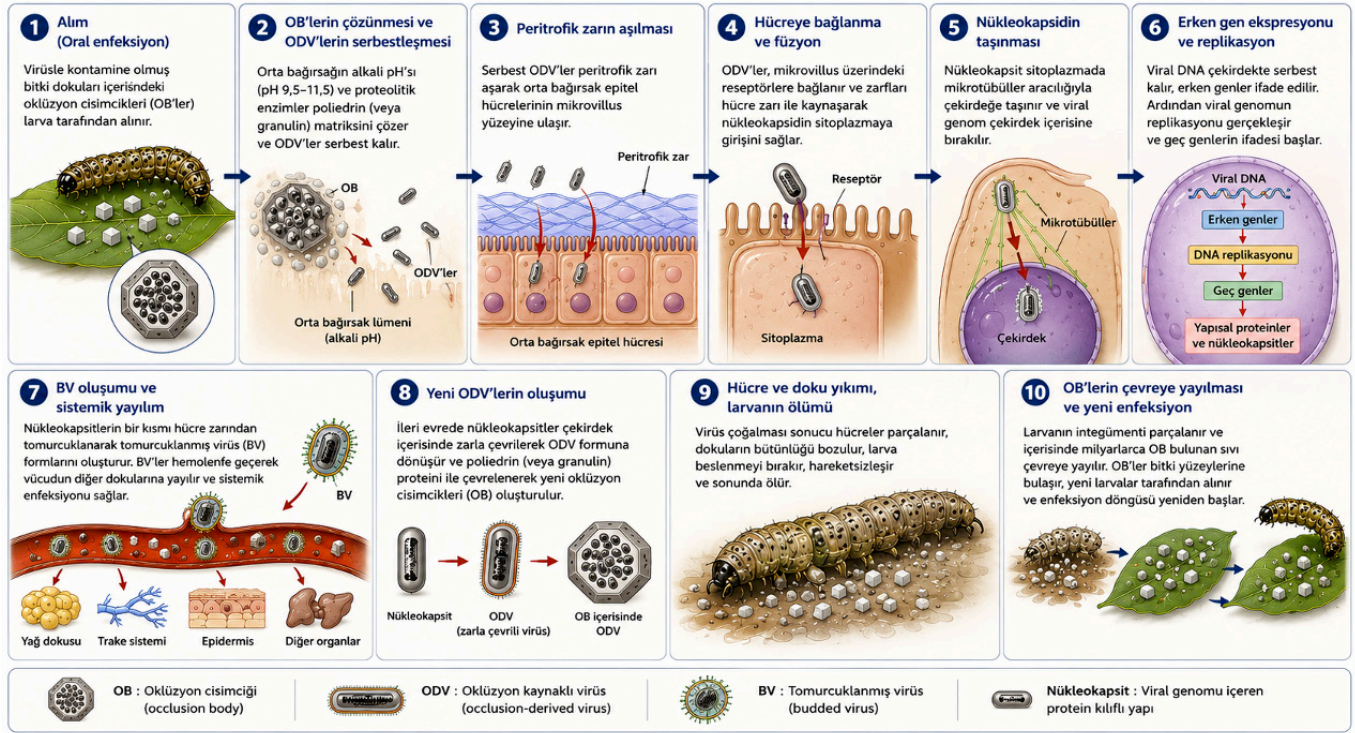
Bitki patojenlerine karşı biyolojik mücadelede yaygın olarak kullanılan fungal biyopestisitlerden biri de Trichoderma türleridir. Bu toprak kökenli funguslar, patojenleri doğrudan baskılayabildikleri gibi bitki köklerini kolonize ederek savunma mekanizmalarını da harekete geçirir. Ayrıca bitki gelişimini desteklemeleri sayesinde Trichoderma türleri yalnızca etkili bir biyolojik mücadele etmeni değil, aynı zamanda önemli bir biyostimülant olarak da değerlendirilmektedir (Oyesola, 2025).

Viral biyopestisitler

Baculoviridae familyasına ait virüsler, böceklerde hastalık oluşturarak ölümlerine neden olan viral biyopestisitlerin en önemli etkenleridir. Baculoviridae familyası, nükleopolihedrovirüsler (NPV) ve granuloz virüsler (GV) olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. GV'ler genellikle NPV'lere

göre daha dar bir konak aralığına sahiptir. Baculovirüsler yalnızca eklembacaklıları enfekte ettiklerinden insanlar, omurgalı hayvanlar ve bitkiler açısından güvenli biyopestisitler olarak kabul edilmektedir. Doğada çevresel koşullara dayanıklı oklüzyon cisimcikleri (occlusion bodies, OB) içerisinde bulunurlar ve enfeksiyon, zararlının bu cisimciklerle bulaşmış bitki dokularını tüketmesiyle başlar.

Besin yoluyla alınan oklüzyon cisimcikleri, zararlının orta bağırsağına ulaştığında alkalik pH ve sindirim enzimlerinin etkisiyle çözünerek oklüzyon kaynaklı virüs (occlusion-derived virus, ODV) partiküllerini serbest bırakır. Serbest kalan ODV'ler, orta bağırsak epitel hücrelerini enfekte ederek viral çoğalmayı başlatır. Enfeksiyonun erken döneminde oluşan tomurcuklanmış virüsler (budded virus, BV) hemolenf yoluyla farklı dokulara taşınarak enfeksiyonun konak içerisinde yayılmasını sağlar. Enfeksiyonun ilerleyen evrelerinde ise yeni oluşan virüs partikülleri poliedrin proteiniyle çevrilerek yeniden oklüzyon cisimciklerine dönüştürülür. Böylece BV formu virüsün konak içerisindeki yayılımından, ODV formu ise böcekten böceğe bulaşmadan sorumlu olur.



Şekil 4. Bakulovirüslerin böcek konağındaki enfeksiyon döngüsü. Şekil, yapay zekâ destekli görsel üretim araçları kullanılarak yazar tarafından hazırlanmıştır.

Virüs çoğaldıkça enfekte dokuların bütünlüğü bozulur, larva beslenmeyi bırakır ve kısa sürede hareketsiz hâle gelir. Son aşamada larvanın vücut örtüsü parçalanarak içinde milyonlarca oklüzyon cisimciği bulunan sıvı çevreye yayılır. Bitki yüzeylerine bulaşan bu oklüzyon cisimcikleri yeni larvalar tarafından tüketildiğinde enfeksiyon döngüsü yeniden başlar (Şekil 4). Bu özellikleri sayesinde bakulovirüsler doğal koşullarda epizootiklere neden olarak zararlı böcek popülasyonlarının baskılanmasında önemli rol oynamaktadır.

Biyokimyasal Biyopestisitler

ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA), biyokimyasal biyopestisitleri doğal kaynaklardan elde edilen ve zararlılar üzerinde toksisiteye dayanmayan özgül biyolojik mekanizmalarla etkili olan biyopestisitler olarak tanımlamaktadır. Bu grup; bitki ekstraktları, mikrobiyal kökenli doğal metabolitler, uçucu yağlar ve mineral kökenli bileşikler kapsayan geniş bir doğal ürün çeşitliliğini içermektedir (Daraban, 2023; Liu, 2019).

Mikrobiyal kökenli biyokimyasal biyopestisitlerin en önemli örneklerinden biri, *Saccaropolyspora spinosa* bakterisinden elde edilen spinosad'dır. Spinosad, başlıca nikotinik asetilkolin reseptörlerini (nAChR), daha sınırlı düzeyde ise GABA reseptörlerini etkileyen özgün bir etki mekanizmasına sahiptir. Bu özgün etki mekanizması sayesinde çok sayıda zararlı böcek türüne karşı yüksek insektisidal etkinlik göstermektedir (Scott, 2008; Liu, 2019). Bir diğer önemli mikrobiyal biyopestisit grubu ise *Streptomyces avermitilis* tarafından üretilen avermektinlerdir. Bu bileşikler, glutamat kapılı klorür kanallarına (GluCl) bağlanarak klorür iyonlarının hücre içine girişini artırmakta, sinir ve kas hücrelerinde hiperpolarizasyona neden olmakta ve sonuçta zararlıların felç olarak ölümüne yol açmaktadır (Cerna-Chávez, 2024a).

Bitki kökenli biyokimyasal biyopestisitler ise bitkiler tarafından sentezlenen sekunder metabolitlerin insektisidal, antifungal ve nematodisidal özelliklerinden yararlanmaktadır (Liu, 2019). Bu grubun en eski ve en yaygın kullanılan örneklerinden biri piretrinlerdir. *Tanacetum cinerariifolium* bit-

kisinden elde edilen piretrinler, voltaj kapılı sodyum kanallarını sürekli açık tutarak sinir hücrelerinde aşırı uyarılmaya neden olmakta ve zararlıların felç geçirerek ölmesini sağlamaktadır. Piretrinlerin sentetik türevleri olan piretroitler aynı etki mekanizmasına sahip olduğundan, bu iki bileşik arasında çapraz direnç gelişebilmektedir.

Bir diğer önemli botanik biyopestisit ise neem ağacından (*Azadirachta indica*) elde edilen azadirachtin içeren neem ürünleridir. Neem bazlı biyopestisitler, beslenmeyi engelleme (antifeedant), uzaklaştırıcı (repellent) etki oluşturma, yumurta bırakmayı baskılama ve böceklerin deri değiştirme ile gelişim süreçlerini bozma gibi farklı mekanizmalarla zararlı popülasyonlarını baskılamaktadır (Lengai, 2020; Ayılara, 2023).

Bunun yanında uçucu yağlar da botanik biyopestisitler arasında önemli bir yer tutar; sedir, kekik ve biberiye gibi bitkilerden elde edilen yağlar doğrudan temas veya buharlaşma yoluyla böcekler için öldürücü ya da uzaklaştırıcı etki gösterebilmektedir (Assadpour, 2024).

Biyokimyasal biyopestisitler; biyolojik olarak parçalanabilmeleri, hedef dışı organizmalar üzerinde düşük toksisite göstermeleri ve çevrede kalıcı kalıntı bırakmama-ları nedeniyle sürdürülebilir bitki koruma açısından önemli avantajlar sunmaktadır. Bununla birlikte, yüksek uçuculuk, oksidasyona duyarlılık, çevresel koşullarda düşük stabilite ve sınırlı suda çözünürlük gibi özellikleri tarla koşullarındaki etkinliklerini sınırlandırabilmektedir (Assadpour, 2024).

Bitkiye Entegre Edilmiş Koruyucular (PIP): Transgenik Bitkilerle Sürekli Koruma

Bitkiye entegre edilmiş koruyucular (PIP); bitki genomuna aktarılan koruyucu genlerle, bitkinin zararlılara karşı kendi savunma bileşiklerini üretmesini sağlayan biyopestisit kategorisidir. EPA'nın PIP tanımına göre düzenleme kapsamına giren, bitkinin kendisi değil, bitkinin ürettiği koruyucu madde ile bu maddenin üretilmesini sağlayan genetik materyaldir (Daraban, 2023). PPIP'ler yalnızca dışarıdan yabancı bir gen aktarılan transgenik yöntemlerle değil, genom düzenleme gibi bitkiye yabancı gen ekleme-yen tekniklerle de elde edilebilmektedir. Bu nedenle PIP kavramı, klasik transgenik bitkilerle sınırlı kalmayıp daha geniş bir teknik yelpazeyi kapsamaktadır (Daraban, 2023).

PIP teknolojisinin ilk ticari ürünü 1995 yılında onaylanan Bt pamuktur. Bt'nin Cry1Ac kristal protein genini taşıyan bu transgenik çeşit, başta çırcır böceği (*Pectinophora gossypiella*) ve tütün tırtılı (*Heliothis virescens*) olmak üzere Lepidoptera zararlılarına karşı, bitkinin kendi dokularında bir koruma sağlamaktadır. Günümüzde Bt mısır, pamuk, soya fasulyesi, patates, patlıcan ve erik başta olmak üzere, geniş bir ürün yelpazesinde PIP uygulamaları gerçekleştirilmektedir (Jain, 2016).

Bt'ye ait cry genleri bitki genomuna aktarıldığında bitki, Cry proteinlerini kendi dokularında sentezlemekte ve zararlılar bu toksinlere maruz kalarak etkilenmektedir. Bunun yanı sıra proteaz inhibitör genleri de transgenik bitkilere aktarılabilmektedir.

Bu genlerin ifade edilmesi, zararlının orta bağırsağındaki sindirim proteazlarının aktivitesini baskılayarak protein sindirimini azaltmakta ve gelişimin yavaşlamasına, zayıflamaya ve ölüme neden olabilmektedir (Lawrence ve Koundal, 2002). Bu tür bitkiye entegre edilmiş koruyucular (Plant-Incorporated Protectants; PIPs), ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından pestisit olarak düzenlenmekte ve ruhsatlandırma süreçleri diğer biyopestisit kategorilerinden farklı bir yasal çerçevede yürütülmektedir (Basnet, 2022).

Bazı hedef zararlı popülasyonlarında Cry proteinlerine karşı tarla koşullarında direnç geliştiği bildirilmiş olup, bu durum PIP teknolojisine karşılaştığı temel zorluklardan biri olarak kabul edilmektedir (Jain, 2016). Direnç gelişimini geciktirmek amacıyla en yaygın uygulanan stratejilerden biri piramitleme (gene pyramiding) yaklaşımıdır. Bu yöntemde, farklı etki mekanizmalarına sahip birden fazla Bt toksin geni aynı bitkiye aktarılmakta ve zararlının tüm toksinlere karşı eş zamanlı direnç geliştirme olasılığı azaltılmaktadır. Bir diğer önemli yaklaşım ise sığınak (refuge) stratejisidir. Bu uygulamada, Bt bitkilerin yakınına transgenik olmayan bitkiler ekilerek Bt toksinine duyarlı bireylerin popülasyonda korunması sağlanmakta ve direnç alellerinin yayılma hızı yavaşlatılmaktadır. PIP teknolojisine tek başına uygulanması yerine, diğer biyolojik, kültürel ve kimyasal mücadele yöntemleriyle birlikte entegre zararlı yönetimi kapsamında değerlendirilmesi daha sürdürülebilir bir yaklaşım olabilir (Basnet, 2022).

Nano-Biyopestisitler: Nano-teknoloji ile Biyolojik Mücadelenin Birleşimi

Biyopestisitlerin tarımda daha yaygın kullanılması, UV radyasyonuna karşı düşük dayanıklılıkları, kısa etki süreleri, performans yetersizlikleri ve yüksek üretim maliyetleri sınırlamaktadır. Bu sorunların çözümünde nanoteknoloji dönüştürücü bir platform olarak öne çıkmaktadır.

Nano-biyopestisitler, biyolojik kökenli aktif bileşenlerin nanoenkapsülasyon yoluyla polimer bazlı, lipid bazlı veya inorganik nanotaşıyıcılara yüklenmesiyle geliştirilen yeni nesil bitki koruma ürünleridir. Bu nanotaşıyıcı sistemler, aktif bileşenleri çevresel bozulma süreçlerine karşı korurken, kontrollü, hedefe yönelik olmaları nedeniyle de uyarana duyarlı salım sağlamakta ve biyolojik etkinliği artırabilmektedir (Haq, 2026). Bu sistemler etken maddeyi fotodegradasyona, mikrobiyal parçalanmaya karşı koruyarak kimyasal stabiliyi artırmaktadır. Kontrollü ve uyarana-duyarlı salım profilleri sayesinde, etken madde hedef organizmaya daha iyi ulaşmakta, etkinlik süresi uzamakta ve uygulama dozu azalmaktadır.

Yaygın olarak kullanılan nanopartiküller ve özellikleri

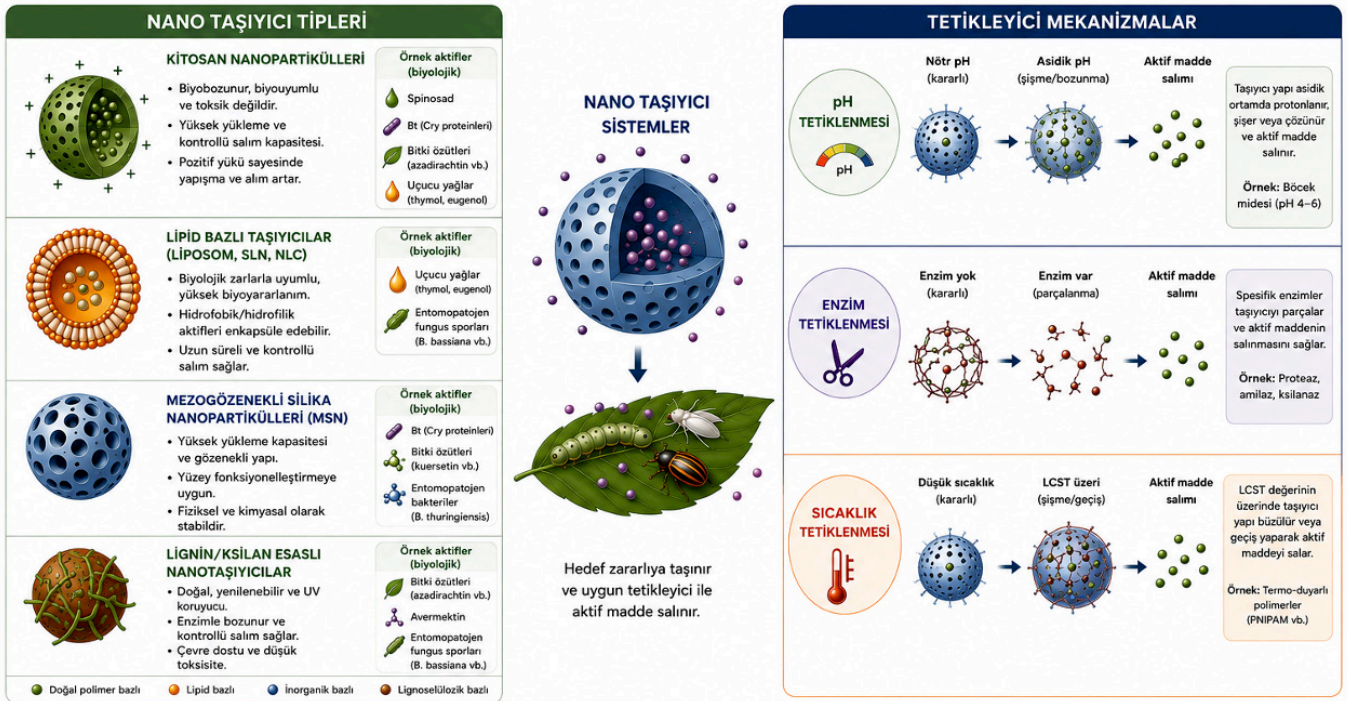
Nano-biyopestisitlerde kullanılan taşıyıcı sistemler polimer bazlı, lipid bazlı ve inorganik olmak üzere üç ana grupta incelenebilir. Her grup, kaynağına ve yapısal özelliklerine bağlı olarak farklı avantajlar sunar (Şekil 5). Bunlar arasında en yaygın kullanılanlardan biri, kabuklu deniz hayvanlarından elde edilen kitinin deasetile formu olan kitosandır. Yüzeyindeki katyonik yük, negatif yüklü bitki yaprak yüzeyine ve zararlının bağırsak mukozasına güçlü tutunma sağlar, böylece etken maddenin yıkanarak uzaklaşmasını engeller. Paulraj (2017), kitosan nanotaşıyıcılarla enkapsüle edilen botanik pestisit PONNEEM'in *Helicoverpa armigera*'ya karşı %88 antifeedant etki ve %90 larvasidal aktivite sağladığını bildirmiştir (Paulraj, 2017). Benzer şekilde Rajkumar (2020), nane esansiyel yağını kitosan nanopartiküllerine enkapsüle ederek depo zararlıları *Tribolium castaneum* ve *Sitophilus oryzae*'ye karşı buhar yoluyla oluşan toksisiteyi artırdığını, kontrollü salımın bu etkinliği güçlendirdiğini göstermiştir. Anandhi (2020), taşıyıcı polimerlerin ortam pH'sına bağlı olarak iyonlaşma davranışı gösterdiğini ve bu sayede kontrollü salımın düzenlenebildiğini belirtmektedir; örneğin alginat bazlı nanotaşıyıcılarda düşük pH'da artan çapraz bağlanma, pH'a duyarlı kontrollü salım sağlar (Anandhi,

2020). Mısır kökenli bir biyopolimer olan zein ise neem yağı gibi hidroforik botanik pestisitlerin enkapsülasyonunda kullanılmakta, beyaz sinek ve kırmızı örümcek gibi zararlılara karşı etkinliği artırmaktadır (Pascoli, 2020; Anjaneyulu, 2024). Biyobozunur PLA ve PLGA nanotaşıyıcıları da yüksek biyoyoumlulukları sayesinde bu grupta yer almaktadır (Haq, 2026). Lipid bazlı nanotaşıyıcılar, özellikle uçucu esansiyel yağların enkapsülasyonunda kullanılır; 20-200 nm boyutundaki bu yapılar yüksek kararlılık ve düşük üretim maliyeti sunar (Silva, 2025). Katı lipid nanopartikülleri (SLN) ve nano yapılı lipid taşıyıcıları (NLC) ise aktif maddeleri bozunmaya karşı koruyarak biyoyararlanımı artırır. Mezo-gözenekli silika nanopartikülleri (MSN), geniş yüzey alanı sayesinde çok daha fazla etken madde taşıyabilir ve pH, redoks potansiyeli veya enzim aktivitesine duyarlı akıllı salım sistemleri oluşturabilir. Lignin-ksilan hibrit

nanoküreleri (166-210 nm), Streptomyces avermitilis kökenli avermektini %57,9-67,0 yükleme verimiyle taşıyabilmekte, ksilanaz enzimi varlığında 16 saatte %44,8-55,1 oranında kontrollü salım gerçekleştirirken, enzim bulunmadığında aynı sürede salım yalnızca %4,1 düzeyinde kalmaktadır (Jiang, 2020; Anjaneyulu, 2024).

Nano-taşıyıcı sistemlerin sağladığı bu çeşitlilik ve kontrollü salım kapasitesi, biyopestisitlerin en önemli pratik sorunlarından birine de çözüm sunar: saha kalıcılığı. Biyopestisitlerin saha koşullarındaki en büyük sorunlarından biri, etken maddelerin UV ışığı, yağmur ve çevresel enzimler karşısında hızla bozunmasıdır. Bt bazlı ürünlerde bu durum özellikle Cry proteinlerinde belirgindir. Bu proteinler saha koşullarında birkaç saat içinde etkinliğini kaybedebilir. Pan (2017), nano-Mg(OH)₂ ile birleştirilen Cry11Aa proteininin UV karşı-

sında serbest forma göre çok daha dayanıklı kaldığını göstermiştir. Benzer şekilde Rao (2018), nano-Mg(OH)₂'ye yüklenen Cry1Ac proteininin pamuk yapraklarında tutunma oranını %59,5 artırdığını, yağmura maruz kalan yapraklarda bile bu korumanın sürdüğünü bildirmiştir. Çinko oksit nanopartikülleriyle kaplanan Bt (Bt-ZnO), depo zararlısı *Callosobruchus maculatus*'a karşı test edildiğinde yumurta verimini ve açılma oranını düşürmüş, larva-pupa gelişimini geciktirmiş, sindirim enzimlerini baskılamış ve en yüksek dozda %100 mortalite sağlamıştır (Malaikozhundan, 2017). Jiang (2020), Streptomyces avermitilis kökenli avermektinin UV ışığına duyarlılığı nedeniyle saha koşullarında hızla etkinliğini kaybettiğini, ancak lignin-ksilan hibrit nanokürelere yüklendiğinde kontrollü salım sayesinde bu etkinlik kaybının önemli ölçüde yavaşlatılabildiğini göstermiştir (Jiang, 2020).



Şekil 5. Nano-biyopestisitlerde kullanılan başlıca nanotaşıyıcı sistemler. Şekil, yapay zekâ destekli görsel üretim araçları kullanılarak yazar tarafından hazırlanmıştır.

Bitkisel uçucu yağlar biyobozunur olsalar da hızla buharlaşmaları geniş ölçekli kullanımlarını sınırlar. Giunti (2021), rezene, nane ve portakal yağlarından hazırlanan nanoemülsiyonların depo zararlısı *Rhizopertha dominica*'ya karşı %84-89 uzaklaştırıcı etki gösterdiğini bildirmiştir (Giunti, 2021). Aynı araştırma grubunun sonraki çalışmasında, anason, rezene ve nane uçucu yağlarından hazırlanan nanoemülsiyonların bir yıl depolama sonrasında fiziksel kararlılıklarını büyük ölçüde koruduğu ve özellikle zeytin sineği (*Bactrocera oleae*) dişilerinde yumurta bırakma davranışını baskılayarak ovipozisyonu azalttığı gösterilmiştir (Giunti, 2022).

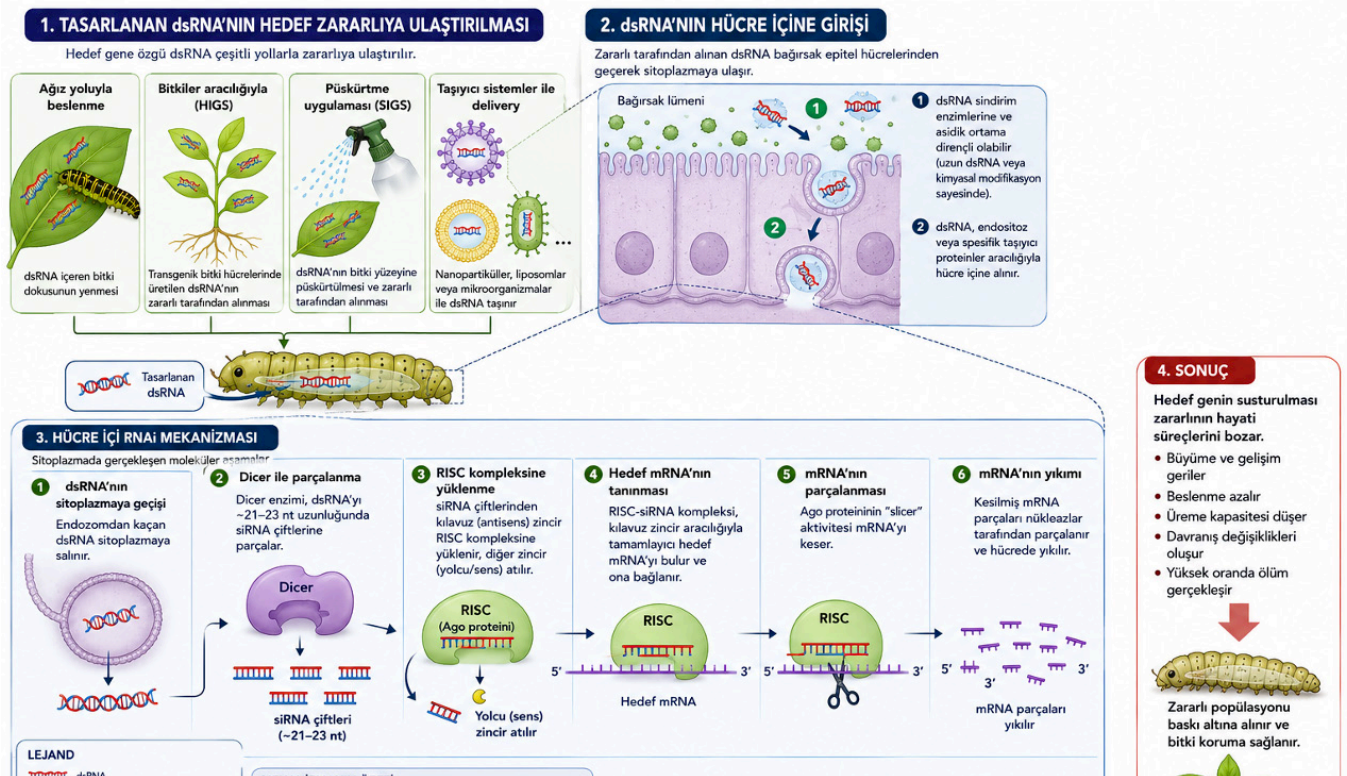
Nano-biyopestisit araştırmaları bitki patojeni fungusların kontrolüne de uzanmaktadır. Cerna-Chávez (2024b), silika ve grafen nanopartiküllerini *Bacillus amylo-liquefaciens* özütüyle birleştiren bir for-

mülasyonun in vitro koşullarda *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum acutatum* ve *Alternaria alternata*'nın misel gelişimini ve üreme yapılarının oluşumunu %84 ile %100 arasında değişen oranlarda baskıladığını bildirmiştir (Cerna-Chávez, 2024b). Benzer bir yaklaşımla Vettrano (2022), uçucu yağ içeren lignin nanopartiküllerinin kök çürüklüğüne yol açan *Phytophthora cactorum*'a karşı laboratuvar ve sera koşullarında güçlü koruma sağladığını göstermiştir.

Mevcut bulgular, nanoenkapsülasyonun biyolojik etkinliği enkapsüle edilmemiş formlara kıyasla %40-94 oranında artırabildiğini göstermektedir (Haq, 2026). Ancak bu kazanımın elde edilebilmesi için taşıyıcı tasarımının hedef zararlının biyolojisine uygun yapılması gerekir. Örneğin bağırsak pH'ı böcek türüne göre değişir. Lepidoptera larvalarında kuvvetle alkalinken (pH 8-12),

Coleoptera'da nötr ya da hafif asidiktir. Bu nedenle pH temelli tetikleyiciler türe özgü değerlendirilmelidir. Bu tasarım hassasiyetinin başarılı bir örneği, PLA (polilaktik asit) bazlı nanoformülasyon içerisinde enkapsüle edilen abamektindir. Bu formülasyon, *Tuta absoluta*'ya karşı ticari formülasyonla benzer insektisit etkinliği gösterirken, faydalı avcı böcekler *Macrolophus pygmaeus* ve *Nesidiocoris tenuis* üzerindeki toksisiteyi belirgin biçimde azaltmıştır (Cherif, 2022).

Nanoteknoloji, biyopestisitlerin çevresel dayanıklılığını ve raf ömrünü uzatmakta, hedefe özgü kontrollü salım sağlayarak daha düşük dozlarda daha uzun süreli koruma sunmaktadır. Bu sayede nano-biyopestisitler, kısa etki süresi ve düşük dayanıklılık sorunlarını aşarak biyopestisitlerin tarımda daha yaygın kullanılmasının önünü açabilecek güçlü bir alternatif oluşturmaktadır.



Şekil 6. dsRNA'nın hücreye alınması ve RNA girişimi (RNAi) mekanizması. Şekil, yapay zekâ destekli görsel üretim araçları kullanılarak yazar tarafından hazırlanmıştır.

RNAI TABANLI BİYOPESTİSİTLER: GEN SUSTURMA TEKNOLOJİSİYLE ZARARLI YÖNETİMİ

RNA interferansı (RNAi), ökaryotik organizmalarda belirli bir hedef geni tanıyarak ifadesini engelleyen, doğal ve evrimsel olarak korunmuş bir mekanizmadır. RNAi mekanizması, 1998 yılında Andrew Fire ve Craig Mello tarafından *Caenorhabditis elegans* üzerinde gerçekleştirilen çalışmalarla ortaya konmuş, çift zincirli RNA'nın (double-stranded RNA; dsRNA) hedef genleri yüksek özgülükle susturabildiği gösterilmiştir. Bu keşif, Fire ile Mello'ya 2006 yılında Nobel Fizyoloji veya Tıp Ödülü'nü kazandırmıştır (Gacem, 2021).

Hücre içerisine alınan dsRNA, RNase III ailesine ait Dicer enzimi tarafından yaklaşık 21-23 nükleotid uzunluğundaki küçük girişimci RNA'lara (small interfering RNA; siRNA) parçalanmaktadır. Çift zincirli siRNA'nın iki ipliğinden biri kılavuz iplik olarak seçilir ve RNA-induced silencing complex (RISC) kompleksine bağlanır. Kompleksin temel bileşeni olan Argonaute (AGO2) proteini, kılavuz ipliğin hedef mRNA'yı tanımasını sağlar. RISC kompleksi, kılavuz iplikle tamamlayıcı dizideki mRNA'yı keserek parçalar ve böylece hedef genin protein sentezini engeller (Şekil 6). Sonuç olarak zararlıının gelişimi, beslenmesi, üremesi, metabolik süreçleri aksamakta, büyüme geriliği, gelişim bozukluğu, üreme başarısında azalma ya da ölüm meydana gelebilmektedir (Basis, 2025a; Gacem, 2021).

RNAi başarısı böcek türlerine göre önemli farklılıklar gösterir. Lepidoptera takımı, RNAi uygulamalarına en düşük duyarlılık gösteren gruplardan biridir. Bunun temel nedeni, bu böceklerin orta bağırsığının güçlü alkalin yapısı nedeniyle dsRNA'nın kararlılığını kaybetmesi, bağırsaktaki nükleazların dsRNA'yı parçalaması ve hücre içine alınan dsRNA'nın endozomdan sitoplazmaya geçememesidir. Bu tür-özgü di-

renç yalnızca Lepidoptera ile sınırlı değildir. dsRNA'yı parçalayan nükleazların türü ve etkinliği böcek türüne göre değişiklik gösterir. Örneğin bazı Hemiptera türlerinde dsRNA'yı parçalayan başlıca engel, orta bağırsak değil tükürük nükleazlarıdır. Bu biyolojik bariyerler nedeniyle dsRNA'nın önemli bir bölümü RNAi mekanizmasına katılmadan parçalanır ve gen susturma etkinliği azalır (Christiaens, 2018; Sharma, 2023; Quiroga-Murcia, 2025).

Bu sınırlılıklara karşın RNAi tabanlı biyopestisitlerin, geleneksel kimyasal insektisitlere kıyasla öne çıkan bazı önemli avantajları bulunmaktadır. Bunlar arasında en önemlisi yüksek hedef özgülüğüdür: dsRNA molekülleri hedef organizmadaki belirli gen dizilerine göre tasarlandığından, faydalı böcekler, doğal düşmanlar ve tozlayıcılar üzerindeki olumsuz etkileri çok azdır. Biyolojik olarak parçalanabilen dsRNA, çevrede uzun süre kalıcılık göstermediğinden toprak ve su ekosistemlerinde de düşük risk oluşturur.

dsRNA Uygulama Stratejileri

RNAi teknolojisinin tarım zararlılarıyla mücadelede kullanılabilmesi için dsRNA'nın hedef organizmaya etkili biçimde ulaştırılması gerekmektedir. Günümüzde bu amaçla farklı uygulama stratejileri geliştirilmiştir. Enjeksiyon yöntemi, laboratuvar koşullarında gen işlevlerinin araştırılmasında yaygın biçimde kullanılmakta ancak geniş tarım alanlarında uygulanabilir değildir. Oral besleme yönteminde dsRNA yapay diyetler veya bitki dokusu aracılığıyla zararlı tarafından alınmakta, ancak dsRNA'nın etkinliği türden türe değişebilir (Gacem, 2021).

Tarımsal uygulamalar açısından en fazla ilgi gören yaklaşımlardan biri Host-Induced Gene Silencing (HIGS) yöntemidir. Bu yöntemde hedef zararlıya özgü dsRNA'yı sürekli sentezleyebilen transgenik bitkiler geliştirilmektedir. Bu yaklaşım, daha önce ele alınan Bitkiye Entegre Edilmiş Koruyucular (PIP) kavramına benzer bir mantıkla çalışır. Ancak PIP'lerde bitki genellikle bir protein toksini (örneğin Bt'nin Cry protei-

ni) üretirken, HIGS'te bitki hedef zararlıya özgü dsRNA üretir. Zararlı bu bitkinin dokusunu tükettiğinde dsRNA'yı alarak RNAi mekanizmasını aktive etmekte ve hedef gen susturulmaktadır. HIGS'te dsRNA, bitkinin hem çekirdek hem de plastid genomuna aktararak üretilmektedir. Bayer CropScience tarafından mısır bitkisi için ticari olarak geliştirilen SmartStax PRO, Cry3Bb1 ve Cry34/35Ab1 Bt proteinlerine ek olarak zararlıın DvSnf7 genini hedefleyen dsRNA yapısını içerir. DvSnf7, hücrelerin düzgün çalışması için gerekli, hücre içi taşımacılıkta görev alan hayati bir proteindir. Bu genin susturulması, hücre içi taşımacılığı bozarak larva ölümüne yol açar. Bu nedenle SmartStax PRO, Batı mısır kök kurduna karşı üç farklı etki mekanizmasını bir araya getiren ilk ürün olarak tanımlanmaktadır (Reinders, 2023).

Spray-Induced Gene Silencing (SIGS), son yıllarda ön plana çıkmıştır. Bu yöntemde sentezlenen çift zincirli RNA (dsRNA), doğrudan bitki yüzeyine püskürtülür ve hedef zararlı tarafından beslenme sırasında alınması sağlanır. Transgenik bitki geliştirilmesini gerektirmemesi, farklı bitki türlerinde uygulanabilmesi ve tarla koşullarında pratik biçimde uygulanabilmesi nedeniyle SIGS, RNAi tabanlı zararlı yönetiminde önemli bir alternatif olarak değerlendirilmektedir (Wu, 2025).

Ancak dsRNA, UV ışınları, sıcaklık, su, pH değişimleri ve nükleazların etkisiyle hızla parçalanabilmekte, bu da yöntemin en önemli sınırlılığını oluşturmaktadır. Bu nedenle günümüzde RNAi araştırmaları, dsRNA'nın çevresel kararlılığını artıran nanoformülasyonlar, taşıyıcı sistemler ve kimyasal modifikasyon (örneğin nükleotidlerin metillenmesi) stratejilerinin geliştirilmesine odaklanmaktadır (Wu, 2025; Zhang, 2026). Liu (2025b), çölçekirgesi (*Locusta migratoria*) üzerinde kitinaz genini (LmCht10) hedefleyen dsRNA'yı kitosan nanopartiküllerine yükleyerek bu sorunu ele almıştır. Kitosanla kapsüllenmiş dsRNA, serbest dsRNA'ya kıyasla hem bağırsak sıvısında hem de farklı sıcaklıklarda çok daha uzun süre kararlılığını korumuştur. Bu kapsülleme sayesinde gen susturma et-



kinliği %45'ten %63'e, mortalite oranı ise %8'den %18'e yükselmiştir. Yani kitosan kapsülleme, serbest dsRNA'ya kıyasla böceği öldürme gücünü belirgin biçimde artırmıştır. Yani kitosan kapsülleme, serbest dsRNA'ya kıyasla böceği öldürme gücünü belirgin biçimde artırmıştır. (Liu, 2025b). Zararlının ölümü, kitinaz susturulması sonucu eski kütikülün atılamamasından, yani deri değiştirme (ekdisis) sürecinin başarısız olmasından kaynaklanmıştır. Kitinaz enzimi, böceklerin gelişim evreleri arasında eski, kitin yapıldı dış iskeletin parçalanmasını sağlayarak yeni kütikülün oluşmasına olanak tanır. Bu enzim susturulduğunda böcek deri değiştirmeyi tamamlayamaz ve kısa sürede ölür.

Sonuç olarak RNAi teknolojisi, yüksek hedef özgüllüğü ve düşük çevresel kalıcılığıyla geleneksel kimyasal mücadeleye güçlü bir alternatif sunmaktadır. HIGS gibi transgenik yaklaşımlar dsRNA'yı bitki içinde sürekli üreterek kalıcı bir koruma sağlarken, nanopartikül tabanlı taşıyıcı sistemler doğrudan uygulanan dsRNA'yı çevresel

bozunmaya karşı koruyarak etkinliğini artırmaktadır. Ancak böcek türüne bağlı duyarlılık farklılıkları, RNAi'nin her zararlıya karşı aynı etkinlikte kullanılabilmesini hâlen sınırlamaktadır.

CRISPR/CAS TEKNOLOJİSİ: GENOM DÜZENLEMEDEN ZARARLI YÖNETİMİNE

Genom düzenleme teknolojileri, canlıların genetik materyalinde istenilen bölgelerde hedefe yönelik değişiklikler yaparak, moleküler biyoloji, genetik ve tarımsal biyoteknoloji alanlarında köklü ilerlemelere zemin hazırlamıştır. Bu teknolojiler arasında yer alan CRISPR/Cas sistemi, yüksek hedef özgüllüğü, programlanabilir yapısı ve aynı anda birden fazla gen bölgesini düzenleyebilme kapasitesi nedeniyle modern biyoteknolojinin en güçlü araçlarından biri hâline gelmiştir (Basit, 2025a).

CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) dizileri ilk kez 1987 yılında Ishino ve arkadaşları tarafından *Escherichia coli* genomu incelenirken tesadüfen tanımlanmış, ancak o dönemde biyolojik işlevi anlaşılamamıştır. Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda, benzer tekrar dizilerinin birçok bakteri ve arkede de bulunduğu, bu dizilerin yanında yer alan genlerin ise CRISPR-associated (Cas) olarak adlandırıldığı gösterilmiştir (Jansen, 2002). Sistemin gerçek biyolojik işlevi 2005 yılında bağımsız genom analizleriyle ortaya konulmuştur. CRISPR dizileri arasındaki değişken spacer bölgelerinin, bakteriyofaj ve plazmit DNA'larıyla büyük ölçüde örtüşmesi, bu sistemin prokaryotlarda bulunan kazanılmış bir bağışıklık mekanizması olduğunu kanıtlamıştır.

Bu temel keşfin ardından, sistem laboratuvar ortamında yeniden tasarlayarak programlanabilir bir genom düzenleme aracına dönüştürmüştür. Doudna ve Charpentier, doğal sistemde ayrı bulunan iki RNA bileşeninin, tek bir yapay rehber RNA'da (sgR-



NA) birleştirilebileceğini göstermişlerdir. Böylece Cas9 enziminin, tasarlanan rehber RNA ile yönlendirilebildiği CRISPR/Cas9 platformunun temelleri atılmıştır (Basit, 2025a). Bu çalışma 2020 Nobel Kimya Ödülü'nü kazanmıştır. Sonrasında, CRISPR/Cas9 sistemi bakteri, maya, bitki ve böcek hücreleri dahil çok sayıda organizmada başarıyla uygulanmıştır.

Moleküler Mekanizma

CRISPR/Cas9 sistemi, temel olarak Cas9 endonükleazı ve sgRNA olmak üzere iki bileşenden oluşmaktadır. sgRNA, doğal CRISPR sisteminde ayrı moleküller halinde bulunan crRNA ve tracrRNA bileşenlerinin tek bir RNA molekülünde birleştirilmesiyle oluşturulmuştur. Bu yapı hem Cas9 proteiniyle kararlı bir kompleks kurulmasını hem de hedef DNA dizisinin özgül biçimde tanınmasını sağlamaktadır.

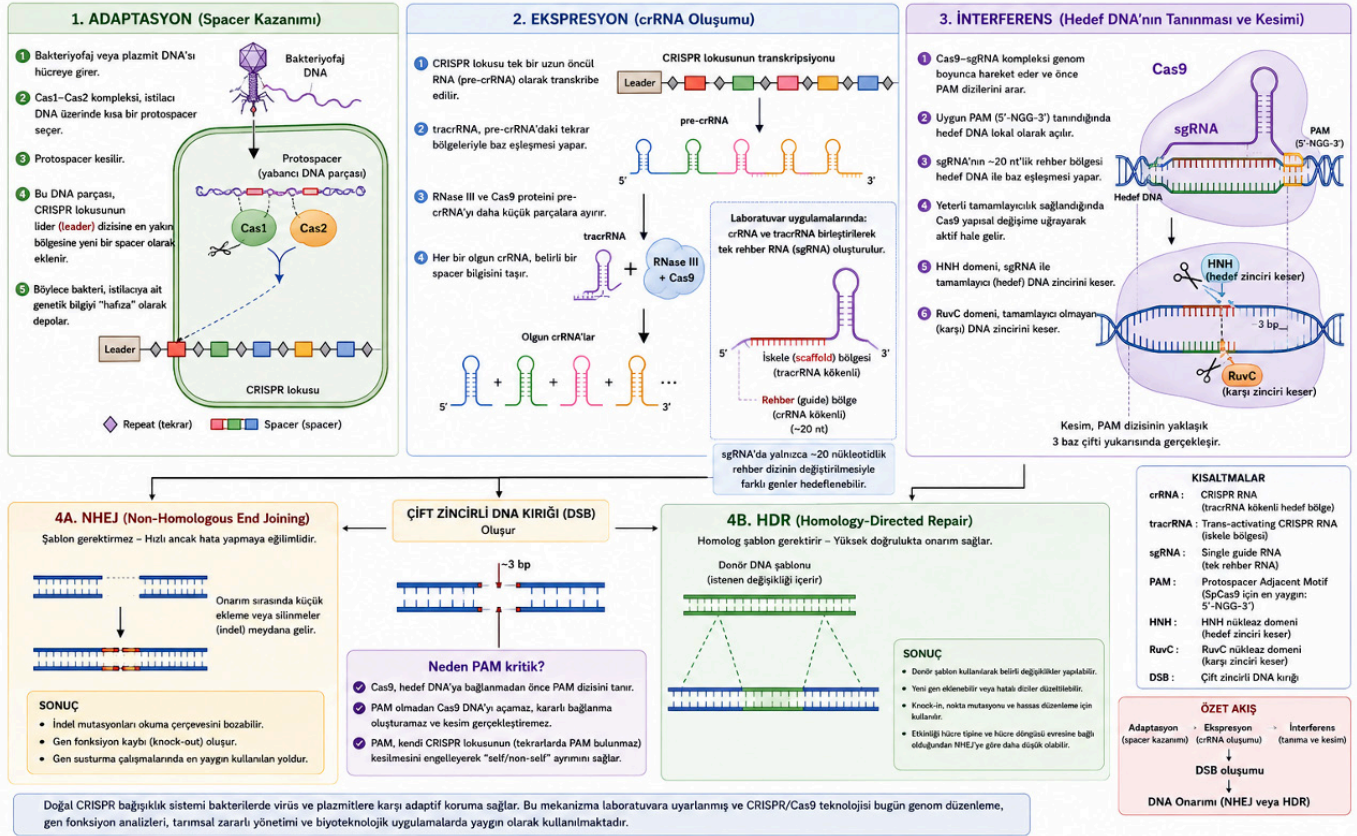
Cas9 proteininin iki temel bölgesi vardır. Bunlardan biri, sgRNA ile eşleşen tanıma bölgesidir (Recognition, REC). Diğeri ise

DNA'yı kesen nükleaz bölgesidir (Nuclease, NUC). Nükleaz bölgesinde HNH ve RuvC adında iki ayrı kesici birim bulunur. Bu iki birim, DNA'nın çift sarmalını oluşturan iki zinciri ayrı ayrı keser. HNH birimi sgRNA ile eşleşen zinciri keserken, RuvC birimi karşı zinciri keser. Bu çift kesim sonucunda DNA'da çift zincir kırığı (Double Strand Break, DSB) adı verilen bir hasar oluşur. Genom düzenlemenin ilk adımı, bu hasarın oluşturulmasıdır.

DNA'nın kesilebilmesi için hedef dizinin hemen yanında, protospacer adjacent motif (PAM) adı verilen kısa bir DNA dizisinin bulunması zorunludur (Palermo, 2017; Shi, 2025). En yaygın kullanılan *Streptococcus pyogenes* Cas9 (SpCas9) sistemi, hedef DNA'yı NGG tipi PAM dizisi aracılığıyla tanır. Cas9 proteini genom boyunca PAM dizilerini tarayarak uygun hedef bölgeleri belirler. PAM'a bağlandıktan sonra o bölgede DNA'nın iki ipliği birbirinden ayrılır ve sgRNA, hedef DNA ile baz eşleşmesi yaparak R-loop adı verilen bir yapı oluşturur. Yeterli eşleşme sağlandığında Cas9, hedef

bölgede çift iplikli DNA kırığı meydana getirir (Shi, 2025; Palermo, 2017; Dodiya ve, 2025).

Oluşan DNA kırıkları başlıca iki yolla onarılır. Homolog Olmayan Uç Birleştirme (Non-Homologous End Joining, NHEJ) mekanizmasında, kırılan DNA uçları herhangi bir şablon kullanılmaksızın doğrudan birleştirilir. Bu süreç hatalara eğilimlidir. Çoğunlukla küçük ekleme ya da silinmelere yol açarak okuma çerçevesini bozar ve genin işlevini yitirmesine, yani gen nakavtına (knock-out) neden olur. Homoloji Yönelimli Onarım (Homology Directed Repair, HDR) mekanizmasında ise hücreye, istenen değişikliği içeren bir donör DNA parçası sağlanır. Hücre, kırığı onarırken bu donör DNA'yı şablon olarak kullanır. Böylece hedeflenen bölgeye yeni bir dizi hassas biçimde eklenebilir ya da mevcut dizi istenen şekilde değiştirilebilir. Bu nedenle HDR, özellikle hedefe yönelik gen ekleme (knock-in) ve hassas genom düzenleme uygulamalarında tercih edilen bir onarım yoludur (Şekil 7) (Basit, 2025a).



Şekil 7. sCRISPR/Cas9 sistemi ile hedef DNA'nın düzenlenmesi. Şekil, yapay zekâ destekli görsel üretim araçları kullanılarak yazar tarafından hazırlanmıştır.

Günümüzde, klasik çift zincir kırığına dayanan yaklaşımın ötesine geçen, yeni nesil sistemler de geliştirilmiştir. Baz düzenleme (base editing) sistemlerinde, kesim yeteneği devre dışı bırakılmış bir Cas9 varyantı (nickase), bir deaminaz enzimiyle birleştirilir. Bu sistem, DNA'da çift zincir kırığı oluşturmadan, sitozin bazını timine (C > T) ya da adenin bazını guanine (A > G) dönüştürerek hedeflenen tek bir bazı doğrudan değiştirebilir (Aliciaslan, 2026). Prime editing yönteminde ise Cas9'un tek zincir kesen bir formu (nickase), ters transkriptaz enzimiyle birleştirilir. Özel tasarlanmış bir rehber RNA (pegRNA), hem hedef bölgeyi belirler hem de yapılacak değişikliğin bilgisini taşır. Bu sayede küçük eklemeler, silinmeler ve olası 12 baz dönüşümünün tamamı, çift zincir kırığı ya da donör DNA'ya gerek kalmadan yüksek doğrulukla yapılabilir (Hillary ve Ceasar, 2022). Ölü Cas9 (dCas9) sistemi ise gen kesimi gerçekleştirimsizin ekspresyon düzenleyici olarak çalışmaktadır. Transkripsiyon aktivatör proteinleriyle birleştirildiğinde, CRISPRa olarak hedef

gen ifadesini artırmakta, baskılayıcı proteinlerle birleştirildiğinde ise CRISPRi olarak transkripsiyonu baskılamaktadır.

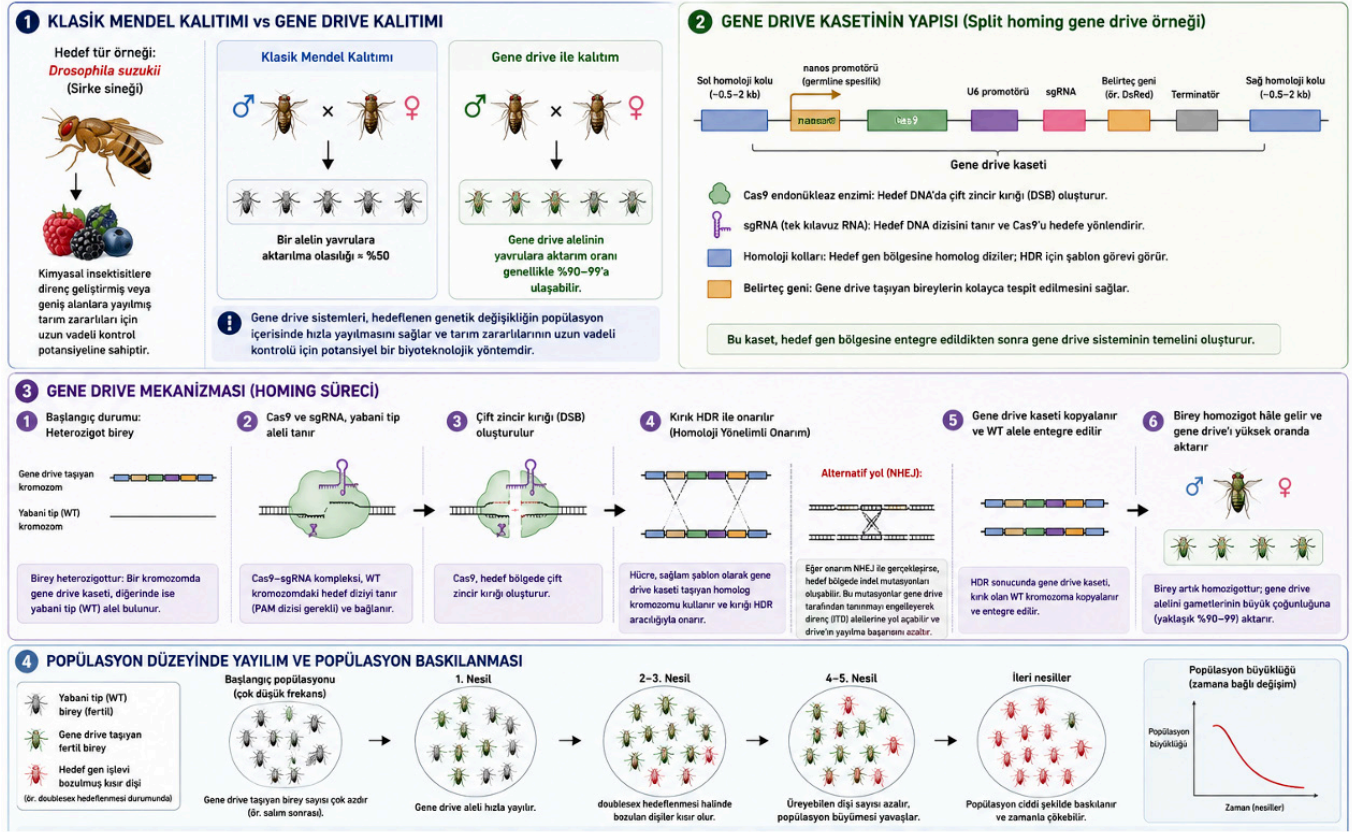
Tarım zararlılarıyla mücadelede CRISPR/Cas uygulamaları

CRISPR/Cas sistemi sayesinde zararlıların genomunda belirli genler yüksek doğrulukla düzenlenebilmekte; gelişim, üreme, cinsiyet belirlenmesi, koku alma ve konak bulma davranışı gibi temel biyolojik süreçlerin yanı sıra insektisit veya Bt toksinlerine dirençle ilişkili genler de hedeflenebilmektedir (Basit, 2025a).

CRISPR/Cas9'un en yaygın kullanım alanı fonksiyonel genomik çalışmalardır. Lepidoptera türlerinin çoğu RNAi'ye karşı dirençli olduğundan, bu gruptaki böceklerde gen işlevlerinin araştırılmasında CRISPR/Cas9 ile oluşturulan kalıcı mutasyonlar RNAi'ye göre daha güvenilir sonuçlar vermektedir (Basit, 2025b). Bugüne kadar Spodoptera frugiperda, Spodoptera litura,

Helicoverpa armigera, Plutella xylostella, Nilaparvata lugens, Locusta migratoria, Agrotis ipsilon, Hyphantria cunea, Cydia pomonella ve Ostrinia furnacalis gibi çok sayıda ekonomik öneme sahip böcek türünde CRISPR/Cas9 aracılığıyla başarılı genom düzenleme çalışmaları gerçekleştirilmiştir (Basit, 2025a; John, 2025).

CRISPR/Cas9, böcek gelişimini yöneten genlerin işlevinin ortaya çıkarılmasında da önemli sonuçlar sağlamıştır. Wu (2018), *Spodoptera frugiperda*'da abdominal-A (abd-A) genini CRISPR/Cas9 ile işlev dışı bırakmıştır. Oluşan mutant bireylerde vücut segmentlerinde kaynaşmalar, anormal bacak gelişimi ve yüksek embriyonik ölüm oranı görülmüş, ergin bireylerin büyük bölümü kısır kalmıştır. Bu sonuçlar, abd-A geninin vücut segmentlerinin ve üreme organlarının normal gelişimi için gerekli olduğunu ve CRISPR/Cas9'un zararlı böceklerde gen işlevlerini ortaya çıkarmada güçlü bir araç olduğunu göstermiştir (Wu, 2018). Gu (2022), *Spodoptera frugiperda*'da cinsiyet



Şekil 8 CRISPR/Cas9 tabanlı gene drive sisteminin çalışma mekanizması ve popülasyon düzeyindeki etkileri. Şekil, yapay zekâ destekli görsel üretim araçları kullanılarak yazar tarafından hazırlanmıştır.

farklılaşmasının temel düzenleyicilerinden biri olan doublesex (dsx) genini CRISPR/Cas9 sistemiyle hedeflemiştir. Genin ortak bölgesinin mutasyona uğratılması hem dişi hem de erkek bireylerde dış ve iç genital organların gelişimini bozmuştur. Dişiye ve erkeğe özgü ekzonların ayrı ayrı hedeflenmesi ise ilgili cinsiyette fertilitenin belirgin biçimde azalmasına ve yumurtaların açılmamasına neden olmuştur (Gu, 2022).

Bağıışıklık sistemiyle ilişkili profenoloksidaz (PPO) genleri de CRISPR/Cas9 kullanılarak fonksiyonları araştırılan önemli hedefler arasındadır. PPO enzimleri böceklerde melanizasyon, yara iyileşmesi ve doğuştan bağışıklıkta kritik rol oynamaktadır. *Spodoptera frugiperda*'da PPO1 ve PPO2 genlerinin CRISPR/Cas9 ile mutasyona uğratılması, fenoloksidaz aktivitesinin ve melanizasyonun belirgin biçimde azalmasına, ayrıca metamorfoz ve yaşam sürecinde ciddi gelişim bozukluklarının meydana gelmesine yol açmıştır. Bu bulgular, PPO'nun yalnızca bağışıklıkta değil, böcek gelişimi

ve yaşam döngüsünün sürdürülmesinde de kritik işlevlere sahip olduğunu göstermektedir (Eychenne, 2022; Liu, 2025a).

Koku reseptörü genlerinin incelenmesi de araştırma alanı olarak giderek önem kazanmaktadır. Zararlı böceklerin konak bitkiyi bulması, eş seçimi ve yumurta bırakma davranışı büyük ölçüde antenlerdeki koku reseptörleri ve bağlı sinyal yolları tarafından yönlendirilmektedir. Bu genlerin CRISPR/Cas9 ile devre dışı bırakılması, böceklerin koku alma yeteneğini doğrudan ortadan kaldırmaktadır. Örneğin *Spodoptera littoralis* ve *Locusta migratoria*'da koku reseptörü ortak reseptör geni (Orco) susturulduğunda, mutant bireyler ne cinsel feromonlara ne de bitki kokularına tepki verebilmiştir. Benzer şekilde *Spodoptera litura*'da feromon bağlayıcı protein geni (PBP3) hedeflendiğinde, bireylerin cinsel feromon bileşenlerine verdiği yanıt belirgin biçimde değişmiştir. Bu bulgular, koku alma mekanizmasını hedef alan yeni mücadele stratejilerinin geliştirilmesi için önem-

li bir temel oluşturmaktadır (Singh, 2022).

CRISPR teknolojisi, önemli insektisit direnç mekanizmalarının moleküler düzeyde doğrulanmasını sağlayarak tarım zararlılarıyla mücadelede önemli bir uygulama alanı bulmuştur. Wang (2017), *Helicoverpa armigera*'da HaABCA2 genini CRISPR/Cas9 sistemiyle işlev dışı bırakarak oluşturdukları knock-out hatlarında, bireylerin Cry2Aa toksinine karşı 120 kat, Cry2Ab toksinine karşı ise 100 katın üzerinde direnç geliştirdiğini göstermiştir. Ayrıca böceklerin bağırsak hücrelerinden izole edilen fırçamsı kenar membran veziküllerinde (brush border membrane, BBMV) Cry2Ab toksininin bağlanmasının tamamen ortadan kalktığı belirlenmiş, böylece HaABCA2 geninin Cry2Aa ve Cry2Ab toksinlerinin etki mekanizmasında kritik bir reseptör olduğu doğrulanmıştır (Wang, 2017; Singh, 2022).

CRISPR teknolojisi, zararlılarla mücadelede yalnızca hedef organizmanın genomunun düzenlenmesiyle sınırlı kalmayıp, bitkinin

savunma kapasitesinin artırılmasında da kullanılmaktadır. CRISPRa, Cas9 proteininin kesim aktivitesinin ortadan kaldırılarak transkripsiyon aktivatörleriyle birleştirilmesi ve hedef savunma genlerinin ifadesinin artırılması ilkesine dayanmaktadır. García-Murillo (2023), domateste patogenez ilişkili protein geni SLPR-1'in CRISPRa sistemiyle transkripsiyonel olarak aktive edildiğinde, bitkinin *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* enfeksiyonuna karşı direncinin, bitkinin agronomik özelliklerini olumsuz etkilemeden belirgin biçimde arttığını göstermiştir. Bu çalışma, CRISPRa teknolojisinin bitki savunma genlerinin ekspresyonunu artırarak hastalıklara dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesinde umut verici bir yaklaşım olduğunu ortaya koymaktadır (García-Murillo, 2023).

Bugüne kadar gerçekleştirilen çalışmalar, CRISPR/Cas teknolojisinin böceklerde gelişim, üreme, davranış, cinsiyet belirlenmesi ve insektisit direnciyle ilişkili genlerin moleküler düzeyde incelenmesine olanak tanıyan güçlü bir genom düzenleyici olduğunu göstermektedir. Bu çalışmalar, zararlı biyolojisinin daha iyi anlaşılmasına, direnç

mekanizmalarının aydınlatılmasına ve sürdürülebilir zararlı yönetim stratejilerinin geliştirilmesine önemli katkılar sağlamaktadır (Basit, 2025a; Basit, 2025b).

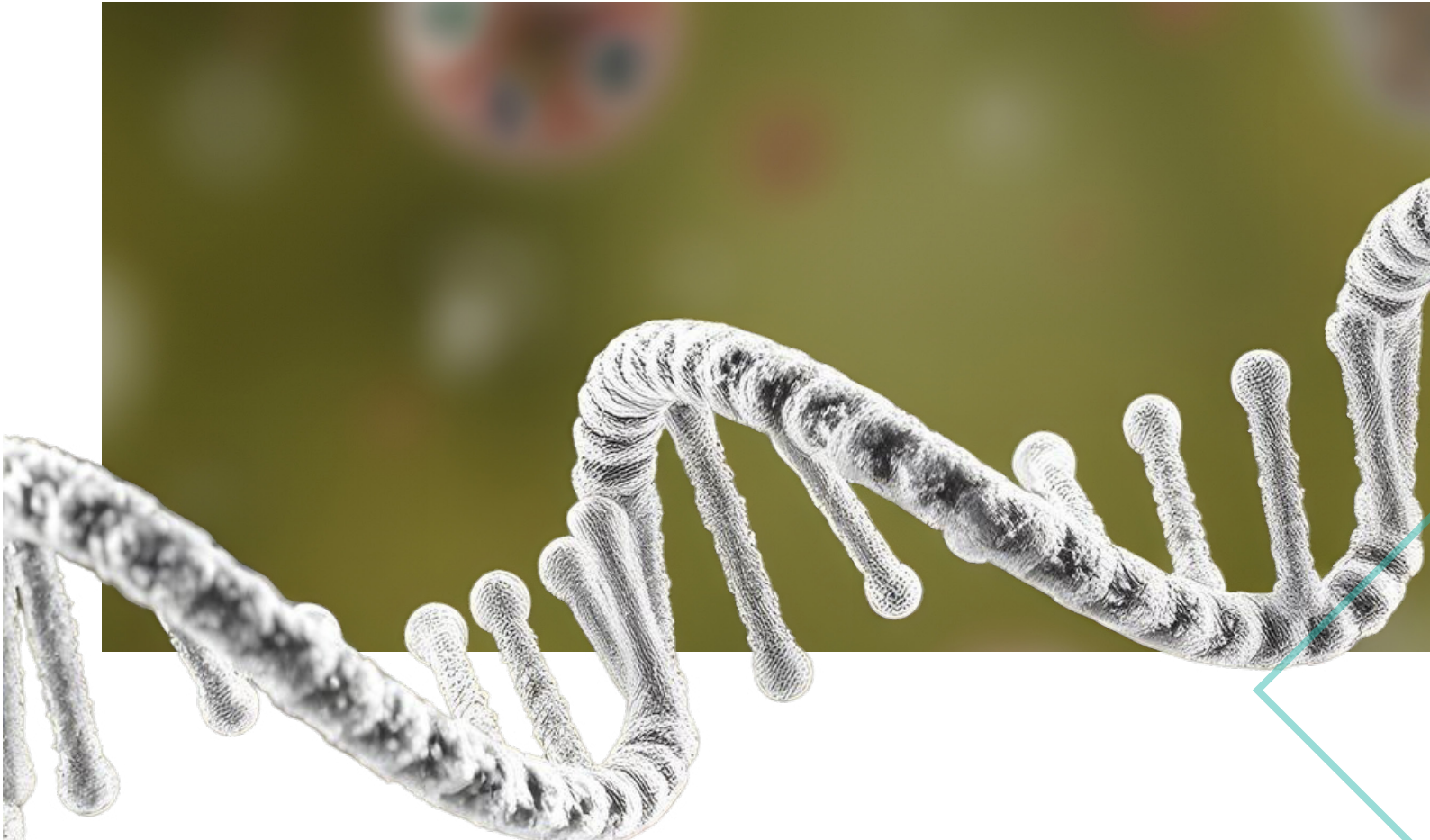
CRISPR tabanlı gene drive sistemleri ve popülasyon yönetimi

Gene drive, doğal popülasyonlarda belirli bir genetik özelliğin nesilden nesile normalden çok daha yüksek bir oranda aktarılmasını sağlayan genetik bir sistemdir. Klasik Mendel kalıtımında bir alelin yavru bireylere aktarılma olasılığı yaklaşık %50 iken, gene drive sistemleri bu oranı önemli ölçüde artırarak bazı durumlarda %100'e yaklaşan kalıtım başarısı sağlayabilmektedir (Chen, 2023; López Del Amo, 2022).

CRISPR/Cas9 tabanlı homing gene drive sistemleri üç temel bileşenden oluşur: hedef DNA dizisini kesen Cas9 enzimi, kesilecek bölgeyi belirleyen kılavuz RNA (sgRNA) ve hedef bölgenin iki yanına yerleştirilen, kopyalanmayı yönlendiren DNA dizileri (López Del Amo, 2022). Gene drive taşıyan bir birey, taşımayan bir bireyle

çiftleştiğinde, üreme hücrelerinde Cas9 ve sgRNA devreye girer ve diğer kromozomdaki normal aleli keser. Hücre bu kesici onarıırken kendi üzerindeki sağlam gene drive kromozomunu şablon olarak kullanır ve gene drive dizisini kestiği kromozoma da kopyalar. Böylece birey, normalde yalnızca bir kromozomunda taşıyacağı gene drive alelini her iki kromozomunda da taşıy hâle gelir. Bu kopyalama döngüsü her nesilde tekrarlandığında, ilgili genetik özellik popülasyonda beklenenden çok daha hızlı yayılır (Şekil 8) (Champer, 2019; López Del Amo, 2022).

Gene drive uygulamaları iki ana stratejiye ayrılır: popülasyon baskılama ve popülasyon değişimi (Legros, 2021; Chen, 2023). Popülasyon baskılamada amaç, zararlı sayısını doğrudan azaltmaktır. Bu amaçla iki farklı yaklaşım kullanılmaktadır. Birincisi, dişi eşey kromozomunu hedef alarak popülasyondaki dişi oranını düşüren cinsiyet oranı bozulmasıdır (sex ratio distortion). İkincisi ise hassas kılavuzlu kısır böcek tekniğidir (pgSIT). Bu yöntemde genetiği değiştirilmiş hatlar çaprazlanarak yalnızca kısır erkek bireyler üretilir. pgSIT, klasik



kısır böcek tekniğinin (SIT) CRISPR/Cas9 ile geliştirilmiş bir versiyonudur (Basit, 2025a; Esvelt, 2014). Popülasyon değişiminde ise amaç popülasyonu küçültmek değil, hastalık direnci gibi yararlı bir özelliği popülasyona yaymaktır (Legros, 2021; Champer, 2019).

Gene drive'ın en dikkat çekici yanı, bir genetik özelliği normalden çok daha hızlı yayabilmesidir, ancak bu güç aynı zamanda ciddi bir risk taşıır: doğaya bırakılan bir gene drive sisteminin geri döndürülmesi son derece güçtür. Bu nedenle güvenlik kaygılarını azaltmak amacıyla farklı gene drive tasarımları geliştirilmiştir (Esvelt, 2014; Legros, 2021; Mishra, 2025). Klasik homing gene drive sistemlerinde Cas9 ve sgRNA aynı genetik kaset içerisinde yer alır ve popülasyon içerisinde kalıcı olarak yayılabilecek şekilde tasarlanır (Esvelt, 2014). Buna karşılık split gene drive yaklaşımında Cas9 geni ve kopyalamayı sağlayan sgRNA kaseti farklı kromozomal konumlara yerleştirilir. Bu iki bileşen bir arada bulunmadığı sürece kopyalama gerçekleşmediğinden, sürücü etkinliği sınırlı kalır ve istem dışı yayılma riski önemli ölçüde azalır (López Del

Amo, 2022). Benzer şekilde kendi kendini sınırlayan gen drive sistemleri, belirli bir süre sonra kendiliğinden etkisini yitirecek şekilde tasarlanarak popülasyondaki yayılımın zamanla sona ermesini sağlar (John, 2025).

Bu güvenlik önlemlerine rağmen, gene drive teknolojisinin önünde hâlâ önemli teknik ve biyogüvenlik engelleri bulunmaktadır (Dodiya, 2025; Mishra, 2025). Temel güçlüklerden biri, Cas9'un oluşturduğu çift iplikli DNA kırığının HDR yerine hata eğilimli NHEJ mekanizmasıyla onarılmasıdır. Bu süreç, hedef bölgede küçük ekleme ve silinmelere yol açarak sgRNA tarafından artık tanınamayan direnç alellerinin oluşmasına neden olabilmekte ve gene drive'ın yayılımını sınırlandırabilmektedir (Champer, 2019). Ayrıca sistemin hedef dışı popülasyonlara yayılması, ekolojik, biyogüvenlik, etik ve düzenleyici açılardan da değerlendirilmesini gerektirmektedir (Esvelt, 2014; Dodiya, 2025).

Sonuç

Kimyasal pestisitlerin çevre üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı alternatif mücadele yöntemleri ve ajanları giderek önem kazanmaktadır. Bu derlemede ele alınan biyolojik ve biyoteknolojik yaklaşımlar, bu ihtiyaca farklı olgunluk düzeylerinde yanıt vermektedir.

Parazitoidler ve entomopatojen mikroorganizmalar gibi klasik biyolojik mücadele yöntemleri ile biyopestisitler, zararlı popülasyonlarını çevreye daha az zarar vererek baskı altında tutmaktadır. RNAi ve CRISPR/Cas9 tabanlı yaklaşımlar ise büyük ölçüde araştırma aşamasındadır. Bu teknolojiler arasında gene drive sistemleri, geri döndürülmesi güç genetik değişiklikler oluşturma riski nedeniyle en dikkatli yaklaşılması gereken alandır.

Tek bir teknolojinin her zararlıya ve her koşula aynı ölçüde çözüm sunması beklenemez. Entegre Zararlı Yönetimi, bu yöntemleri kültürel ve mekanik önlemlerle birlikte belirli bir öncelik sırasına göre bir araya getirerek direnç gelişimini ve çevresel etkiyi azaltmayı hedefler. Bu alandaki ilerleme, biyoloji, tarım ve kimya disiplinlerinin iş birliğine bağlı olacaktır.





KAYNAKLAR

- Akhtar, N., Abbas, D., Idnan, M., Nawaz, F. (2025). History, diversity, and community dynamics of biocontrol agents. In *Bio-control agents for sustainable agriculture: Diversity, mechanisms and applications* (pp. 1-21) Springer Nature.
- Aliciaslan, M., Erbasan, E., Erendor, F., Sanlioglu, S. (2026). Advances in CRISPR base editing: From molecular evolution to therapeutic applications in genomic medicine. *J. Cell. Mol. Med.*
- Anandhi, S., Saminathan, V.R., Yasotha, P., Saravanan, P.T., Rajanbabu, V. (2020). Nano-pesticides in pest management. *J. Entomology and Zoology Studies*, 8(4), 685–690.
- Anjaneyulu, B., Chauhan, V., Mittal, C., Afshari, M. (2024). Innovative nanocarrier systems: A comprehensive exploration of recent developments in nano-biopesticide formulations. *J. Environmental Chemical Engineering*, 12, 113693.
- Assadpour, E., Karaça, A.C. (2024). Application of essential oils as natural biopesticides: recent advances. *Critical Reviews*, in: *Food Science and Nutrition*, 64(19), 6477-6497.
- Ayilara, M.S., Adeleke, B.S., Akinola, S.A., Fayose, C.A., Adeyemi, U.T., Gbadegesin, L.A. (2023). Biopesticides as a promising alternative to synthetic pesticides: a case for microbial pesticides, phytopesticides, and nanobiopesticides. *Front. in Microbiol.*
- Basit, A., Mobarak, S.H., Liu, T.X. (2025a). CRISPR/Cas9-based strategies for effective control of *Spodoptera frugiperda* in maize: a review of precision gene editing approaches. *Entomologia Generalis*, 45(3), 651–666.
- Basit, A., Smagghe, G., Mobarak, S.H., Humza, M., Gui, S.H., Liu, T.X. (2025b). Comparing RNAi and CRISPR in the fall armyworm: a meta-analysis, mechanisms, and perspectives. G. Smagghe (ed.), *RNA Interference in Agriculture: Basic Science to Applications* (ss. 551-573). Springer.
- Basnet, P., Dhital, R., Rakshit, A. (2022). Biopesticides: a genetics, genomics, and molecular biology perspective. *Biopesticides*, 107-116.
- Basu, P., Ngo, H.T., Aizen, M.A., Garibaldi, L.A., Gemmill-Herren, B., Imperatriz-Fonseca, V. (2024). Pesticide impacts on insect pollinators: Current knowledge and future research challenges. *Sci. Total Environ.*, 954, 176656.
- Boldorini, G.X., Mccary, M.A., Romero, G.Q., Mills, K.L., Sanders, N.J., Reich, P.B., Gonçalves-Souza, T. (2024). Predators control pests and increase yield across crop types and climates: a meta-analysis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 291(2018), 20232522.
- Bravo, A., Gill, S.S., Soberón, M. (2007). Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon*, 49(4), 423-435.
- Cerna-Chávez, E., Rodríguez-Rodríguez, J.F., García-Conde, K.B., Ochoa-Fuentes, Y.M. (2024a). Potential of *Streptomyces avermitilis*: A review on avermectin production and its biocidal effect. *Metabolites*, 14(7), 374.
- Cerna-Chávez, E., Orozco-Plancarte, A., Ochoa-Fuentes, Y.M., Landeros-Flores, J., Jasso de Rodríguez, D., Hernández-Pérez, A. (2024b). In vitro effectiveness of silicon dioxide and graphene nanoparticles combined with extracts of *Bacillus amyloliquefaciens* against phytopathogenic fungi. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 15(8).
- Champer, J., Chung, J., Lee, Y.L., Liu, C., Yang, E., Wen, Z., Clark, A.G., Messer, P.W. (2019). Molecular safeguarding of CRISPR gene drive experiments. *eLife*, 8, e41439.
- Chellappan, M., Ranjith, M.T. (2023). Insect predators. In *Insect predators in pest management* (pp. 1-54). CRC Press
- Chen, J., Xu, X., Champer, J. (2023). Assessment of distant-site rescue elements for CRISPR toxin-antidote gene drives. *Frontiers in Bioeng. and Biotechnol.*, 11, 1138702.
- Cherif, A., Mansour, R., Sun, C., Grissa-Lebdi, K. (2022). Lethal effects of nano and commercial formulations of abamectin on *Tuta absoluta* (Meyrick) and its mirid predators *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis*. *International J. Tropical Insect Sci.*, 42, 2183–2193.
- Christiaens, O., Tardajos, M.G., Martínez Reyna, Z.L., Dash, M., Dubruel, P., Smagghe, G. (2018). Increased RNAi efficacy in *Spodoptera exigua* via the formulation of dsRNA with guanylated polymers. *Frontiers in Physiology*, 9, 316.
- Daraban, G.M., Hlihor, R.-M., Suteu, D. (2023). Pesticides vs. biopesticides: from pest management to toxicity and impacts on the environment and human health. *Toxics*, 11, 983.



- Dodiya, R.D., Koosi, S.T., Chaudhary, F.K., Patel, P.S., Barad, A.H. (2025). CRISPR/Cas9: a new frontier in biocontrol strategies for insect pest management. D. Mitra (ed.), *Bio-control Agents for Sustainable Agriculture* (ss. 511–536). Springer.
- Esvelt, K.M., Smidler, A.L., Catteruccia, F., Church, G.M. (2014). Concerning RNA-guided gene drives for the alteration of wild populations. *eLife*, 3, e03401.
- Eychenne, M., Girard, P.-A., Frayssinet, M., Lan, L., Pagès, S., Duvic, B., Nègre, N. (2022). Mutagenesis of both prophenoloxidases in the fall armyworm induces major defects in metamorphosis. *J. Insect. Physiol.*, 139, 104399.
- FAO. (2022). *International Plant Health Conference - Report*. Rome: FAO.
- FAO. (2025a). *World Food and Agriculture - Statistical Yearbook 2025*. Rome. <https://doi.org/10.4060/cd4313en>
- FAO. (2025b). *FAOSTAT: Pesticides Use*. [08.07.2026], <https://www.fao.org/faostat/en/#data/RP>
- Gacem, M.A., Boukerouis, D., Telli, A., Ould-El-Hadj-Khelil, A., Wink, J. (2021). RNAi-based system: a new tool for insects' control. *CRISPR and RNAi Systems* (ss. 509–534). Elsevier.
- García-Murillo, L., Valencia-Lozano, E., Priego-Ranero, N.A., Cabrera-Ponce, J.L., Duarte-Aké, F.P., Vizuet-de-Rueda, J.C., Rivera-Toro, D.M., Herrera-Ubaldo, H., de Folter, S., Alvarez-Venegas, R. (2023). CRISPRa-mediated transcriptional activation of the SiPR-1 gene in edited tomato plants. *Plant Science*, 329, 111617.
- Giunti, G., Campolo, O., Laudani, F., Zappalà, L., Palmeri, V. (2021). Bioactivity of essential oil-based nano-biopesticides toward *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). *Industrial crops and products*, 162, 113257.
- Giunti, G., Laudani, F., Lo Presti, E., Bacchi, M., Palmeri, V., Campolo, O. (2022). Contact toxicity and ovideterrent activity of three essential oil-based nano-emulsions against the olive fruit fly *Bactrocera oleae*. *Horticulturae*, 8(3), 240.
- Gu, J., Wang, J., Bi, H., Li, X., Merchant, A., Zhang, P., Zhang, Q., Zhou, X. (2022). CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of sex-specific Doublesex splicing variants leads to sterility in *Spodoptera frugiperda*, a global invasive pest. *Cells*, 11(22), 3557.
- Haq, A.U., Majeed, A., Ilahi, F., Kareem, A., Murtaza, A. (2026). Nano-biopesticides and integrated pest management: emerging technologies, mechanisms, and pathways to sustainable agriculture. *Plant and Crop Letters*, 6, 61–77.
- Hillary, V.E., Ceasar, S.A. (2022). Prime editing in plants and mammalian cells: Mechanism, achievements, limitations, and future prospects. *BioEssays*, 44(9), 2200032.
- Holder, D.J., Keyhani, N.O. (2005). Adhesion of the entomopathogenic fungus *Beauveria (Cordyceps) bassiana* to substrata. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(9), 5260–5266.
- Hyder, M., Haq, I.U., Akhtar, M.R., Ghafar, M.A., Bukero, A., Ali, H., Nawaz, M., Shah, A.N. (2025). *Innovations in biological pest control*. H. Ali (ed.), *Integrated Pest Management: Emerging Technologies and Sustainable Approaches* (ss. 208–220). CRC Press.
- Jain, D., Saharan, V., Pareek, S. (2016). Current status of *Bacillus thuringiensis*: Insecticidal crystal proteins and transgenic crops. J.M. Al-Khayri, S.M. Jain, D.V. Johnson (eds.), *Advances in Plant Breeding Strategies: Agronomic, Abiotic and Biotic Stress Traits* (ss. 657–702). Springer.
- Jampilek, J., Kráľová, K. (2022). Biopesticides for management of arthropod pests and weeds. *Biopesticides* (ss. 133–184). Elsevier.
- Jansen, R., Embden, J.D.V., Gastra, W., Schouls, L.M. (2002). Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes. *Molecular Microbiol.*, 43(6), 1565–1575.
- Jha, S.K., Monobrullah, M., Krishna, B. (2025). Recent advancements in biological control for sustainable pest management. *Tropical Agriculture (Trinidad)*, 102(4), 596–608.
- Jiang, Y., Chen, Y., Tian, D., Shen, F., Wan, X., Xu, L. (2020). Fabrication and characterization of lignin-xylan hybrid nanospheres as pesticide carriers with enzyme-mediated release property. *Soft Matter*, 16(39), 9083–9093.
- John, A., Riat, A.K., Bhat, K.A., Ali, A. (2025). CRISPR-Cas systems in insects and other arthropods. D. Mitra (ed.), *Bio-control Agents for Sustainable Agriculture* (ss. 104–123). Springer.



- Kashyap, U., Manyapu, V., Kaur, R., Gupta, H., Prashanthkumar, M. C. (2026). Biological control and biopesticides: microbial protection against crop pests. Leveraging Microbial Technology for Food Security (ss. 161-179). CRC Press.
- Kumar, J., Ramlal, A., Mallick, D., Mishra, V. (2021). An overview of some biopesticides and their importance in plant protection for commercial acceptance. *Plants*, 10(6), 1185.
- Lawrence, P.K., Koundal, K.R. (2002). Plant protease inhibitors in control of phytophagous insects. *J. Biotechnol.*, 5(1), 5-6.
- Legros, M., Marshall, J.M., Macfadyen, S., Hayes, K.R., Sheppard, A., Barrett, L.G. (2021). Gene drive strategies of pest control in agricultural systems: Challenges and opportunities. *Evolutionary Applications*, 14(9), 2162–2178.
- Lengai, G.M., Muthomi, J.W., Mbega, E.R. (2020). Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. *Sci. African*, 7, e00239.
- Liu, F., Wu, K., Hua, W., Wang, L., Tang, R., Ling, E. (2025a). Advances in the novel functions of insect prophenoloxidase. *Developmental and Compar. Immunol.*, 170, 105428.
- Liu, Y., Zhang, J., Li, S., Chai, L., Chang, B.H., Malak, M., El Wakil, A., Moussian, B., Zhao, Z., Zeng, Z., Zhu, K.Y., Zhang, J. (2025b). Chitosan nanoparticle-mediated delivery of dsRNA for enhancing RNAi efficiency in *Locusta migratoria*. *Pest Management Science*, 81, 5260–5269.
- Liu, X., Cao, A., Yan, D., Ouyang, C., Wang, Q., Li, Y. (2019). Overview of mechanisms and uses of biopesticides. *International J. Pest Management*.
- López Del Amo, V., Sanz Juste, S., Gantz, V.M. (2022). A nickase Cas9 gene-drive system promotes super-Mendelian inheritance in *Drosophila*. *Cell Reports*, 39(8), 110843.
- Malaikozhundan, B., Vaseeharan, B., Vijayakumar, S., Thangaraj, M.P. (2017). *Bacillus thuringiensis* coated zinc oxide nanoparticle and its biopesticidal effects on the pulse beetle, *Callosobruchus maculatus*. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, 174, 306–314.
- Marrone, P.G. (2025). Increasing the use of biological pesticides in integrated pest management programs. *Frontiers in Insect Sci.*, 5, 1552361.
- Mawcha, K.T., Malinga, L., Muir, D., Ge, J., Ndolo, D. (2025). Recent advances in biopesticide research and development with a focus on microbials. *F1000Research*, 13, 1071.
- Mishra, I., Nath, P., Singh, A., Chandra, S., Joshi, N., Bahuguna, S., Patel, A., Singh, J. (2025). From laboratory to fields: unlocking the potential of CRISPR-driven biopesticides. *Biopesticides Int.*, 21(1), 1–13.
- Oyesola, O.L., Kinge, R.T., Obembe, O.O. (2025). *Trichoderma*: A review of its mechanisms of action in plant sustainable disease control. *IOP Conference Series: Earth and Environ. Sci.*, 1492, 012008.
- Ownley, B.H., Gwinn, K.D., Vega, F.E. (2010). Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: Ecology and evolution. *BioControl*, 55(1), 113–128.
- Palermo, G., Ricci, C.G., Fernando, A., Basak, R., Jinek, M., Rivalta, I., Batista, V.S., McCammon, J.A. (2017). Protospacer adjacent motif-induced allostery activates CRISPR-Cas9. *J. Am. Chem. Soc.*, 139(45), 16028–16031.
- Palma, L., Muñoz, D., Berry, C., Murillo, J., Caballero, P. (2014). *Bacillus thuringiensis* toxins: An overview of their biocidal activity. *Toxins*, 6(12), 3296–3325.
- Pan, X., Yin, K., Tian, Y. (2017). Adsorption of insecticidal crystal protein Cry11Aa onto nano-Mg(OH)₂: effects on bioactivity and anti-ultraviolet ability. *J. Agr. Food Chem.*, 65, 9428–9434.
- Pardey, P.G., Beddow, J.M., Hurley, T.M., Beatty, T.K.M., Eidman, V.R. (2014). A bounds analysis of world food futures: Global agriculture through to 2050. *Australian J. Agr. Res. Econom.*, 58(4), 571–589.
- Pascoli, M., de Albuquerque, F.P., Calzavara, A.K., Tinoco-Nunes, B., Oliveira, W.H.C., Gonçalves, K.C. (2020). The potential of nanobiopesticide based on zein nanoparticles and neem oil for enhanced control of agricultural pests. *J. Pest Sci.*, 93(2), 793–806.
- Paulraj, M.G., Ignacimuthu, S., Gandhi, M.R., Shajahan, A., Ganesan, P., Packiam, S.M., Al-Dhabi, N.A. (2017). Comparative studies of tripolyphosphate and glutaraldehyde cross-linked chitosan-botanical pesticide nanoparticles and their agricultural applications. *Int. J. Biol. Macromol.*, 104, 1813–1819.
- Půža, V. (2014). Control of insect pests by entomopathogenic nematodes. In *Principles of Plant-Microbe Interactions: Microbes for Sustainable Agriculture* (pp. 175-183). Springer.
- Quiroga-Murcia, D.E., dos Santos, E.A., De Schutter, K., Zotti, M.J. (2025). *Euschistus heros* RNase silencing: dsRNA stability and effects on RNAi susceptibility. *J. Insect Physiol.*, 167, 104908.



- Rajkumar, V., Gunasekaran, C., Paul, C.A., Dharmaraj, J. (2020). Development of encapsulated peppermint essential oil in chitosan nanoparticles: characterization and biological efficacy against stored-grain pest control. *Pesticide Biochem. Physiol.*, 170, 104679.
- Ramanujam, B., Rangeshwaran, R., Sivakumar, G., Mohan, M., Yandigeri, M.S. (2014). Management of insect pests by microorganisms. *Proc. Indian Nat. Sci. Acad.*, 80, 445–471.
- Rao, W., Zhan, Y., Chen, S., Xu, Z., Huang, T., Hong, X. (2018). Flowerlike Mg(OH)₂ cross-nanosheets for controlling Cry1Ac protein loss: evaluation of insecticidal activity and biosecurity. *J. Agri. Food Chem.*, 66(14), 3651-3657.
- Reinders, J.D., Moar, W.J., Head, G.P., Hassan, S., Meinke, L.J. (2023). Effects of SmartStax® and SmartStax® PRO maize on western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte) larval feeding injury and adult life history parameters. *PLOS ONE*, 18(7), e0288372.
- San-Blas, E., Sulbaran, Y., Lankin, G. (2024). The biology of entomopathogenic nematodes. *Entomopathogenic nematodes as biological control agents* (pp. 40-58). GB: CABI.
- Scott, J.G. (2008). Unraveling the mystery of spinosad resistance in insects. *J. Pesticide Sci.*, 33(3), 221-227.
- Senthil-Nathan, S. (2015). A review of biopesticides and their mode of action against insect pests. *Environmental Sustainability*. Springer.
- Sharma, Y., Padha, S., Dhar, A., Baweja, V., Singh, I.K. (2023). RNAi-based biopesticides: a review of recent studies in lepidopteran insects. *Proc. Zoological Soc.*, 76, 373-381.
- Shi, H., Al-Sayyad, N., Wasko, K.M., Trinidad, M.I., Doherty, E., Vohra, K., Boger, R.S., Colognori, D., Cofsky, J.C., Skopintsev, P., Bryant, Z., Doudna, J.A. (2025). Rapid two-step target capture ensures efficient CRISPR-Cas9-guided genome editing. *Molecular Cell*, 85(9), 1730–1742.
- Silva, E.F.D., Santos, F.A.L.D., Pires, H.M., Bastos, L.M., Ribeiro, L.N.D.M. (2025). Lipid nanoparticles carrying essential oils for multiple applications as antimicrobials. *Pharmaceutics*, 17(2), 178.
- Singh, S., Rahangdale, S., Pandita, S., Saxena, G., Upadhyay, S. K., Mishra, G., Verma, P.C. (2022). CRISPR/Cas9 for insect pests management: a comprehensive review of advances and applications. *Agriculture*, 12(11), 1896.
- Tadesse, Z., Nemomissa, S., Lemessa, D. (2023). Insect pest predation by arthropods and birds in different land use types with varying woody vegetation composition in agroecosystems of central Oromia, Ethiopia. *Acta Oecologica*, 121, 103954.
- Tandon, V., Rana, A., Kapoor, P., Katoch, A. (2024). Biocontrol potential and specificity of entomopathogenic fungi. Springer.
- Thakur, N., Kaur, S., Jhamta, S. (2025). Next-generation entomopathogenic nematode formulations: Advancing sustainable development. *Curr. Microbiol.*, 82, 592.
- Vero, S., Garmendia, G., Allori, E., Sanz, J. M., Gonda, M., Alconada, T. (2023). Microbial pesticides: diversity, scope, and mechanisms involved in plant disease control. *Diversity*, 15, 457.
- Vettraino, A.M., Zikeli, F., Scarascia Mugnozza, G., Vinciguerra, V., Tabet, D., Romagnoli, M. (2022). Lignin nanoparticles containing essential oils for controlling *Phytophthora cactorum* diseases. *Forest Pathology*, 52(2), e12739.
- Vishwakarma, P., Kumar, N., Khurana, S.P. (2026). Behavior of entomopathogenic bacteria. *Behavior of Insect Natural Enemies*, 185-196.
- Vos, R., Bellù, L.G. (2019). Global trends and challenges to food and agriculture into the 21st century. *Sustainable food and agriculture*, 11-30.
- Wang, J., Wang, H., Liu, S., Liu, L., Tay, W.T., Walsh, T.K., Yang, Y., Wu, Y. (2017). CRISPR/Cas9 mediated genome editing of *Helicoverpa armigera* with mutations of an ABC transporter gene *HaABCA2* confers resistance to *Bacillus thuringiensis* Cry2A toxins. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 87, 147-153.
- Wu, K., Shirk, P.D., Taylor, C.E., Furlong, R.B., Shirk, B.D., Pinheiro, D.H., Siegfried, B.D. (2018). CRISPR/Cas9 mediated knockout of the abdominal-A homeotic gene in fall armyworm moth (*Spodoptera frugiperda*). *PLOS ONE*, 13(12), e0208647.
- Wu, Q., Gao, G., Li, Y., Zhang, C., Yan, H., Xu, N., Tan, Y. (2025). Nanoparticle-loaded dsRNA delivery system for pesticides: Status and perspective. *Advanced Agrochem*, 4, 235–248.
- Zhang, X., Wang, Y., Miao, X., Guan, R., Li, H. (2026). The incorporation of methylated nucleotides can significantly improve the stability of dsRNA and efficiency of pests control. *Chem. Eng. J.*, 534, 174719.
- Zimmermann, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Sci. Technol.*, 17(6), 553-596.