

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***HELICOSPORIDIUM* (CHLOROPHYTA) PATOJENİNİN *RHIZOPHAGUS GRANDIS*
(COLEOPTERA: RHIZOPHAGIDAE) ÜRETİM LABORATUARLARINDAKİ
VARLIĞI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Onur TOSUN

**AĞUSTOS 2008
TRABZON**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

***HELICOSPORIDIUM (CHLOROPHYTA) PATOJENİNİN RHIZOPHAGUS
GRANDIS (COLEOPTERA: RHIZOPHAGIDAE) ÜRETİM
LABORATUARLARINDAKİ VARLIĞI***

Onur TOSUN

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nce
“Yüksek Lisans (Biyoloji)”
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 11.08.2008

Tezin Savunma Tarihi : 04.08.2008

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Mustafa YAMAN

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Bilal KUTRUP

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Ertuğrul SESLİ

Enstitü Müdür Vekili : Doç. Dr. Salih TERZİOĞLU

Trabzon 2008

ÖNSÖZ

“*Helicosporidium* (Chlorophyta) Patojeninin *Rhizophagus grandis* (Coleoptera: Rhizophagidae) Üretim Laboratuvarlarındaki Varlığı” adlı bu tez, Biyolojik mücadele amaçlı olarak Orman Bakanlığı tarafından kurulan predatör böcek üretim laboratuvarlarında istenmeyen enfeksiyon olan patojenlerin varlığı ve dağılımı üzerine yapılan bir çalışma olup, bu çalışmanın bu alanda çalışacak birçok bilim adamına bir temel örnek teşkil edeceğini ümit ediyorum.

Tez süresince Yüksek Lisans tez danışmanlığımı üstlenerek, gerek konu seçimi, gerekse çalışmaların yürütülmesi sırasında deneyimlerini benimle paylaşan, yardım ve desteğini esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Mustafa YAMAN’a, tez çalışması süresince yardımlarını esirgemeyen Zooloji II laboratuvarı çalışanları Çiçek AYDIN, Nejla ÖZCAN ve Hilal BAKİ ‘ye, yardımlarını ve desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen sevgili arkadaşlarıma, TÜBİTAK (Proje no: 107T166)’ya ve tez süresince her türlü fedakârlıkta bulunan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Onur TOSUN
Trabzon 2008

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET.....	V
SUMMARY.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ.....	VIII
SEMBOLLER DİZİNİ	IX
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Orman Zararlısı Böcekler ve Etkileri.....	2
1.3. Zararlı Böceklerle Mücadele Yöntemleri.....	3
1.3.1. Kimyasal Mücadele ve Yan Etkileri	4
1.3.1.1. İnsektisitlerin Böcekler Etkisi.....	4
1.3.1.2. İnsektisitlerin İnsanlar Etkisi.....	5
1.3.1.3. İnsektisitlerin Çevreye Etkisi.....	5
1.3.2. Biyolojik Mücadele.....	6
1.3.2.1. Biyolojik Mücadelenin Kimyasal Mücadeleye Göre Avantajları.....	6
1.3.2.2. Biyolojik Mücadelede Predatör Böcek Kullanımı.....	7
1.4. <i>Dendroctonus micans</i>	8
1.4.1. <i>Dendroctonus micans</i> İle Mücadele Yöntemleri ve Doğal Düşmanları.....	11
1.4.1.1. Türkiye’de <i>D. micans</i> Zarar Durumu ve Mücadele Çalışmaları.....	11
1.5. <i>Rhizophagus grandis</i> ve Biyolojik Mücadele Ajanı Olarak Kullanılma Potansiyeli.....	13
1.5.1. <i>Rhizophagus grandis</i> ’in Laboratuar Şartlarında Üretilmesi İçin Üretim Laboratuarlarının Hazırlanması.....	15
1.5.2. <i>Rhizophagus grandis</i> ’in Toplanması.....	16
1.5.3. <i>Rhizophagus grandis</i> ’in Üretilmesi.....	17
1.5.4. <i>Rhizophagus grandis</i> ’in Ergin ve Larvalarının Böcekli Sahalara Verilmesi.....	20
1.6. <i>Helicospodidium</i> sp.....	21
1.6.1. <i>Helicospodidium</i> ’un Hayat Döngüsü.....	22
1.7. Tezin Amacı.....	25
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	26

2.1.	Böceklerin Elde Edilmesi.....	26
2.2.	Mikroskopik Çalışmalar.....	27
2.2.1	Işık Mikroskobu Çalışmaları.....	27
2.2.1.1.	Giemsa Boyama.....	27
2.2.2.	Elektron Mikroskobu Çalışmaları.....	28
2.2.2.1.	Resin'e Gömme İşlemi ve Elektron Mikroskobu Çalışması.....	28
2.2.3.	Doku Preparatı Çalışmaları.....	29
2.2.3.1.	Doku Preparatı Hazırlanma Aşmaları ve Boyama İşlemleri.....	29
2.3.	<i>R. grandis</i> Predatör Böceğine <i>Helicosporidium</i> Patojeninin Bulaşma Şekli Üzerine Yapılan <i>Helicosporidium</i> Biyoassay Deneyleleri.....	30
3.	BULGULAR.....	32
3.1.	<i>R. grandis</i> Böceklerinde <i>Helicosporidium</i> Patojeninin Belirlenmesi.....	32
3.1.1.	Işık Mikroskobu İle <i>Helicosporidium</i> Patojeninin Varlığının Tespit Edilmesi.....	32
3.1.2.	Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) İle <i>Helicosporidium</i> 'un İncelenmesi...37	
3.2.	<i>R. grandis</i> Predatör Böceğine <i>Helicosporidium</i> Patojeni Bulaşma Yolu Üzerine Yapılan Biyoassay Deneyleler.....	39
3.3.	<i>Helicosporidium</i> Patojeninin <i>R. grandis</i> Popülasyonlarındaki Dağılımı.....	40
3.4.	<i>R. grandis</i> Örneklerinden Tespit Edilen Diğer Patojenler.....	42
3.4.1.	<i>Metschnikowia</i> sp.....	42
3.4.2.	<i>Mattesia</i> sp.....	43
3.4.3.	<i>Microsporidia</i> sp.....	44
4.	TARTIŞMA.....	50
5.	SONUÇLAR.....	58
6.	ÖNERİLER.....	59
7.	KAYNAKLAR.....	60
	ÖZGEÇMİŞ.....	67

ÖZET

Uzun yıllar boyunca orman zararlısı böceklere karşı kimyasal mücadele yöntemleri kullanılarak mücadele yapılmıştır. Tüm dünyada kimyasal ilaçların yerini gelecekte biyolojik mücadele olarak bilinen bir yöntemin alacağı tartışılmaktadır. Önemli bir orman zararlısı olan dev kabuk böceği *Dendroctonus micans* Türkiye’de Artvin’den Ordu’ya kadar olan bölgedeki orman alanlarında önemli zararlar yapmaktadır. *D. micans*’ta bir entomopatojenik alg olan *Helicosporidium* sp.’nin varlığı tespit edilmiştir. Daha sonra aynı patojenin predatör böcek olan *Rhizophagus grandis*’te de tespit edilmiştir. *D. micans* zararlısı ile mücadele amaçlı Orman Bakanlığı tarafından birçok *R. grandis* üretim laboratuvarları kurulmuştur. Bu tez çalışmasında *Helicosporidium* enfeksiyonunun üretim laboratuvarlarındaki varlığı araştırılmıştır.

Tez çalışması süresince Artvin, Trabzon, Giresun ve Ordu illerinde bulunan predatör böcek *R. grandis* üretim laboratuvarlarından elde edilen toplam 2963 *R. grandis* örneklerinden 93 tanesinde *Helicosporidium* enfeksiyonuna rastlandı (%3,1). *Helicosporidium* patojeninin karakteristik safhası kist safhasıdır, tespit edilen kistlerin çapı $4,78 \pm 0,5 \mu\text{m}$ (n = 124) olarak belirlendi. Bu ölçülerin bu böceğin doğal ortamda avı olan *D. micans*’tan izole edilen *Helicosporidium* ile aynı ölçülere sahip olduğu belirlenmiştir. Enfeksiyonun bol olduğu numunelerde *Helicosporidium* patojeninin hayat döngüsündeki birçok önemli safha gözlemlendi. Giamsa boyama ve doku preparatı çalışmaları yapıldı. Elektron mikroskopu çalışmaları ile patojenin karakteristik safhaları aydınlatıldı. Dağılımına bakıldığında *R. grandis* böceklerinde en yüksek enfeksiyona 2008 yılında mayıs ayında Trabzon’da rastlandı ve %52,6 olarak tespit edildi, 2006 yılında enfeksiyon %46,6 iken 2007 yılında %17 civarında tespit edildi. En düşük enfeksiyon ise %0,8 ile Trabzon ilindeki laboratuvarlarda rastlandı. Laboratuvar incelemeleri öncesinde örnekler dişi ve erkek ayrımına göre ayrıldı ve cinsiyete göre enfeksiyonun varlığı araştırıldı. Dişilerde enfeksiyon %3,1 erkek böceklerde %3,6 olarak tespit edildi.

Genel olarak enfeksiyon her yıl farklı oranlarda artış veya azalma göstermektedir. Anaç böcek alımı için, kütüklerde üretime başlama öncesi ve sonrasında uzman kişilerce böceklerdeki enfeksiyon varlığı tespit edilmelidir. Bu ve benzeri stratejilerle enfeksiyonun varlığı kontrol altına alınmalıdır.

Anahtar Kelimeler: *Rhizophagus grandis*, *Helicosporidium* sp., Biyolojik mücadele.

SUMMARY

Presence of *Helicosporidium* (Chlorophyta) in *Rhizophagus grandis* (Coleoptera: Rhizophagidae) Rearing Laboratories

The battle against forest pests have been done by chemicals for a long time. It is discussed that biological control will supersede chemical pesticides in the world in the future. Great spruce bark beetle *Dendroctonus micans*, is one of the important forest pests, they damage forest areas from Artvin to Ordu in Turkey. Entomopathogenic alg *Helicosporidium* sp. was first found in *D. micans*, later the same pathogen was determined from predator beetle *R. grandis*. Several mass-rearing laboratories of *R. grandis* were build to fight with *D. micans* by the Turkish Ministry of Forestry. In this study, presence of *Helicosporidium* infection was investigated at the *R. grandis* rearing laboratories.

During thesis studies a total of 2963 beetles obtained from *R. grandis* rearing laboratories from Artvin, Trabzon, Giresun and Ordu provinces. 93 of the examined beetles were found to be infected with *Helicosporidium* sp. (3.1%). The characteristic stage of *Helicosporidium* infection is the round cyst, which were measured as $4.78 \pm 0.5 \mu\text{m}$ (n = 124) in this study. These measurements are the same as the measurements of the *Helicosporidium* infecting *D. micans*, the natural pray of *R. grandis*. In samples with dense infections nearly all life stages of the *Helicosporidium* pathogen were observed. These samples were dyed with Giemsa to prepare dry smears and also tissue smears were prepared and both were examined under the light microscope. The characteristic life stages of the pathogen were studied under TEM and detailed morphology was revealed. Looking at the distribution of the pathogen, highest infection rate was in Trabzon in May 2008 as 52.6%. The infection rate in 2006 was 46.6% but in 2007 it was around 17%. Before laboratory examinations samples of beetles were separated according to gender and the distribution of the pathogen was studied in terms of gender discrimination. Infection rates of male and female beetles were found as 3.6% and 3.1% respectively.

In general infection rates are different each year increasing or decreasing in different ratios. Before obtaining beetles for breeding, the beetle populations in laboratories should be examined by specialists for prevalence of infection and the healthy beetles should be used for mass-rearing. The prevalence of the pathogen could be suppressed by such strategies.

Key Words: *Rhizophagus grandis*, *Helicosporidium* sp., Biological control

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. <i>D. micans</i> 'ın ergin ve larvaları.....	8
Şekil 2. <i>D. micans</i> 'ın Dünyada'ki dağılımı.....	9
Şekil 3. <i>D. micans</i> 'ın larva ve erginlerinin Trabzon (Hıdırnebi yaylası) ladin ormanlarında bir ladin ağacındaki zarar durumu.....	10
Şekil 4. <i>R. grandis</i> ergin ve larvası.....	14
Şekil 5. <i>R. grandis</i> üretim laboratuvarı Maçka.....	16
Şekil 6. Maçka <i>R. grandis</i> üretim laboratuvarı böceklerin kütüklere verilme aşamaları.....	18
Şekil 7. <i>R. grandis</i> 'te akar ve mantar enfeksiyonunun makroskopik görüntüsü.....	20
Şekil 8. <i>R. grandis</i> biyoassay deneyleri.....	31
Şekil 9. <i>Helicosporidium parasiticum</i> patojeni hayat döngüsü.....	34
Şekil 10. Giemsa boyalı <i>Helicosporidium</i> patojeni preparatı.....	36
Şekil 11. <i>R. grandis</i> doku preparatında <i>Helicosporidium</i> patojeninin varlığı.....	37
Şekil 12. <i>Helicosporidium</i> patojeninin TEM elektron mikroskobu resimleri.....	38
Şekil 13. <i>R. grandis</i> örneklerinden tespit edilen diğer patojenler.....	45
Şekil 14. <i>R. grandis</i> için aylara göre dağılım Corelasyon testi.....	54
Şekil 15. <i>R. grandis</i> için Helicospor enfeksiyonunun cinsiyet ayrımı Khi kare testi.....	54

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Biyolojik Mücadelenin Kimyasal Mücadeleye Göre Avantajları.....	7
Tablo 2. <i>Helicospordium</i> patojeni biyoassay deneyleri sonuç tablosu.....	40
Tablo 3. <i>R. grandis</i> böceğinin dişi ve erkeklerinde <i>Helicospordium</i> patojeninin dağılımı.	41
Tablo 4. <i>R. grandis</i> böceğinden 2006 ve 2008 yılları arası tespit edilen patojenler.....	46

SEMBOLLER DİZİNİ

TEM	: Transmisyon Elektron Mikroskobu
Biy. Müc.	: Biyolojik mücadele
Biy.+Mek.	: Biyolojik ve Mekanik mücadele

1. GENEL BİLGİLER

1.1.Giriş

Hızlı nüfus artışının beraberinde getirmiş olduğu kentleşmeyle birlikte orman ürünlerine olan ihtiyaç ta artmaktadır. Türkiye topraklarının % 36'sın da tarım yapılırken % 26'lık alan orman, % 27'lik alan çayır ve mera, % 11'lik alan ise yerleşim alanı olarak kullanılmaktadır. Mevcut orman alanları hem bu ihtiyacı karşılamak, hem de tarım ve mera gibi değişik arazilere dönüştürmek suretiyle hızlı bir şekilde azalmaktadır. Orman varlığının bir ülkenin geleceği ve canlı hayatının devamlılığı için ihtiva ettiği önem oldukça fazladır.

Orman varlığımızın yok olmasına neden olan insan aktiviteleri ve doğal faktörler nedeni ile arazi örtüsü hızla değişmektedir, enerji kaynaklarının kullanımında doğaya zarar verilmektedir (Tağıl, 2006). Türkiye ormanlarında görülen abiyotik faktörlerden başlıca olanlar; fırtına, kar, çığ, yüksek sıcaklık ve yağmur (sel) olarak görülmektedir. Türkiye ormanlarında abiyotik zararlılardan dolayı görülmekte olan orman kaybı oldukça yüksek miktarlardadır (Kanat, 2000). Bütün bu doğal kayıpların yanında biyotik zararlılardan biri olan orman zararlısı böceklerin ormanlara verdiği zararlar ve neden oldukları kayıplar oldukça yüksek seviyelere gelmiştir. Zararlı böceklere karşı bitkilerin korunması için daha çok kimyasal insektisitler kullanılarak yapılmaktadır. Kimyasal insektisitler kullanılırken, bunların birçok yan etkileri ortaya çıkmaktadır. Birçok yönden bazı canlı gruplarına ciddi zararlar vermektedirler (Ecevit, 1988). Zirai mücadele ilaçlarından bugün için vazgeçilememesinin nedeni, bu ilaçlara alternatif bir mücadele yönteminin tam anlamıyla geliştirilememesidir. Kimyasal mücadelenin dışındaki mücadele metotlarının yeteri kadar geliştirilememesinden ve geliştirilen metotların zararlı, pahalı ve ilkel olmasından dolayı zirai mücadele ilaçlarının uygulanmasının daha uzun yıllar devam edeceği düşünülmektedir. Bununla birlikte, tüm dünyada kimyasal ilaçların yerini gelecekte biyolojik mücadele olarak bilinen bir yöntemin alacağı tartışılmaktadır.

1.2. Orman Zararlısı Böcekler ve Etkileri

Böcekler doğal hayatın devamlılığı için önemli canlılardır, oldukça fazla çeşitliliğe sahiptirler, ekonomi ve tarım gibi birçok alanda birçok yararlı böcek varlığının yanında ekonomik, tarımsal ve insan sağlığı açısından zararlı böcekler de vardır. Böcekler zararlı ve faydalı oluşuna göre ikiye ayrılır;

Faydalı Böcekler:

Faaliyetleri ile insanların faydalanabildikleri veya ekonomik amaçlarına araç olan böceklerdir.

Zararlı Böcekler: Sebep oldukları hastalık ve zararlarla insanların dolaylı veya doğrudan engel olan ve sağlıkları için tehlike oluşturan böceklerdir.

Aşağıda Türkiye orman alanlarından Doğu Karadeniz bölgesinde özellikle ladin ormanlarında ve genç ağaçlandırma sahalarında sıkça görülen ve ciddi zararlara neden olan önemli üç böcek türü verilmiştir:

Ips typographus L.

Ips typographus çeşitli etmenler tarafından zayıf düşmüş (rüzgâr, don, diğer böcekler) kalın kabuklu 70 yaş ve üzeri ağaçların ölümüne neden olmaktadır. Ladin ormanları için en tehlikeli böcek türü olarak kabul edilmektedir.

Ips sexdentatus Boerner

Pinus silvestris, *Pinus nigra*, *Pinus heldreichii*, *Pinus pinaster*, *Pinus cembra*, *Pinus sasonowskyi*, *Pinus laricio*, *Pinus brutia*, *Pinus mugo*, *Pinus jeffreyi*, *Pinus muricata*, *Picea orientalis*, *Picea abies*, *Abies alba*, *Abies nordmanniana*, *Pseudotsuga menziesii*, *Larix decidua* ve *Larix sibirica* gibi iğne yapraklı ağaçlarda yaşamakta ve önemli kitlesel zararlara neden olmaktadır.

Dendroctonus micans Kug.

Dev kabuk böceği *D. micans* (Kugelann) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) geniş bir yayılış alanına sahiptir, ağaçların kabuk bölgelerinde zarar yapmaktadır özellikle sarıçam ve ladin ormanlarında önemli tahribatlar yapmaktadır.

Bu zararlılardan biri olan ve büyük orman kayıplarına neden olan *D. micans* özellikle Türkiye’de Doğu Karadeniz bölgesinde önemli bir zararlıdır ve mücadelesi için büyük çaba ve ekonomik yaptırım uygulanmaktadır.

Dünyada bilinen 50 ladin türünden biri olan Doğu ladini, *Picea orientalis* Link, Doğu Karadeniz ve Kafkas dağlarında doğal olarak yayılmış durumdadır. Toplam alanı 286.851 ha olan ladin ormanlarının (Konukçu, 2001), sırasıyla 1960 ve 1980’li yıllarından bu yana, ladin

ormanları en tehlikeli kabuk böcekleri olan *D. micans*, *I. typographus* ve *I. sexdentatus* (Coleoptera: Scolytidae)'un varlığı nedeniyle çok ciddi yok olma tehdidi altına girmiştir (Özcan vd., 2006). Özellikle son yıllarda *D. micans*'ın neden olduğu zarar hızla artmaktadır. Bu zararlı ile mücadelede kimyasal mücadele yöntemleri orman alanında yaşayan diğer canlılara ve insanlar üzerinde istenmeyen olumsuz etkiler oluşturmaktadır. Bu böceğin yaptığı zararı engellemek için yapılan mekanik mücadele yöntemleri yetersiz kalmaktadır. Bu noktada alternatif mücadele yöntemi olarak biyolojik mücadele çalışmaları yapılmaktadır. Bu çalışmalar kapsamında çeşitli bölgelerde özel laboratuvarlar kurulmuştur ve biyolojik mücadele metotları araştırılmaya ve çalışılmaya devam etmektedir.

1.3. Zararlı Böceklerle Mücadele Yöntemleri

Zararlı böceklerin bitki florasına yaptıkları zararları, gerek doğal olarak gerekse insan yardımıyla önlenmesine veya azaltılmasına yönelik çalışma stratejilerine zararlı böceklerle mücadele yöntemleri denir.

Yapılan çalışmaları 8 başlık altında incelemek mümkündür:

Doğal mücadele: Doğal olarak oluşan etmenlerin böcekler üzerindeki etkisinden yararlanılarak yapılan mücadele yöntemidir.

Yasal mücadele: Yasal yollardan yararlanılarak zararlıların yayılmasını önleme. Örneğin karantina, ambargo, muayene vb.

Mekanik mücadele: Zararlı böcekleri toplama, fenomen tuzakları kullanma, böceklerin saldırısı altındaki bitkiyi yok etme.

Fiziksel mücadele: Böcek istilası altındaki alanı yakmak ve sıcaktan, radyoaktiviteden ve elektrikten faydalanarak zararlının yayılışını ve üremesini engelleme.

Kültürel mücadele: İstila altındaki ağaçları alandan uzaklaştırmak kapalılığı düzenlemek meşcere kurmak ve yetiştirme ile kesim tekniğine uyumak, toprak bakımı, dayanıklı türler yetiştirmek, gıda kaynaklarını değiştirmek.

Biyolojik mücadele: Zararlı böceği yok etmek için çeşitli etken gruplarından (mikroorganizma, böcek yiyen vertebrata, predatör arthropoda, parazit böcekler) ve genetik yöntemlerden yararlanmak.

Kimyasal mücadele: Tozlaşma, püskürtme, sisleme, fumigasyon, sterilizasyon, zehirli yemler vb. kullanarak zararlının yok edilmesine yönelik çalışmalar.

Entegre mücadele: Çevre ve orman sahibi için uzun vadede en az masrafla en iyi faydaları sağlayabilecek olan ve popülasyon dinamiğine dayanan yöntemlere önem verilerek, mücadele yöntemlerinin kombine edilmesi sonucu yarar elde etmektir.

Bu mücadele yöntemlerinden ülkemizde en yaygın olarak kullanılan kimyasal mücadeledir. Kimyasal ilaçlar kullanılırken, bunların yan etkileri ortaya çıkmaktadır. Birçok yönden bazı canlı grupları ciddi zararlar görmektedirler.

1.3.1. Kimyasal Mücadele ve Yan Etkileri

Zararlı böceklerin yok edilmesinde yaygın olarak kullanılan kimyasallar insektisitlerdir. Bu insektisitler yalnızca böcekler üzerinde değil, bitkilerde ve çevrede bulunan diğer canlılar üzerinde de birçok zararlı etkiler meydana getirmektedirler. İnsektisitlerin zararlarını böcekler, insanlar ve çevre üzerine olan etkileri olarak başlıca üç başlık altında toplayabiliriz.

1.3.1.1. İnsektisitlerin Böceklere Etkisi

İnsektisitler zararlı böceklerin öldürülmesinde ve yayılışının kontrol edilmesinde kullanılan kimyasal maddelerden yapılmış böcek yok edici ilaçlardır. Her zaman zararlı böceklere karşı tam bir etki sağlayamazlar, çünkü zamanla insektisitlerin ilk uygulandıkları zamanki etkili dozlarından daha az etkilenebilen böcek ırklarının ortaya çıkmasıyla ilk baştaki etkilerini kaybetmekte ve uygulamadaki hedef böceğe olan etkisini kaybetmektedirler. Bu olaya böceklerin mukavemeti adı verilmektedir. Ekolojik ve evrimsel açıdan bakıldığında bu şaşırtıcı değildir. Böceklerdeki direnç mekanizmaları, genetik faktörler, fizyolojik haller ve biyokimyasal mekanizmalar, direnç mekanizmalarının kombinasyonu ve davranışla ilgili mekanizmalar olmak üzere 5 grupta toplanmaktadır. İlaç uygulaması altında yetişen yeni nesiller ilacın öldürücü etkisine karşı koyabilen yeni fertler oluşmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla bu yeni fertlere karşı kullanılan insektisitler daha çok çevredeki ilacın uygulanmasındaki hedef böceklerin dışında kalan yararlı canlıları ve insanları etkilemektedir (Ecevit, 1988).

İnsektisitlerin yalnızca istenilen zararlı böceğe etki etmesi gibi bir imkân yoktur. Zararlı böceklerin üzerinde yaptığı etkinin yanında yararlı böceklere de etki etmektedir. Dolayısı ile zararlı böceklerin yanında yararlı böcekler üzerinde istenmeyen ölümlere neden olmaktadır. Bununla birlikte insektisitler etkileri bakımından irdelendiğinde faydalı

böcekler olarak kabul edilen pradatör böcekler ve parazitler insektisitlerden daha fazla etkilenmektedirler (Ecevit, 1988).

Ayrıca insektisitlerin kullanıldığı alanlarda doğal olarak yaşayan polinatör canlılarda yok olduğu için, bu alandaki zirai ürünlerde tozlaşma oranı azalmaktadır. Bunun sonucunda büyük verim düşüklüğü ortaya çıkmakta hem ekonomik hem de ekolojik açıdan tamiri zor olan olumsuz etkiler meydana gelmektedir.

1.3.1.2. İsektisitlerin İnsanlara Etkisi

İsektisitler doğrudan ve dolaylı olarak insan sağlığını etkilemektedirler (Ecevit, 1988). Bu etki akut ve kronik zehirlenmeler olarak iki grup altında toplanabilir.

Akut zehirlenmeler; Zirai mücadele amaçlı kullanılan ilaçların imalatı, taşınması ve kullanılması esnasında ilaçla insan metabolizmasının direk teması ile olan ani zehirlenmeler olarak tanımlanır (Ecevit, 1988).

Kronik zehirlenmeler; İlacın kullanımı sonrası toprakta veya bitkinin bölümlerinde kalıntı halinde kalan ilacın bu bitkilerle beslenen hayvanlardan veya direk bitkilerin tüketilmesi ile insan vücudunda birikerek yavaş ilerleyen bir zehirlenmeye neden olması olarak tanımlanabilir. Her ne kadar ilaçların hasattan ne kadar önce kullanılması gerektiği biliniyor ve uygun şekilde kullanımı yapılıyor olsa bile, bir miktar ilaç ve ayrışma ürünleri bitkilerde veya toprak ta kalmaktadır. Buna ilacın kalıntısı denilmektedir (Ecevit, 1988).

1.3.1.3. İsektisitlerin Çevreye Etkisi

İsektisitler kullanıldıkları çevrede yaban hayatını değişik oranlarda etkilemektedir. Ağaçlardaki bazı zararlıların mücadelesinde kullanılan birçok ilacın toprakta birikme yaptığı ve bunun sıgırcık gibi böceklerle beslenen kuşların popülasyonunu azalttığı tespit edilmiştir (Ecevit, 1988).

İsektisitlerin kullanılması sonrasında zehirli sahalarda hayvanların beslenmesi ile birlikte zehir hayvanlara geçmektedir. Arazide tatbik edilen ilaçlar yağmurlarla yıkanarak derelere, oradan da deniz ve göllere taşınmakta, bu yolla da balıklar üzerinde etki yapmaktadırlar. Bu yollarla ilaçtan etkilenen hayvan ve bitkilerle beslenen insanlar dolaylı olarak insektisitleri vücuduna almış olurlar.

İnsektisitlerin kullanıldığı çevredeki bal arıları da en fazla etkilenen canlılar arasındadır. Bal arıları bal, arı sütü ve balmumu gibi ürünleri oluşturmalarının yanı sıra bitkilerin tozlaşmasını da sağlamaktadırlar (Ecevit, 1988).

İnsektisitler kullanıldıkları alandaki bitkilerin çimlenmesi, vejetasyonu ve üremesi üzerinde de olumsuz etkiler yaparlar. Bazen bitkilerin belirli doku kısımlarında, yanma denilen bir takım lekeler ile renk değişmelerinin meydana gelmesine sebep olurlar. Hatta bazen tüm bitkilerin öldüğü görülür. Biyolojik mücadele bu kapsamda alternatif bir yöntem olarak araştırılmakta ve çalışılmaktadır. İnsektisitlerin yan etkilerinden dolayı, kimyasal mücadelenin yerine günümüzde mümkün olduğunca biyolojik mücadelenin kullanılması gerekmektedir.

1.3.2. Biyolojik Mücadele

Biyolojik mücadele biyolojik kontrol olarak da adlandırılır. Biyolojik kontrol, zararlı böceklerin yapmış olduğu zararları en aza indirmek için bu böceklerin tabii düşmanlarının kullanılması olarak tanımlanabilir. Tabii düşman terimi, parazitler ve predatörlerle birlikte hastalık oluşturan mikroorganizmaları da kapsamaktadır (Poinar, 1978; Peter, 1984). Son yıllarda yeniden güncellik kazanan biyolojik mücadelenin henüz yeterince yaygınlaşmadığını, bazı başarılarının ise pek duyulmadığını açıklamak yerinde olur.

Biyolojik mücadele ile ilgili yazılı belgelere göz attığımızda, Aristo ve Pliny'nin eserlerinde ilk böcek patolojisi kavramlarına rastlamaktayız. Aristo, "Historia Animalium" adlı eserinde, *Galleria mellonella*'nın peteklerdeki zararını açıklamış ve kovanlarda hastalık meydana getirdiğini ifade etmiş keza, balarılarında görülen diğer bir hastalığın belirtilerini de tanımlamıştır. Canlıların mücadele amacıyla kullanılmasına ait ilk örnek, M.S. 900 yılında yayımlanan bir Çin kitabında açıklanan Çinli turunçgil yetiştiricilerinin bahçelerinde predatör karıncaları kullanmaları ve bunların pazarlarda satılmasıdır. Uzun yıllar sonra, Avrupa'da böcekler ile ilgili kayda değer gözlemler yapılmaya başlanmıştır. Bu çalışmalar günümüze kadar büyük bir gelişme göstererek ilerlemiştir.

1.3.2.1. Biyolojik Mücadelenin Kimyasal Mücadeleye Göre Avantajları

Hedef zararlıya olan etkisi açısından biyolojik mücadelenin kimyasal mücadeleye göre daha sağlıklı ve etkili bir yöntem olduğu kesindir. Günümüzde kimyasal mücadelenin insanlar ve diğer canlılar üzerindeki olumsuz etkileri göz önüne alındığında biyolojik mücadele

yöntemlerinin kimyasal mücadeleye göre daha avantajlı ve daha sağlıklı olduğu bir gerçektir. kimyasal ve biyolojik mücadelenin avantajları ve dezavantajları Tablo 1’de karşılaştırılmıştır.

Tablo 1. Biyolojik Mücadelenin Kimyasal Mücadeleye Göre Avantajları

Biyolojik Mücadele	Kimyasal Mücadele
İnsan ve çevre sağlığına olumsuz etkisi yoktur	İnsan ve çevre sağlığını tehdit eden önemli yan etkileri vardır
Doğal düşmanları korur	Doğal düşmanları yok eder
Doğal düşmanlar konukçularına özelleşmiştir	İlaçların pek çoğu seçici değildir, ortamdaki bütün canlıları öldürür
Potansiyel zararlıları baskı altında tutar	Potansiyel zararlılar ana zararlı konumuna geçebilir
Uygulamada kullanılacak etmenlerin çoğu doğada vardır	Tarım ilaçları her uygulamada tekrar kullanılmak zorundadır
Mücadele maliyeti ucuzdur	Mücadele maliyeti pahalıdır
Mücadele doğal denge bozulmadığı sürece kendi halinde gelişir	Tarım ilaçlarının her uygulaması doğal dengeyi biraz daha bozar
Dayanıklılık problemi yaratmaz	Dayanıklılık problemi yaratabilir
Doğal düşmanlar etkili oldukları zararlıyı baskı altına alırlar	Uygulama hataları nedeniyle her zaman beklenen sonuç alınmayabilir

1.3.2.2. Biyolojik Mücadelede Predatör Böcek Kullanımı

Predatörlük durumu oldukça önemli bir biyolojik olay olmasına rağmen, mekanizması ve populasyonlar üzerinde etkiler hakkında bilgiler oldukça azdır. Predatör böcek terimi bitkiye zarar veren canlılarla beslenerek zararlılarla mücadeleye katkı sağlayan canlılar olarak tanımlanır. Bunlar iki grupta toplanabilir. Bir kısmı sadece belli böceklerle beslenirken diğer predatörlerin beslenmesi çok çeşitli böcekleri kapsamaktadır. Bunlar sadece bir konukçuya bağlı olmayıp, hayatları boyunca birden fazla konukçu üzerinde beslenen ve konukçularını arayarak bulan böceklerdir. Hem erginleri hem de ergin öncesi dönemlerinde avları ile beslenirler. Predatör erginleri yumurtalarını avlarının bulunduğu yerlere bırakır ve yumurtadan çıkan larvalar avlarını arayarak bulur ve beslenirler. Beslenme ya çiğneyerek avını yeme veya avını emme şeklinde olmaktadır.

1968 yılında Türkiye ladin Ormanlarına giriş yapan *D. micans* bugün itibariyle tüm ladin ormanlarımıza yayılarak doğal yayılış alanını tamamlamıştır. Bu böcek 1985 yılından

İtibaren, laboratuvar şartlarında onun özel yırtıcısı olan *Rhizophagus grandis* adlı yırtıcı böcek üretilerek biyolojik mücadele yapılmaktadır. 1985 yılından 1989 yılına kadar deneme üretimi araştırma aşamasında sürdürülerek 1989 yılından itibaren kitle üretimine geçilmiştir. Ancak ladin ormanlarımızda aynı ağaçta birden fazla kabuk böceğinin zarar yapması sonucu, ladin ormanlarımız zayıf düşmekte ve dolayısıyla *D. micans* bu olumsuz şartlardan faydalanarak, bazı sahalarda sayıca yoğunluk bakımından artış göstermektedir. *D. micans*'ın sahaların genelinde doğal denge sınırına indirilebilmesi için, *R. grandis*'in böcekli sahalardaki yoğunluğunun artırılması gerekmektedir. *R. grandis* predatör böceği üretim laboratuvarları artırılmalı ve üretimdeki verim düşüklüğü problemleri çözümlenmelidir. Daha sağlıklı ve etkin predatör üretimi için laboratuvarlardaki potansiyel zararlı patojen ve parazitler araştırılarak kolaylıkla üreyebilen sağlıklı *R. grandis* üretim metotları çalışılmalıdır.

1.4. *Dendroctonus micans*

Morfolojik olarak bakıldığında diğer kabuk böceklerinden belirgin farklılıklara sahip olan *D. micans* böceklerinin en belirgin farkı boyutsal olarak büyük yapılı olmalarıdır. Erginleri 6-8 mm boyunda olan *D. micans* böcekleri, gelişimlerinin son safhasında gövdelerinin her yerde eşit mat koyu kahverengidir (Şekil 1 A). Tür tespit anahtarı kullanılarak *Dendroctonus* türlerinin ayrımı yapılabilir (Wood, 1963). Yumurtaların bırakıldığı galeri reçine ve dışkı dolu geniş bir tüp şeklindedir. Yumurtadan çıkan larvalar 5 instar safhası boyunca beyaz renkte ve C harfi şeklindedir. Belirgin kırmızı renkte baş kısımları ve koyu renkli ağız bölgeleri kolaylıkla gözlemlenebilir (Şekil 1 B). Bacaksız larvalar grup halinde geniş bir oda kazarak grup halinde beslenirler. Dışkı artıklarından adacıklar oluşturmaları ve bu odacıklarda grup halinde galeri oluşturarak istila ettikleri ağaçta kabuk altında beslenmeleri karakteristiktir (Bevan 1987).



Şekil 1. *D. micans*'ın ergin ve larvaları.

Dünya üzerinde 20 dolayında türle temsil edilen *Dendroctonus* cinsinin, Avrupa ve Asya ormanlarında 2 türü yaşamaktadır. Bu türler *D. micans* (Kug.) ve *D. armandi* Tsai ve Li'dir (Grégoire, 1988; Lempérière, 1994; Fielding ve Evans, 1997). Bu iki türden, *D. micans* batıda Fransa ve İngiltere'ye kadar Avrasya'nın konifer ormanlarında yayılmış bulunmaktadır. Mevcut yayılışını sürekli genişletmekte olan bu böcek Fransa, Gürcistan, İngiltere ve Türkiye'de yakın tarihlerde ulaştığı bölgelerdeki şiddetli zararını sürdürmektedir (Şekil 2). (Bevan ve King, 1983; Grégoire, 1984; Serez, 1984; Alkan ve Aksu, 1990; Fielding vd., 1991; King vd., 1991; Eroglu, 1995, Yüksel, 1998; O'Neill ve Evans, 1999; Alkan, 2000). *D. micans* Avrasya'daki geniş yayılış alanı içinde çoğunlukla Ladin (*Picea excelsa*, *P.sitichensis*, *P.orientalis*) mescerelerinde büyük kayıplara neden olmakta, bazen de sarıçam (*Pinus silvestris*)'da zararlı olmaktadır (Şekil 3).



Şekil 2. *D. micans*'ın dünyada'ki dağılımı

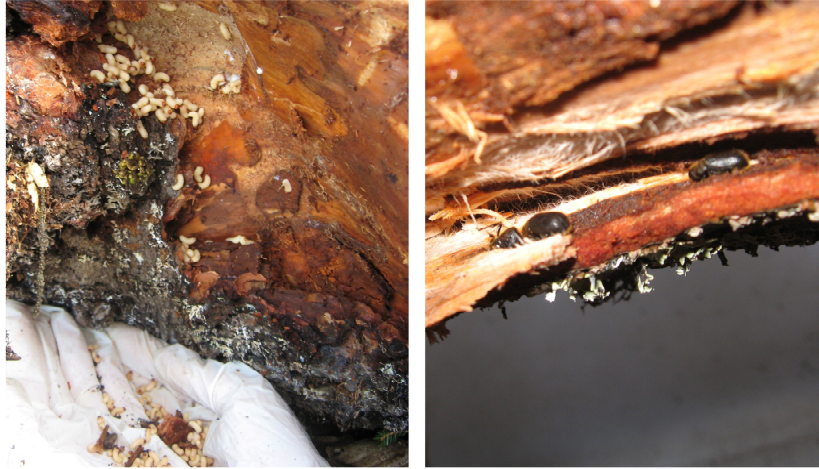
Türkiye'de ilk defa 1966 yılında (Acatay, 1968) tespit edilen *D. micans*, Artvin ve Giresun Orman Bölge Müdürlüğü ladin ormanlarının hemen hemen tamamında; Trabzon Orman Bölge Müdürlüğü Pazar İşletmesi Fındıklı ormanlarında ve 1998 yılından buyana Maçka Orman İşletmesi Yeşiltepe ve Çatak işletme şeflikleri ladin ormanlarında yayılmış durumdadır (Alkan, 2000 ve 2001; Kostak, 2001; Alkan-Akıncı vd., 2004). *D. micans*'a karşı yürütülen biyolojik ve mekanik mücadele çalışmalarına rağmen çok büyük bir hızla yayılışını arttırmaktadır.

D. micans diğer kabuk böceği türlerinin çoğundan farklı hayat döngüsüne sahiptir. Çiftleşme, ergin böcekler kabuktan çıkmadan önce kabuk altında gerçekleşir, dişiler aynı döle

ait erkekler tarafından döllendir (Özcan vd., 2006). Yılın herhangi bir zamanında, üreme döngüsünün tüm basamakları eş zamanlı olarak gözlemlenebilir (Lempérière, 1994). Larvalarının, kabuk böcekleri içinde ender olan bir özelliği, bu dönemin hemen tamamını kabuk altındaki kuluçka alanlarında toplu halde geçirmeleridir (Grégoire, 1983). *D. micans*'ın hayat döngüsü 1 ile 3 yıl dır (Lempérière, 1994; Fielding ve Evans, 1997).

Maçka Orman İşletme Müdürlüğü kapsamında *D. micans*'ın ilk olarak görüldüğü Yeşiltepe Orman İşletme Şefliği'nde, 1999 yılında 204 m³, 2000 yılında 1768 m³ ve 2001 yılı Haziran ayı sonu itibariyle 950 m³ ağaç *D. micans* zararı nedeniyle kurumuştur. *D. micans* zararı nedeniyle Maçka Orman İşletme Müdürlüğü ladin ormanlarında 2001 yılında 4854 ha alanda 2541 m³, 2002 yılında 5161 ha alanda 2513 m³ ve 2003 yılında 5867 ha alanda 4069 m³ ağaç kesmiştir (Alkan-Akinci vd., 2004).

Özcan vd. (2006) yaptıkları çalışmada *D. micans* zararlısının sadece ladin ağaçlarında zarar yaptığını vurgulamış, incelenen 1186 ağaçtan % 66,9 unun ladin olduğunu belirtmişlerdir, Bu ağaçların % 24,6'sına zarar vermiş ve bunların %11,3'ü kurumuştur. *D. micans*'ın, ladinlerin % 14'üne önceden zarar verdiği ve % 10,6'sına zararını sürdürdüğünü saptamışlardır.



Şekil 3. *D. micans*'ın larva ve erginlerinin Trabzon (Hıdırnebi yaylası) ladin ormanlarında bir ladin ağacındaki zarar durumu.

1.4.1. *Dendroctonus micans* ile Mücadele Yöntemleri ve Doğal Düşmanları

D. micans'la en etkili mücadele, *Rhizophagus grandis* adındaki predatör böcek insektaryum (laboratuvar) larda üretilerek, zararlı böceğin yoğun olduğu sahalardaki böcek istilasına uğramış ağaçlara verilmesiyle yapılan biyolojik mücadeledir. Bu yöntemle laboratuvarlarda 350.214 adet *R. grandis* üretilip Artvin ve Giresun'dan alınanlarla beraber toplam 573.620 adet *R. grandis* Trabzon Orman Bölge Müdürlüğü Ormanlarına verilmiştir. *D. micans*'in yoğun olduğu ormanlarda, köylülere vahidi fiyatla yuvalardan böcek toplattırılarak, toplanan böceklerin yırtıcı üretiminde kullanılması, fazlaların imha edilmesi şeklinde yürütülen mekanik mücadelede başarılı sonuçlar vermiştir.

Avrupa ülkelerindekine benzer şekilde, komşu Gürcistan'da 1963 yılında büyük boyutlu bir biyolojik mücadele programı uygulamaya konulmuştur (Khobakhidze, 1965). Bu programın olumlu sonuçları gözlemlenmiş ve ülkemizde 1985 yılında *D. micans*'in biyolojik mücadelesi çalışmalarına başlanmıştır (Eroğlu, 1995).

Bu böceğin etkinliğinin büyük oranda ağaç gövdelerinin ilk bir-iki metrelik kısmında yoğunlaşması, mekanik mücadele için büyük bir üstünlük ve kolaylık sağlamaktadır. Mekanik mücadele zarar görmüş ağacın kabuğu soyularak böcek yumurta ve larvaların toplanması ile yapılmaktadır, fakat bu uygulama ağacın zarar görmesine ve ağacın kurummasına neden olmaktadır. *D. micans* ve *I. sexdentatus* gibi zararlıların yaralı ve kesilmiş ağaçlarda daha çok zarar yaptığı düşünülürse mekanik mücadele biyolojik mücadeleye kıyasla ormanlara zarar vermekte ve orman varlığının azalmasına neden olmaktadır. (Eroğlu, 1995). Ayrıca orman alanlarına yerleştirilen feromen tuzaklarının bir mekanik mücadele yöntemi olup olmadığı tartışılmaktadır, bilinen bir gerçek tuzakların böceklerin yok edilmesinde etkilerinin oldukça az olduğudur. Tuzaklar böcek popülasyonunun miktarının ve yoğunluğunun tespiti için kullanılmaktadır ve bir mücadele yöntemi olarak düşünülmemektedir.

D. micans'ın yayıldığı bölgelerin iç kısımlarında düşük ve zararsız bir nüfus seviyesinde kaldığı bilinmektedir (Grégoire, 1988). Bu bölgelerde popülasyonun çok daha sabit ve düşük olusunun en önemli nedeni olarak bu türün özgün predatörü olan *R. grandis* Gyll. (Coleoptera, Rhizophagidae) gösterilmektedir (Grégoire vd., 1989).

1.4.1.1. Türkiye'de *D. micans* Zarar Durumu ve Mücadele Çalışmaları

Doğu Karadeniz Bölgesi'nde ladin ormanlarımızda, *D. micans* zararlısı ladin ormanlarının % 39'una zarar vermiş ve bu zarar sonucu bu ağaçların % 19,7'si görevliler

tarafından kesilerek yakılmıştır. Ağaçların % 8,5'i yaralanmış olup bunların % 88'i bu böceğin zararına uğramıştır. (Özcan vd., 2006). Özcan vd., 2006 yılında yaptıkları bu çalışmada *R. grandis*'in *D. micans* üzerindeki aktüel etkinliği bulunduğu galerilerde % 84, bulunduğu deneme alanlarında % 23,9 ve örnekleme alanlarının tamamında % 15,4 olarak belirlenmiştir. Bu oranlar Eroğlu'nda (1997) sırasıyla % 87, % 31 ve % 15'dir. *R. grandis* ergin ve larvalarının etkinlikleri sırasıyla % 100 ve % 79 olmuştur. Ayrıca, *R. grandis* erginleri, kabuk altında ya da pupa oldukları toprakta, uzun süre canlı kalabilmekte ve yılın herhangi bir diliminde rastlanan *D. micans* popülasyonlarının çoğu evrelerinden etkili bir şekilde yararlanmaktadır (King vd., 1991).

Trabzon orman Bölge Müdürlüğünde uygulanmakta olan orman zararlıları ile mücadele yöntemleri *D. micans*'la biyolojik ve *Ips* türleri ile biyoteknik yöntemler olarak tercih edilmiştir. 1972–1985 yılları arasında Artvin Orman Bölge Müdürlüğünde *D. micans*'la kimyasal yöntemle mücadele yapılmıştır. Ancak, ilaçlanan sahalara birkaç yıl sonra tekrar böceğin tekrar tahribat yapması, kimyasal ilaçların doğaya zararı, mücadelede başarı sağlanamamasına neden olmuş ve bu yöntem terk edilmiştir. 1985 yılından sonra biyolojik mücadeleye dönülmüştür. Biyolojik mücadele, bilinen en etkin yöntem olmakla birlikte, amaca ulaşmak için uzun bir süreç gerekmektedir. *D. micans* ile en etkili mücadele yöntemi *R. grandis*'in laboratuvarlarda üretilerek zararlı böceğin yoğun olduğu sahalardaki hastalıklı ağaçlara verilmesi şeklinde gerçekleştirilen biyolojik mücadeledir. Bu yöntemle 1998-2004 yılları arasında, 350.214 adet *R. grandis* Trabzon Orman Bölge Müdürlüğü bünyesindeki laboratuvarlarda üretilerek, 223.406 adet de Artvin ve Giresun Orman Bölge Müdürlüğünden temin edilerek toplam 573.620 adet *R. grandis* Ladin ormanlarına verilmiştir. 2004 yılı sonu itibari ile *D. micans* zararlısı Trabzon Orman Bölge Müdürlüğünde 194.228 ha. Ladin orman alanının %15'ine (28.793 ha.) yayılmıştır. Trabzon orman Bölge Müdürlüğü kapsamında faaliyet gösteren 3 adet laboratuvar bulunmakta olup 2005 yılında 110.000 adet *R. grandis* üretimi programlanmıştır. Trabzon Orman Bölge Müdürlüğünde 2006 yılında 103.079 adet *R. grandis* üretilmiş olup, bunların işletmeler itibari ile dağılımı şöyledir: Trabzon Orman İşletme Müdürlüğü 43.830, Maçka Orman İşletme Müdürlüğü 10.249, Torul Orman İşletme Müdürlüğü 49.000 adettir. 2006 yılında 209.515 adet *R. grandis* predatör böceği *D. micans*'ın bulaştığı orman alanlarına verilmiştir. Önümüzdeki yıllarda da biyolojik dengeye ulaşıncaya kadar mücadeleye devam edilecektir.

1.5. *Rhizophagus grandis* ve Biyolojik Mücadele Ajamı Olarak Kullanılma Potansiyeli

D. micans zararlısı ile mücadele kapsamında böceğin en etkin predatör böceği olan *R. grandis* üretimine ve *D. micans*'ın arız olduğu bölgelere verilmesine yıllardır devam edilmektedir. Predatör böcek olan *R. grandis* erginleri morfolojik olarak irdelendiğinde 2,5-5 mm boyundadır. Parlak, koyu, kıvılcık, kahve renkte tüm vücudu kısa tüylerle kaplı kayık şekilli vücut yapısına sahiptir. Anterior kısımdan bakıldığında vücudun 3/5'ini elitra kaplamaktadır. Sivri bir baş bölgesi, avlarını parçalamaya yarayan kesici ve parçalayıcı çene yapısına sahiptir. Erkekleri dişilere oranla daha koyu renkte ve iri yapıdadır (Şekil 4 B). Dişilerde abdomenin son kısmı erkekler oranla daha kıllı bir yapıdadır. Cinsiyet ayrımı, abdomenin son bölgesindeki aedeagus üreme organının erkeklerde yaptığı köşeli çıkıntı varlığı ile gerçekleştirilir (Şekil 4 D). Antenleri kısa ve uçlarında topuz benzeri çıkıntıya sahiptir. Abdomen 7 segmentlidir, ilk çift bacaklar toraxtan ve diğer iki çift bacak abdomenden çıkar (Şekil 4 A ve B). Yumurtadan çıkan larvalar 3 instarlık gelişim safhasında vücut yapısındaki yapısal dokularını korumaktadır. Larvaları sivri kano şekilli açık ve kirli beyaz renktedir. Son instar safhasında 5-8 mm boyuna ulaşırlar. Ufak yapılı ve vücudun alt kısmına kalan baş bölgeleri belirgin şekilde gözlemlenmemektedir. İlk üç segmentde 3 çift bacağına sahiptir, bacaklar kısa boyludur. (Şekil 4 C).



Şekil 4. *R. grandis* ergin ve larvası, A: Ergin ön ve arkadan görünüm, B ve D: Dişi ve erkek böcek, C: Larva ön ve arkadan görünüm.

Hayat döngüleri açısından irdelendiğinde, *R. grandis* erginleri Nisan ve Temmuz ayları arasında yumurtlama dönemine girerler ve yavruları aynı yılın Kasım ve Aralık aylarında erişkin hale gelirler (King vd., 1991). Bir aylık kuluçka evresinden sonra yumurtadan çıkan larvalar üç instar evresi geçirirler, bu süre boyunca sürekli olarak beslenme ihtiyacı duyarak *D. micans* larva ve erginleri ile beslenirler. Tamamen doyuma ulaşınca prepupa evresine geçerek toprağa düşerler ve pupa oluştururlar. Toprak altında geçen 40 günlük pupa evresi sonrasında toprakta ergin hale gelen böcekler topraktan çıkarak beslenme ve üreme ihtiyaçları için uçuşa başlar ve yayılma alanı oluştururlar (Moser, 1989).

R. grandis predatörü, *D. micans* zararlısının mücadelesinde biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılması açısından oldukça fazla avantajlara sahiptir. *R. grandis* böceğinin hem erginleri hem de larvaları *D. micans* zararlısı ile beslenir. Bu özellikler potansiyel olarak çok güçlü olan biyolojik kontrol ajanının özellikleridir (Grégoire vd., 1984a). Bunun yanında *R. grandis* yüksek bir tarama yeteneğine sahiptir ve *D. micans* galerilerinin %80'inden daha fazlasında bulunmaktadır. Esnek bir mevsimsel büyümesi vardır. Avıyla kıyaslandığında doğurganlığı yüksektir. Larvaları avın olgun larvalarını tüketir. Ergin predatör çifti ve

bunların dölleri avın döllерinin en azından 2/3'ünü tüketir (Grégoire vd., 1985; Grégoire, 1988). *D. micans* sürülerinden çevreye yayılan kimyasal sinyalleri hemen hissederler (Wainhouse vd., 1991; Grégoire vd., 1992). *R. grandis*, *D. micans*'ın hem larva hem de ergin allomonlarını algılama yeteneğine sahiptir (Tondeur ve Grégoire, 1979). Bu özellikleri sayesinde avının yerini kolaylıkla saptamakta ve avın bulunduğu ağaç ve ağaç içersinde avın beslenme ve üreme yaptığı galerilere kolaylıkla müdahale edebilme yeteneğindedir. Kabuğun altına girdiklerinde larva safhasında av bulamazlarsa *R. grandis* erginleri *D. micans* yumurtalarıyla beslenebilirler, böylelikle tek tek sürülerde kayda değer bir varlık azalmasına yol açarlar (Evans ve Fielding, 1994). Eğer *D. micans* larvası mevcutsa predatörler çiftleşir ve yumurta bırakırlar, ancak *R. grandis* dişileri *D. micans*'ın larva dışkısı olmadığında yumurta bırakmazlar (Fielding ve Evans, 1997, Grégoire vd., 1984b). *R. grandis*'leri *D. micans* galerilerine çeken anahtar allomonlar *D. micans* erginleri tarafından üretildiği sanılan exobrevicomin ve *D. micans* larvaları tarafından üretilen (-)-verbenone gibi görünmektedir (Tømmerås vd., 1985). *R. grandis*'lerin yumurta miktarı sürüdeki av yoğunluğu ile orantılıdır, bu durum büyük ihtimalle *D. micans* larvalarının kümeleşme feromon konsantrasyonunu yansıtmaktadır. Ebeveyn *R. grandis*'ler yavrularının ilk beslenmesine önyak olmak için *D. micans* larvalarını yaralarlar. Predatör larvaları kurbanlarının üzerinde kümelenirler, *D. micans* larvalarının yumuşak gövdelerini yağmalayarak tamamen tüketirler ve sadece kabuğunu bırakırlar. Üç larva instarları süresince büyürken *R. grandis* larvaları direk olarak avlarına saldırır ve tüketirler. Tamamen doyduklarında, *R. grandis* larvaları prepupa safhasına girerler, ağaçtan atlayarak toprağa düşerler ve burada pupa oluşturarak sonunda ergin hale geçerler ve yeni bir nesil oluştururlar (Fielding ve Evans, 1997). *R. grandis*'lerin geniş bir uçuş ve yayılış yetenekleri vardır (Moser, 1989).

1.5.1. *Rhizophagus grandis*'in Laboratuvar Şartlarında Üretilmesi İçin Üretim Laboratuvarlarının Hazırlanması

R. grandis üretimine başlamadan önce, üretimde kullanılacak laboratuvarlar %10'luk formaldehit ile bir hafta süre ile dezenfekte edildikten sonra bol sabunlu su ile iyice yıkanmalıdır. Bununla birlikte üretimde kullanılacak olan tüm alet ve edevatlar formaldehit ile dezenfekte edilmelidir.

Üretimde kullanılacak kum dere kumu ve yarı dışlı kum olmalı, milli kum olmamalı, ayrıca kum mutlaka yıkanmalıdır. Bu işlemde geçirilen kum normal büyüklükteki alüminyum kazanlarda iyice kaynatılarak dezenfekte edilmelidir. Normal nemli kıvama gelen

kum, önceden dezenfekte edilmiş alüminyum veya naylon leğenlere konularak laboratuardaki raflara yerleştirilir. Laboratuarlara güneş ışığının girmesi engellenmelidir. (Göktürk, 2007) (Şekil 5).



Şekil 5. *R. grandis* üretim laboratuvarı Maçka.

1.5.2. *Rhizophagus grandis*'in Toplanması

R. grandis üretiminde kullanmak için ormandan *D. micans*'in 2-3'üncü instar evresinde olan larvalarının toplanması gerekir. Toplanan larvaların hastalık belirtisi gösteren (belirgin renk değişimi) ile son gömlekteki larvalar ayıklanır, son gömlekteki larvalar laboratuvar şartlarında kısa sürede pupa safhasına geçecekleri için, *R. grandis* larvaları kütükte olgunluk yiyimi yapamazlar ve beslenemedikleri için pupa safhasına geçemezler, bu yüzden üretimde kullanılacak larvaların 2-3'üncü instar safhasında olmalarına dikkat edilmelidir. Üretimde kullanılacak erginlerin yaralı ve sakat olanları ayıklanmalıdır (Göktürk, 2007).

1.5.3. *Rhizophagus grandis*'in Üretilmesi

R. grandis'in laboratuvar şartlarında üretilmesinde iki metot uygulanmaktadır:

Bunlardan ilki ladin kütüklerine *D. micans* larvası verilmek suretiyle yapılan üretim metodudur. Bu metod şu şekilde uygulanır: Laboratuvarında üretim için kullanılacak kütükler, genellikle *D. micans*'ın işgal ettiği böcekli ladin ağaçlarıdır. Kesilen ağacın tümünü kullanmak için ağacın dip kısmından ucuna doğru 35-40 cm boyunda ve 18-30 cm çapında suyunu kaybetmemiş yaş ladin takozları alınır, ağacın ucuna yakın olan kısmı *D. micans*'ın larvadan üretilmesine müsait olmadığı için *D. micans*'ın erginden üretilmesinde kullanmak için 40-60 cm boyunda takozlar alınarak ağacın tümü değerlendirilir. Uygun bölümlere ayrılan ladin takozları iyice temizlendikten sonra, kütüğün bir tarafı ile kabuktaki yaralı ve çatlak kısımlar bir fırça yardımı ile sıvı parafinle kapatılır. Bu işlem kütüğün kısa sürede nem kaybetmesini önlemek için yapılmaktadır. Hazırlanan bu kütüklerin parafinli olan kısmı bir keski ve çekiç yardımıyla kambiyum ile odun arasında 1-3 cm derinlikte ve 1-2 cm genişlikte kambiyum sağlam kalacak şekilde kütüğün her iki tarafından odun kısmından ayrılacak şekilde kanal açılarak, leğen içindeki önceden sterilize edilmiş nemli kuma kütüğün parafinli olmayan kısmı 2-3 cm gömülmek suretiyle yerleştirilir. Leğen içindeki kum 5-8 cm yükseklikte olmalı, ormandan toplanan *D. micans*'ın larvaları kütüğün çapına göre açılan kanallara 400 ile 1000 adet olmak üzere her iki tarafa verilirler. Kütüğe verilen larvalar 3-7 gün içinde kambiyumu yiyerek kütüğe yerleşirler. Bu süre sonunda, kütüğe konan *D. micans*'ın larva sayısına göre, *R. grandis* erginleri 1 çift, 2 çift (2 dişi 2 erkek, 2 dişi 1 erkek) hesabi ile çalışmanın fazla olduğu yerlere kabuk üçgen şekilde yandan açılarak verilir. Açılan kısım yarı katı parafinle kapatılır. Yırtıcı verme işi bittikten sonra kütüğün üstten açılan kısmı nem kaybını önlemek için üzeri yarı katı parafinle kapatılır (Göktürk, 2007) (Şekil 6).



Şekil 6. Maçka *R. grandis* üretim laboratuvarı böceklerin kütüklere verilme aşamaları. A: Araziden toplanan *D. micans* larvaları ayıklanır, B: Kütüklerde kanal açılarak beslenmeleri için larvalar kütüklere konur, C: Beslenme sonrası üstte kalan dışkı ve beslenemeyerek ölen larvalar temizlenir, D: Larvaların ulaştığı derinlik ve galeri odacıkları keskin bıçak ile ters V şeklinde kesilir, E: Dişi ve erkek micanslar larvaların galerilerine verilir, F: Kesilen bölge macun ile kapatılır, G: Kütüğün üst kısmı parafin ile kapatılır.

R. grandis erginleri kütükte bir hafta içinde çiftleşerek yumurta koyarlar. Bir haftanın sonunda yumurtadan çıkan *R. grandis* larvaları kütükte, 22–30 gün boyunca *D. micans* larvaları ile son gömleğe kadar beslenirler. *R. grandis* erginlerinin kütüğe verildikten 22'inci günden sonra olgunlaşan larvalar pupa safhasına yatmak için kütüğün altındaki nemli kuma inmeye başlarlar. Kuma inen son gömlek larvalar kütüğün altına doğru ilerleyerek ya kütüğün altında ya da kuma 2–3 cm girerek kendilerine kumda bir pupa beşiği hazırlayarak pupa safhasına yatarlar. Kumda pupa safhasına yatan larvalar 7–10 günlük istirahat (Diyapoz) döneminden sonra pupa safhasına geçerler, 10–15 günlük bir pupa safhasından sonra genç ergin safhasına geçerler. Bu süre boyunca kum sürekli kontrol edilerek haftada iki kez pompa yardımı ile hafif bir şekilde nemlendirilir.

Kumun fazla nemli olması *Beauveria bassiana* adlı mantarın kolayca üremesine ve kumun tümüne yayılmasına neden olur. Kum normal nemli düzeyde tutmak gerekir, zira böceklerin en fazla zayıt verdikleri ve savunmasız oldukları devre pupa safhasıdır. Eğer üretim kütüklerinin birinde veya bir kaçında *B. bassiana* adlı mantarın üremesi tespit edilirse, bu kütükler laboratuardan uzaklaştırılır, aksi halde mantar tüm laboratuara yayılır. Kum nemlendirilmezse böcek pupa safhasında nemsiz ortamda su kaybeder ve sonunda ölür.

Olgun larvalar kuma indikten sonra 45'inci günden itibaren ilk genç erginler görünmeye başlar. Erginler ve larvalar beslenme kaplarına alınarak 4-7 gün boyunca laboratuarda olgunluk ve cinsel güce erişmeleri için beslenmeleri sağlanır. *R. grandis* böcekleri ormana verilene kadar beslenme kapları ile birlikte 4°C'de latens halde saklamak için buzdolabına konulur, ormana verilecek erginler ve larvalar taşıma kapları ile böcekli sahalara götürülerek *D. micans*'ın yuvalarına verilirler. Pupalar ise içinde hafif nemli kum bulunan cam veya plastik kaplara konularak laboratuarda erginleşmeleri sağlanır.

R. grandis'in laboratuvar şartlarında üretilmesinde kullanılan ikinci metot ise ladin kütüklerine *D. micans* erginleri vermek suretiyle *R. grandis*'in üretilmesi yöntemidir. Metotun uygulanması şu şekildedir: böcekli ağaçlardan elde edilen ladin kütüklerinin her iki yanına 4-6 adet *D. micans* erginleri film kutuları ile verilir, yada kütüklerin yan taraflarından iki ayrı yerden bir keski yardımı ile üçgen şeklinde yarık açılarak *D. micans*'ın ormandan toplanan 5-10 adet ergini verilir, açılan bu kısım yarı katı parafinle kapatılır. Bundan sonraki aşamalar larvadan üretim metodunda olduğu gibidir. Larvadan üretim metodunun süresi ortalama 67 günde olurken, erginden üretim metodunun süresi 90-97 güne kadar çıkmaktadır. (Göktürk, 2007).

R. grandis üretimini olumsuz yönde etkileyen faktörlerin başında *Beauveria bassiana* adlı mantar türü gelmektedir. *B. bassiana* bulunduğu ortamdan başka ortamlara yayılması için genellikle *R. grandis* erginlerinin son abdomen segmentinde bulunan genital organların etrafına yerleşir ve dişi yumurta koyarken bu mantar yumurtalara bulaşır (Şekil 7 A). Kütüğe yayılarak diğer larvalar üzerinde gelişimini sürdürerek, larvalar ile kuma inerek kumda nemli ortamda hızla yayılarak pupa ve larva safhasında büyük çapta ölümler ortaya çıkar. Bu mantarlı *R. grandis* erginleri ve larvaları ormana verildiğinde, ormandaki sağlıklı fertleri de etkiler ve yapılan çalışmalar büyük ölçüde sekteye uğramış olur. Laboratuarda bulunan bu tipteki sağlıklı ve mantarlı erginler bir lup sayesinde ayıklanarak üretime sokulmamalıdır.

Akarların *R. grandis* erginleri üstünde toplanarak yumurta koymakta ve ergin böceğin zayıf düşmesine neden olmaktadır. Akarların böceğin üstünden temizlenmesi gerekir (Şekil 7 B).



Şekil 7. *R. grandis*'te akar ve mantar enfeksiyonunun makroskobik görüntüsü. A: Akar enfeksiyonu kaplı ergin böcek, B: Özellikle abdomenin son kısmında oluşan mantar enfeksiyonu.

1.5.4. *Rhizophagus grandis*'in Ergin ve Larvalarının Böcekli Sahalara Verilmesi

Kumdan seçilen *R. grandis*'in ergin ve larvalarına beslenme kabında bir haftalık olgunluk yiyimi yaptırdıktan sonra, 2 dişi 1 erkek, 3 dişi 2 erkek hesabı ile seçilen erginler cam tüpler içinde, larvalar ise film kutuları veya cam kaplar ile böcekli sahalara götürülür. *D. micans*'ın böcekli ağaçtaki ergin giriş hunisinin bulunduğu yuvanın 5–10 cm üstünden bir keski yardımı ile kabuk üçgen şeklinde açılarak *R. grandis*'ler çiftler halinde hektardaki böcek yoğunluğuna göre, *D. micans* yuvalarına verilir ve açılan yuvalar reçine ile kapatılır. *R. grandis* erginleri *D. micans*'ın yoğun olduğu yerlerde böcekli ağaçların kök kısımlarına da çiftler halinde bırakılabilir. *R. grandis* larvaları ise *D. micans*'ın ileri safhasındaki larvalarının bulunduğu yuvalara verilerek, açılan yuvanın üstü kapatılır. Yaz aylarında *R. grandis*'in ergin ve larvaları böcekli ağaçların her tarafına verilebilirler, ancak sonbaharda üretilen larva ve erginlerin ağaçların kök kısmına verilmesi gerekir, çünkü böcekler hava sıcaklığının düşmesi ile kışlamak zorundadırlar, gövdede kalan larvalar kışın donabilir. (Göktürk, 2007).

Bu kadar maddi yük ve insan gücü gerektiren bu çalışmada istenmeyen enfeksiyonlar maddi manevi ve ciddi zaman kayıplarına neden olmaktadır. Bu enfeksiyonlardan en önemli olanları *R. grandis* erginlerinin üreme bölgelerinde vasıl olan ve Türkiye'de en fazla görülen

mantar enfeksiyonu *Beauveria bassiana*, ve diğerk bir mantar enfeksiyonu olan *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) dır.

R. grandis'in etkili olduğu bu çalışmaların yanında *D. micans* ile m¼cadelede alternatif y¼ntemlerin varlığı araştırılırken *D. micans* zararlısında ¼l¼mc¼l patojenik enfeksiyon yapan *Helicosporidium* patojeninin varlığı tespit edilmiştir (Yaman ve Radek, 2005a). İlerleyen zamanlarda bu patojenin *D. micans*'ın biyolojik m¼cadelesinde aktif olarak kullanılan predat¼r b¼ceđi *R. grandis*'e bulaşıp bulaşmadığı ¼zerine çalışmalar yapılarak *Helicosporidium* patojenine *R. grandis* ¼rneklerinde de rastlanmıştır (Yaman ve Radek, 2007). *Helicosporidium* enfeksiyonunun hangi ¼retim laboratuvarlarında ne kadar yoğunlukta olduğu ve enfeksiyonunun geçiş potansiyeli bu y¼ksek lisans tezinin temel amacını oluşturmaktadır.

1.6. *Helicosporidium* sp.

Helicosporidium protisti, plastid genomuna sahip olan bir Entomopatojenik algdir. Fonksiyonel bir plastid yapısı *Helicosporidium*'da g¼r¼lmemesine rağmen dejenere bir plastid varlığı molek¼ler analizlerle desteklenmiştir. (Tartar ve Boucias, 2004; Koning ve Keeling, 2004).

Helicosporidium parasiticum 1921 de Keilin tarafından *Ceratopogonid* in parazit larvasında *Dasyhelea obscura* (Winnertz) keşfedilmiştir. Keilin *Helicosporidia*'nın yeni bir tip protist olduğunu saptamış ve geçiici olarak *Helicosporidia*'yı Sporozoa içersine d¼hil edilebileceğini belirtmiştir (Keilin, 1921). Daha sonra *Helicosporidia* Kuda (1931) tarafından Cnidosporida içine d¼hil edilmiştir. Weiser (1970), tarafından *Helicosporidium*'un Protozoa grubundan Nematosporidia alt familyası ve Saccharomycetaceae familyası içinde ilkel Ascomycetes'lere aktarılması ¼nerilmiřtir. Ayrıca Weiser *Helicosporidia*'ların vejetatif yapısının hiçbir Protozoa'ya benzemediğini savunmuş ve *Helicosporidia*'lar da yavru h¼crelerin salınması sonrası h¼cre şeklinin korunmasın bitkilere benzediğini rapor etmiştir. Kısa bir s¼re sonra Kellen ve Lindegren (1974) tarafından *Helicosporidium*'un ilk biyoassayı açığa kavuşturuldu ve ilk elektron mikroskobu çalışması Lindegren ve Hoffman (1976), tarafından yapılmıştır. Bu çalışmalar *Helicosporidia*'ların hızlıca taşına bildiğini ve Ascomycetes'lerin çoğunluğuna benzemediğini g¼stermiřtir. *Helicosporidium*'ların çekirdeklerinin mitoz b¼l¼nme geçirdikleri ve golgi aygıtı içerdikleri tespit edilmiş, bu karakterlere dayanarak *Helicosporidia*'lar Protozoa lara daha çok benzediği d¼ř¼n¼lm¼řtir.

Helicosporidium bazı algler ile benzer morfolojik karakterlere sahiptir, outosporulation ile gerçekleşen vejetatif çoğalma *Prototheca* (Bold ve Wynne, 1978) genusunda Achlorophyllous'a dâhil olan Chlorophyta yeşil microalgelerde de yaygın olarak görülür. Bir plastid yapısı *Helicosporidium* da görülmemesine rağmen dejenere bir plastid varlığı moleküler analizlerle desteklenmiştir (Tartar ve Boucias, 2004; Koning ve Keeling, 2004). Ultrastructural çalışmalar hem *Helicosporidium* da gelişmiş bir golgi aygıtı ve periferik mitokondri varlığını ortaya koymuştur (Lindegren ve Hoffman, 1976; Nadakavukaren ve McCracken, 1973). Sistematikde yeşil alg olduğu geniş moleküler çalışmalar ile kanıtlanmıştır ve 5 gen sırası tespit edilmiştir; 18S, 28S, ITS1-5.8S-ITS2, Actin ve β -tubulin. Bu gen sırası ile *Helicosporidium*'un sistematik yeri olarak Trebouxiophyceae sınıfının içinde yeşil alg olarak kabul edilmiştir (Tartar vd., 2002; Tartar, 2004). Mitokondrial cox3 geninin *Helicosporidium*'larda sıralı olması da yeşil alg olduğunu kanıtlar. *Helicosporidium*'un fonksiyonel plastidinin evriminin bir konakçı tarafından alınmadan önce yaşamak için gerekli olduğu ya da plastidin metabolik çeşitliliğinin daha önceki bir ototrof atadan kalıntı olabileceği de savunulmaktadır (Koning ve Keeling, 2004). Moleküler analizler *Helicosporidium* ile algler arasında ilişki varlığını gösterse de *Helicosporidium* ve *Prototheca* ve diğer fotosentetik olmayan algler arasındaki ilişki tam olarak açıklanamamıştır.

1.6.1. *Helicosporidium*'un Hayat Döngüsü

Morfolojik olarak bakıldığında *Helicosporidium* patojeni karakteristik olarak bir pelikül zar içersinde üst üste sıralanmış üç ovoid hücre ve onları çevreleyerek 3-4 halka oluşturan filamentsi hücre varlığı ile tanımlanabilir. Bağırsak iç sıvısında inkübasyon durumundaki kistin uyarılarak yarıp açılması ovoid ve flamaentsi hücrelerin salınması ile sonuçlanır. Kistin yarılması laterale göre daha ince olan ventral den dorsale doğru bir yarıma hattı boyunca olur. Kistin açılması muhtemelen bir proteaz aktivitesi ve pH ile olmaktadır. Bilinen birçok *Helicosporidium* konakçısı herbivor dur ve temel bir bağırsak pH'ına sahiptir (pH 9-12), ve bu pH yarılmayı tetiklemektedir (Boucias vd., 2001). Ayrıca mekanik baskının da kist açılmasına neden olduğu bilinmektedir. Kist yarılması enfeksiyonun başlaması için gereklidir, yarıma sonrası filamentsi hücre, ovoid hücreler ve sporoplasma bağırsağa yayılır. Salınım sonrası ovoid hücreler ve sporoplasma bağırsakta tek katlı zar yapısına sahip olmalarından dolayı bağırsak iç sıvı materyali ve pH değeri dolayısı ile bozular. Salınan filamentsi hücre tek çekirdeklidir ve sitoplâzmasında bol miktarda yağ bulundurur. Filamentsi hücre enfeksiyonu başlatmak için bağırsak epitelinden geçer, hipotez olarak bağırsak epitelinden

geçiş filamentsi hücreler üzerindeki kancaların yardımı ile olmaktadır, filamentsi hücre kancalarla önce bazal membrana tutunur sonrası bağırsak lümeninin içine girer. Bu mekanizmanın aynısı fungus ve Mikrosporidia'lardada görülür. Vücut boşluğuna geçen *Helicosporidium* kan ve yağ hücrelerine fagositoz ile yerleşir, değişim süreci filamentsi hücrenin boyunda kısalma ve yapıca şişmesi ile başlamış olur. İnokülasyondan 24 saat sonra filamentsi hücrenin kalınlığı ilk ince yapısından ($0.9 \pm 0.03 \mu\text{m}$) kıyasla önemli derecede değişikliğe uğrar ve kalınlaşır ($1.4 \pm 0.03 \mu\text{m}$). Değişimin bu safhasında filamentsi hücrenin uzunluğu ilk salınımdaki boyuna oranla kısalır. (Bläske-Lietze vd., 2006). Ultrastructure ve florasan boyama teknikleri filamentsi hücrenin kısalması ile nukleus ve sitoplazmanın hareket ettiğini ve bunu takiben nukleusun 2 bölünme geçirdiğini ortaya koymuştur. Filamentsi hücrelerin değişimi kist içindeki durumu ve yeni salınım olduğu zamana kıyasla lipit yapısının yok olması sitoplazmanın bir pelikül zar kadar incilmesi (20–26 nm, n510) ile karakterize edilir (Bläske-Lietze vd., 2006). Nukleus bölünmesini sitoplasma bölünmesi takip eder, sonrasında yeni oluşan hücrelerin etrafında yeni bir pelikül zar oluşur artık toplam 2 zar vardır biri içimsi çıkıntıları olmayan iç teki yeni zar biride içimsi çıkıntıları olan eski zar. 48 saat sonunda filamentsi hücrelerin $\%79 \pm 4$ 'ünün zar yapısının yatay (horizontal) eksen boyunca yarılp 4 çubuk şekilli yavru hücrenin salındığı gözlemlenmiştir, bu çubuk şekilli 4 hücre ilk yuvarlak şekilli, tekli vejetatif hücreleri oluşturur. Tekli vejetatif hücre eski zarının yırtılmasından hemen önce bir hücre bölünmesi olmaksızın yeni zarı salgılar. Hem yeni hem eski formdaki zar aynı kalınlıktadır. (yaklaşık olarak 30–35 nm, n510, ve 25–35 nm, n510,) (Bläske-Lietze vd., 2006). Yavru hücrelerin pelikül zarlarının oluşumu sitoplasma ve nukleus bölünmesi ana hücrenin zarı içersinde meydana gelir. Olgunlaşma ile yavru hücreler serbest kalır, eski zarın yırtılması ve yavru hücrelerin salınması 1 bölünme ile 2 yavru hücre oluşumu, 2 bölünme ile 4 yavru hücre oluşumu veya 3 bölünme ile 8 yavru hücre oluşumu sonrası gerçekleşebilir. Vejetatif hücre bölünme safhası boyunca inkübasyondan 3-5 gün sonra sayısal değeri hızla artan yavru hücrelerin vejetatif hücre popülasyonunun $\%46 \pm \%5$ (n56) nin tek hücreli yavru aşamasında ve $\%24 \pm \%2$ 'sinin 2 hücreli $\%23 \pm \%3$ 'ünün 4 hücreli ve $\%8 \pm \%1$ (n56)'nin 8 hücreli aşamada olduğunu göstermiştir. Vejetatif hücre kültürü hareketsiz safhaya geldikten sonra çok sayıda tek hücreli aşama kaydedilmiştir. ($\%70 \pm \%4$) (Bläske-Lietze vd., 2006). Vejetatif bölünmeler sonrası 2,4 veya 8 hücreli form ana hücrenin zarı içinde görülebilir, ana hücrenin yırtılmasına nedeni tam olarak bilinmemektedir.

Enfeksiyondan günler sonra kist oluşumu gözlenir ve kist oluşumunun konakçının yaşamı ile orantılı olduğu düşünülmektedir. Uzun yaşayan konakçılarda kist oluşumunun geciktiği bilinmektedir. Kist oluşumuna neden olan uyartı henüz bilinmemekle birlikte,

yüksek hücre bölünmesi ile sıvı ortamın yok olması kist oluşumunda etkili olduğu görülmemektedir. Konakçının ölümünün kist oluşumunda etkili olduğu da kanıtlanmamıştır. Kist oluşumunun genetik olarak kararlı oran üreten 4 hücreli vejetatif formdan türediği ve 3 hücre ovoid hücrelere 1 hücre filamentsi hücrelere farklılaştığı bilinmektedir (Keilin, 1921). İn vitro ortamda da 4 hücreli kist oluşumunun gözlemlenmesi de safhalarda konakçıya enjekte edildiğinde kist oluşumunun gözlemlendiği de bu varsayımı kanıtlamaktadır. Kistlerin dış ortama salınması ile sonraki konakçı neslinin enfeksiyonu sağlanmakta ve kistlerin dağılma metodu bilinmemektedir.

1.7. Tezin Amacı

Ladin oranlarında en önemli zararlı böcek türlerinden biri olan *D. micans* böceği ile biyolojik mücadelede kapsamında predatör böcek *R. grandis* böceğinin üretimi yapılmaktadır. Bunların yanında yürütülen biyolojik mücadele çalışmaları kapsamında alternatif yöntemlerin varlığı araştırılmış ve *D. micans* zararlısında ölümcül patojenik enfeksiyon yapan *Helicosporidium* patojeninin varlığı Yaman ve Radek (2005a) tarafından tespit edilmiştir. 2007 yılında *Helicosporidium* patojeninin predatör böcek olan *R. grandis*'te de enfeksiyon yaptığı tespit edilmiştir (Yaman ve Radek, 2007).

Bu yüksek lisans tezinde ladin ve çam ormanlarında önemli bir zararlı olan dev kabuk böceği *Dendroctonus micans* (Kugelann) (Coleoptera: Scolytidae)'da enfeksiyon yapan *Helicosporidium* patojeninin *D. micans* ile mücadelede en yaygın olarak kullanılan predatör böcek olan *Rhizophagus grandis* (Gyllenhal) (Coleoptera: Rhizophagidae) böceğine Türkiyede Doğu karadaniz bölgesindeki yedi farklı *R. grandis* üretim laboratuvarlarındaki *Helicosporidium* enfeksiyonunun geçiş potansiyeli çalışılmıştır. Ayrıca *Helicosporidium* patojeninin farklı mikroskopik metotlar ile tanımlanmasının yanı sıra *R. grandis* predatör böceğindeki dağılımı incelenmiştir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Tez çalışma sürecinde *Helicosporidium* enfeksiyonunun varlığı, dağılımı ve predatör böceğe geçiş potansiyeli araştırılmıştır. Çalışılacak olan materyaller *D. micans* larva ve erginleri ile *D. micans*'ın predatör böceği olan *R. grandis* erginleridir. Bundan dolayı *D. micans* ve *R. grandis* böceklerinin eş zamanlı olarak üretim laboratuvarlarından temin edilmesine önem gösterilmiştir. Toplanan *D. micans* larvaları ve erginleri üzerinde, tez çalışmasının temel konusu olan *Helicosporidium* patojeni belirlenmesi, izole edilmesi, morfolojik ve karakteristik özelliklerinin belirlenmesi ve predatör böcek olan *R. grandis*'e geçiş potansiyelinin belirlenmesi amacıyla çeşitli deneyler yapılmıştır.

2.1. Böceklerin Elde Edilmesi

Tez çalışması boyunca ihtiyaç duyulan ölü *R. grandis* ergin böcekleri Trabzon: Maçka ve Şalpazarı, Artvin Merkez, Ardanuç ve Şavşat, Giresun Merkez ve Ordu Merkez'de bulunan *R. grandis* üretim laboratuvarlarından elde edildi. Böceklerin elde edilmesi sürecinde aşağıdaki yöntemler izlendi.

Çalışmalar boyunca böcekler düzenli bir şekilde steril penslerle toplanıp şişelere konularak laboratuara aktarıldı. Kontaminasyonu engellemek ve enfeksiyon dağılımını doğru bir şekilde tespit etmek için her bölgeden toplanan böcekler, alındıkları bölge, tarih, ve toplama esnasında dikkat çeken diğer bulgu ve özellikler gibi bilgiler düzenli olarak yazılarak toplandı. Numuneler dikkatli ve hızlı bir biçimde laboratuara getirildi ve hızlı biçimde çalışmalara başlandı.

Helicosporidium patojeninin *R. grandis* predatör böceğindeki dağılımı çalışmalarını sırasında enfeksiyonun *R. grandis* erginlerinde erkek ve dişi böceklerde ayrı ayrı enfeksiyon yoğunluğunun çalışılması için böcekler cinsiyetlerine göre ayrıldı. Ayrım *R. grandis* erginlerinin abdomen bölgelerinde son segmentlerindeki çıkıntının şekli ile yapılmıştır (Şekil 4 D). *R. grandis* erginlerinde *B. bassiana* türü mantarın abdomenin son segmentinde yoğun enfeksiyon yaptığı örneklerde cinsiyet ayrımı yapılamadı (Şekil 7 A, Tablo 3).

2.2. Mikroskopik Çalışmalar

Tespit edilen enfeksiyonların histopatolojisini, morfolojik ve anatomik özelliklerini belirlemek için bir seri ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu (TEM) çalışmaları yapıldı.

2.2.1 Işık Mikroskobu Çalışmaları

Arazi ve laboratuarlardan elde edilen örnekler dikkatli bir biçimde önceden hazırlanan Ringer's solüsyonu içerisinde diseksiyon edildi. Diseksiyon sırasında patojenin hangi dokularda etkin olduğunun gözlemlenebilmesi için böcek dokuları dikkatli bir biçimde abdomen ve torax bölgesinden disekte edildi. Daha sonra lam üzerinde hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu (Olimpus CX41) altında 40x ile 1000x arasındaki büyütmelemlerde incelendi. Tespit edilen patojen ve parazitler DP-25 dijital kamera ve DP2-BSW resim sistemli aparatı mevcut olan Olympus BX51 mikroskobu kullanılarak karakteristik ölçümleri yapılarak fotoğraflandı.

Özellikle böcek dokularında bulunan farklı maddelerin ışık mikroskobundaki morfolojisi ve ön ve orta bağırsakta besin artıklarının morfolojik şekilleri ile bazen ölçüleri dahi birçok patojenin spor yapılarına oldukça benzerlik gösterir. Bu tez çalışması sırasında tespit edilen patojen ve parazitleri besin artıkları ve organik olmayan kristallerden kesin olarak ayırmak için Giemsa boyama tekniği kullanıldı ve enfeksiyonun gerçekleştiği dokuların tespiti için doku preparatı çalışmaları yapıldı. Giemsa boyama sonrası gözlenen sporlar tekrar ölçülerek karşılaştırma yapıldı.

2.2.1.1. Giemsa Boyama

Giemsa boyası nüklear ve sitoplazmik hücresel ayrıntıları net olarak ayırabilen farklı bir boyadır. Bu nedenle patojen ve parazitlerin spor ve vejetatif safhalarının aydınlatılmasında ve teşhisinde yardımcıdır. Işık mikroskobu için mevcut birçok boya içinde Giemsa boyası nüklear yapıyı koyu mavi renkte doku parçalarını ve zemini açık mavi ve kırmızı renkte boyar, bunun yanı sıra spor duvarını boyamaması ile patojen ve parazitlerin teşhisine yardımcı olmak amacıyla yaygın olarak kullanılan bir boyadır. Boyama işlemi şu şekilde gerçekleştirildi; enfeksiyon tespit edilen preparat önce oda sıcaklığında açık havada kurutuldu istenmeyen kontaminasyonların oluşmaması için %100'lük metil alkolde 3 dakika bekletildi,

sonrasında tekrar oda sıcaklığında kurutuldu, önceden %5'lik saf su ile hazırlanan giemsa boyada ortalama 10 saat bekletildi, boyama sonrası steril su akıtılarak yıkandı ve kurumaya konuldu daha sonra immersiyon yağı kullanılarak mikroskop altında 1000x büyütmede incelendi (Toguebaye vd., 1988; Undeen ve Vavra, 1997; Hunter-Fujita vd., 1998).

2.2.2. Elektron Mikroskobu Çalışmaları

Elektron mikroskobu çalışmaları patojenlerin gerek dış yüzeyinin, gerekse içyapılarının incelenmesinde büyük önem arz etmekte olup, patojenlerin aydınlatılmasında çok değerli veriler sağlamaktadır. Bu nedenle bu tez içinde, izole edilen *Helicospiridium*'un transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanılarak ayrıntılı yapısı çalışıldı. Elektron mikroskobu için hazırlanan kesitler Philips JM 208 marka elektron mikroskobunda Almanya'da incelendi ve fotoğrafları çekildi.

2.2.2.1. Resin'e Gömme İşlemi ve Elektron Mikroskobu Çalışması

Helicospiridium enfeksiyonunun gerek elektron mikroskobu gerek doku preparatı çalışmalarında kullanılması için diseksiyon sırasında böceğin abdomen kısmı açılarak bağırsak ve yağdoku incelenmek üzere lam üzerine yerleştirildi, böceğin kalan kısmı ayrıldı. Enfeksiyon tespit edilen numunenin enfeksiyonun gerçekleştiği böcek doku parçaları lam üzerinden alınarak doku preparatı ve elektron mikroskobu çalışmaları için kullanıldı.

Böcek doku parçalarının elektron mikroskobu çalışması için Resine gömme işlemleri ve aşamaları aşağıda verilmiştir.

Doku materyali pH'ı 7,2 olacak şekilde 0,1 M cacodylate buffer ile seyreltilen % 2,5'lük glutaraldehide içersinde iki saat fiksasyon yapıldı. 0,1 M cacodylate buffer pH 7,2 içersinde 10'ar dakika üç kez yıkandı. Fiksasyon sonrası O₃O₄ ile 2 saat zayıflatıldı. Tekrar 0,1 M cacodylate buffer pH 7,2 içersinde 10'ar dakika üç kez yıkandı.

Hazırlanan %30, %50 ve %70'lik etanol ile sırası ile 15'er dakika ve %90, %96 ve %100'lük etanol ile üçer kez 10'ar dakika muamele edilerek dehidrasyon sağlandı.

1:1 oranında hazırlanan ERL: etanol karışımı ile 1 saat muamele edildi. 3:1 oranında hazırlanan ERL: etanol karışımı ile 4 saat muamele edilerek Epoxy resin numuneye emdirildi. Saf ERL içersinde bir gece boyu bekletildi. Taze saf ERL ile beem tüplerine aktarıldı ve ortalama 48 saat 70°C'de etüv içersinde sertleşmeye bırakıldı. Resinlerden ultra mikrotom

kullanılarak kesitler alındı bu kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyandı (Radek ve Fabel, 2000).

2.2.3. Doku Preparatı Çalışmaları

Doku preparatı çalışmaları, patojenin böcek vücudu içerisinde hangi dokulara etki ettiğinin, hayat döngüsü sırasında hangi dokulara geçtiğinin aydınlatılmasında oldukça yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir.

2.2.3.1. Doku Preparatı Hazırlanma Aşmaları ve Boyama İşlemleri

1 cm'nin altında normal boyutlu dokular 3 saat Caynoy'un fiksativinde bekletildi (gerekirse canlının dış derisine delik açılabilir). 1 cm'nin üstünde tam bir numune 12 ile 24 saat arası bekletildi.

%70'lik alkol içinde yaklaşık 1 saat yıkandı, bu aşamada doku daha sonraki işlemler için %70'lik alkol içinde saklana bilir.

1. Aşamada (oda sıcaklığı) %80 ve %95 etanolde 2'şer saat, %100 etanol de 1 saat tekrar %100 etanolde 1 saat ve saf etanol: butanolde (1-1) 2 saat bekletildi.

2. Aşamada (25,5⁰C'nin üstünde t-butil alkolün erime noktası) %100 butanolde 2 saat bekletildi, bu aşama üç kez tekrarlandı.

3. Aşamada (60⁰C fırında) butanol: parafinde (1-1) 2 saat, %100 parafinde 2 saat tekrar %100 parafinde 2 saat (vakum altında) bekletildi, sonrasında kaba parafin az miktarda döküldü, biraz soğumasına izin verildi, üzerine doku koyuldu, üzeri tekrar parafinle kapatıldı ve hızla soğutuldu. Parafin soğuduktan sonra uç kısmı kesildi ve mikrotom için hazır hale getirildi. Mikrotom ile kesim yapıldı, kesilen şeritler 5⁰C de ısıtılmış slâytlara yerleştirildi, 5⁰C lik sıcak su içinde parafin erir, şeritler slâytlar ile alındı ve kurutuldu.

Parafinin Ksilen veya Hemo-DeTM ile uzaklaştırılması işlemlerinin adımları aşağıda verilmiştir:

Saf ksilen: etanolde (1-1) 3 dakika, Saf etanolde 3 dakika, %95'lik etanolde 3 dakika, %70'lik etanolde 3 dakika, %50'lik etanol de 3 dakika, distil suda 3 dakika bekletildi, bu sırada numunenin kurumasına izin verilmesine dikkat edildi.

Boyama işleminde en yaygın kullanılan Hemotoksilin ve Giemsa boyasıdır, Heidenhais'in Hemotoksilin boyası nüklear materyali mavi siyah veya kahve siyah boyar, zaman alan ama dayanıklı bir boyadır.

2.3. *R. grandis* Predatör Böceğine *Helicosporidium* Patojeninin Bulaşma Şekli Üzerine Yapılan *Helicosporidium* Biyoassay Deneyleleri

R. grandis predatör böceğinin *Helicosporidium* patojenini ne şekilde aldığı ve enfeksiyona yakalanma potansiyeli, enfeksiyondan en az zararla kurtulma çalışmaları açısından önemlidir. *Helicosporidium* patojeninin *D. micans* larvalarından *R. grandis* erginlerine bulaştığı düşünülmektedir. Bulaşma yolunun bulunması için birçok deney yapılmıştır.

Helicosporidium enfeksiyonunun *D. micans* larvaları ile *R. grandis* böceğine bulaştığı teorisinin kanıtlanması için Ordu ilinde kütük deneyleri yapıldı. *Helicosporidium* patojeni ile enfekte edilmiş kütüklerde *D. micans* larvaları bir süre beslemeye bırakıldı, takibinde *R. grandis* böcekleri enfeksiyon kapmış *D. micans* larvalarının bulunan kütüklere verildi. Ayrıca bir kütükte sağlıklı *D. micans* larvalarının bulunduğu kontrol kütüğü oluşturuldu, *R. grandis* böceği bu kütüklerdeki *D. micans* larvaları ile beslendi.

Helicosporidium patojeninin biyoassay deneylerinin bir kısmı da Zooloji II laboratuvarında yapıldı. Bu deneylerde İngiltere'deki *R. grandis*'in üretim stratejisi (Fielding ve Evans 1997) örnek alınarak sandviç sistemi uygulandı. Ağaç kabuğu parçaları içersinde kontrol gurubu dahil olmak üzere, deney kütük kabukları oluşturuldu, kabukların bir yüzüne keskin bir maket bıçağı yardımı ile oyuklar açıldı. Enfeksiyon bir fırça yardımı ile bu oyuklara bulaştırıldı. *D. micans*'ın 2, 3 ve 4. instardaki larvaları bu oyuk bölgelerine yerleştirildi, beslenmeleri için 10 – 15 gün süreyle iklim dolabına 22⁰C ve %60'lık nem oranında bekletildi (Şekil 8 D,E ve F). Deney sonrasında deney yapılan kütük kabukları açılarak böcekler toplandı. Diseksiyon yapılarak enfeksiyonun miktarı kaydedildi. Enfeksiyon miktarının tespiti sonrası enfekte *D. micans* larvaları 2 – 3 gün aç bırakılarak bekletilen *R. grandis*'lere verildi. *R. grandis*'lerin enfeksiyona hangi oranda yakalandığı tespit edildi ve kayıt altına alındı. Ayrıca üretim laboratuvarlarındaki kütüklerde enfeksiyonun günlük takibi için Maçka, Şalpaazarı ve Giresun'daki üç farklı *R. grandis* üretim laboratuvarlarına üretim kütükleri yerleştirildi. Böylelikle enfeksiyonun üretim aşamasındaki hareketliliği takip edildi (Şekil 8 A).



Şekil 8. *R. grandis* biyoassay deneyleri. A, B, C: Üretim laboratuvarlarından getirilen deney ve kontrol kütükleri, D, E, F: Larvalara *Helicospodium* patojeni verilerek yapılan deneyler.

3. BULGULAR

Tez çalışması boyunca 2963 tane *R. grandis* örneği, Trabzon: Maçka ve Şalpazarı, Artvin: Merkez, Ardanuç ve Şavşat, Giresun: Merkez ve Ordu: Merkez bölgelerindeki yedi farklı *R. grandis* üretim laboratuvarından elde edildi. Mikroskopik çalışmalar ile diseksiyonu yapılan numunelerde başlıca 4 farklı tipte patojene rastlandı. *Helicosporidia*, *Microsporidia*, Neogregarine ve *Metschnikowia* enfeksiyonları tespit edildi. Tez süresince bu patojenlerin enfeksiyon varlığı ve dağılımı çalışıldı. Tespit edilen patojen ve parazitler ile ilgili ayrıntılı bilgi aşağıda verilmiştir.

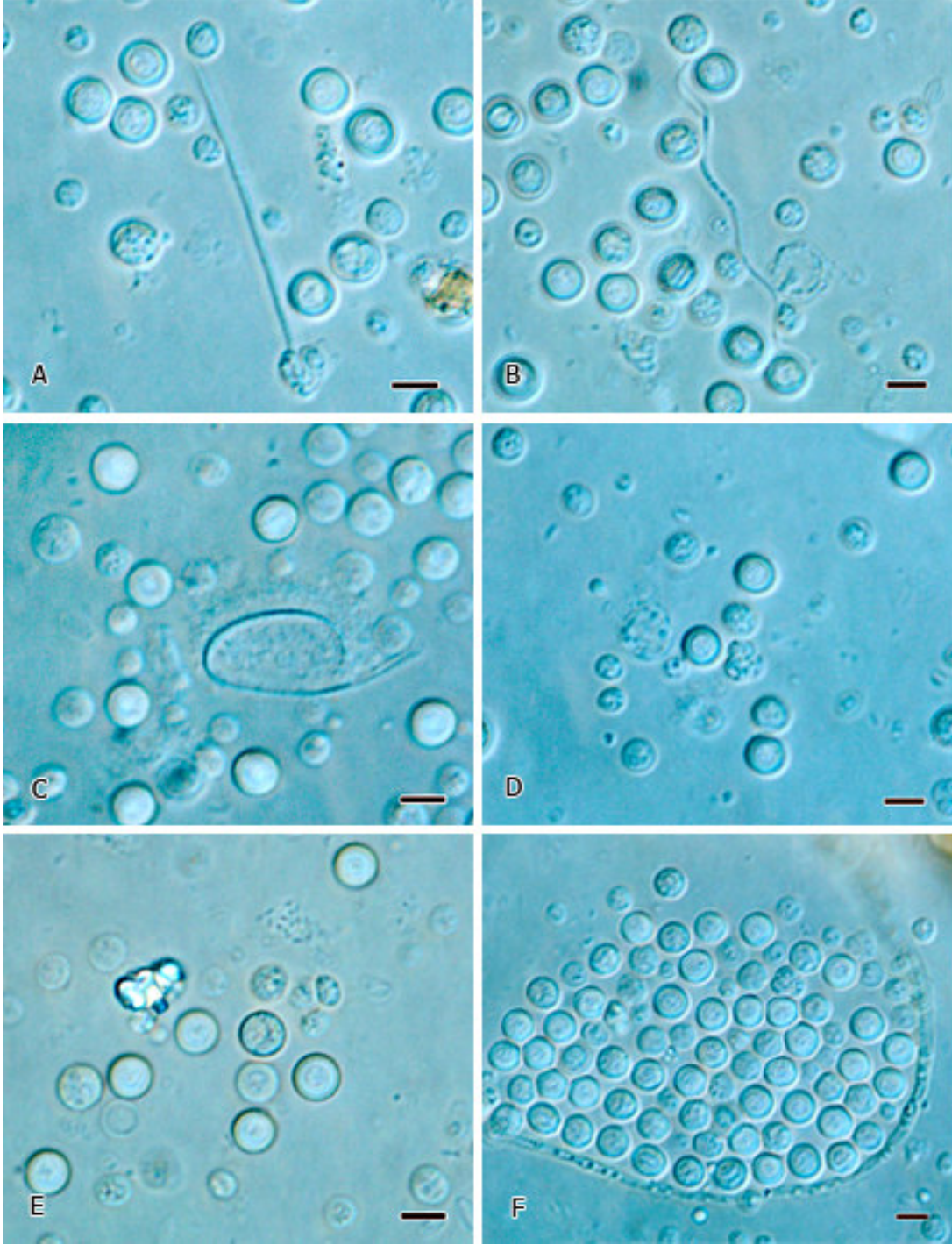
3.1. *R. grandis* Böceklerinde *Helicosporidium* Patojeninin Belirlenmesi

Bu yüksek lisans tezinde Türkiye ormanlarında önemli bir ladin ve çam zararlısı olan *D. micans* ve bu zararlının mücadelesi için orman bakanlığı tarafından kurulan laboratuvarlarda üretilen *R. grandis* predatör böceğinde patojenik enfeksiyon yapan *Helicosporidia*'nın varlığı, dağılımı ve *D. micans*'tan predatör böcek olan *R. grandis*'e geçiş potansiyeli çalışıldı. *Helicosporidium* patojeninin ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu çalışmaları ile patojenlerin varlığı tespit edildi.

3.1.1. Işık Mikroskobu ile *Helicosporidium* Patojeninin Varlığının Tespit Edilmesi

Laboratuara getirilen böceklerin mikroskopik inceleme sonuçları aşağıda verilmiştir. Işık mikroskobu çalışmaları direk dokunun incelenmesi, giemsa boyama teknikleri ile şüphelenilen numunelerin incelenmesi ve tespit edilen enfeksiyonun doku preparatı hazırlanarak incelenmesi olarak üç şekilde gerçekleştirildi. Doğrudan taze dokuların incelenmesi çalışmalarında, enfeksiyonun bulunduğu dokulardaki morfolojik farklılıklar normal dokular ile karşılaştırılarak net bir şekilde ayırt edildi. Taze preparatlardaki doku hücrelerinde ayrıntının kaybolması, özellikle yağ dokusu ve kan hücrelerinin yapısal bozukluğu ile *Helicosporidium* patojeninin tanımlanmasında en karakteristik safha olan kist varlığının gözlemlenmesi gibi belirtiler ortaya konuldu. Enfeksiyonun bol olduğu numunelerde *Helicosporidium* patojeninin hayat döngüsündeki birçok önemli safha; filamentsi hücrenin kistten salınım anı, filamentsi hücrenin kan veya yağ dokusuna giriş anı, vejetatif hücrenin 2–4–8 aşamalı bölünme safhaları ile tekrar kist oluşturmaya başladığı

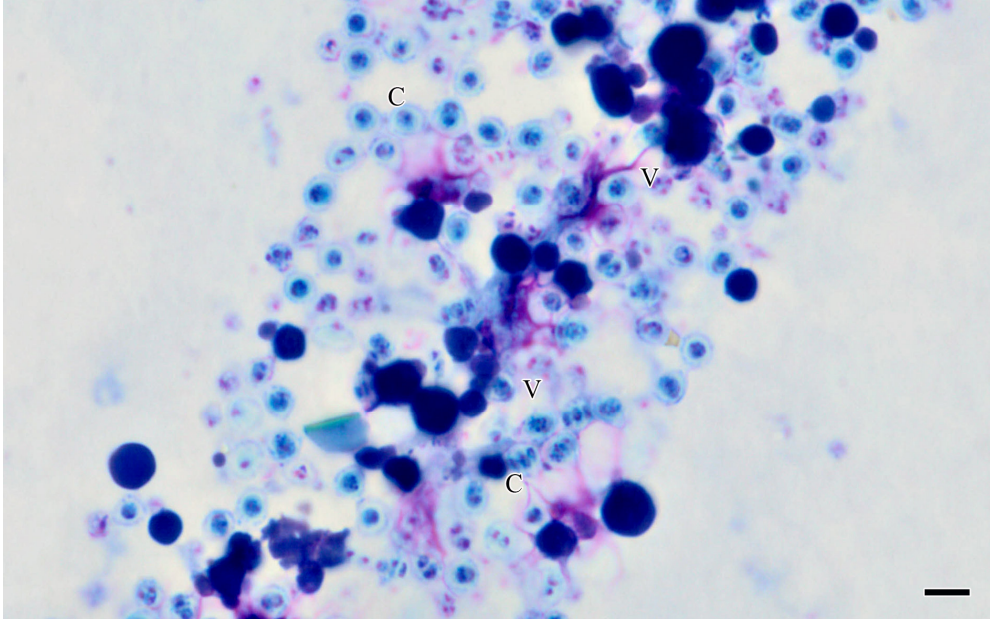
safhalar kolaylıkla gözlenebildi (Şekil 9). *Helicosporidium* patojeni gözlenen taze preparatlarda yapılan spor çapı ölçümleri $5,02 \pm 0,39 \mu\text{m}$ ($5,9 \mu\text{m} - 3,6 \mu\text{m}$) ($n = 311$) olarak bulundu. Yaman ve Radek (2007)'de *R. grandis* böceklerinde ilk kez *Helicosporidium* patojeninin enfeksiyon yaptığını tespit etmişlerdir ve çalışmalarında *Helicosporidium* patojeninin karakteristik safhası olan kist yapısını $5.1 \pm 0.3 \mu\text{m}$ ($n = 24$) olarak tespit etmişlerdir. Bu ölçümler tipik *Helicosporidium* patojeni boyutu ile uyusmaktadır.



Şekil 9. *Helicosporidium parasiticum* patojeni hayat döngüsü: A. Filamentsi hücrenin kistten dışarı salınım safhası; B. Filamentsi hücre boyunda kısıalma ve pelikül zar yapısı; C. Filamentsi hücrenin kan hücresine girişi; D. Vejetatif hücelerde 4 ve 8'li hücre bölünmeleri ile çoğalma safhaları; E. Yeniden kist oluşum safhası; F. Kist ve vejetatif hücrelerin beraber görünümü. Bar: 5 μ m.

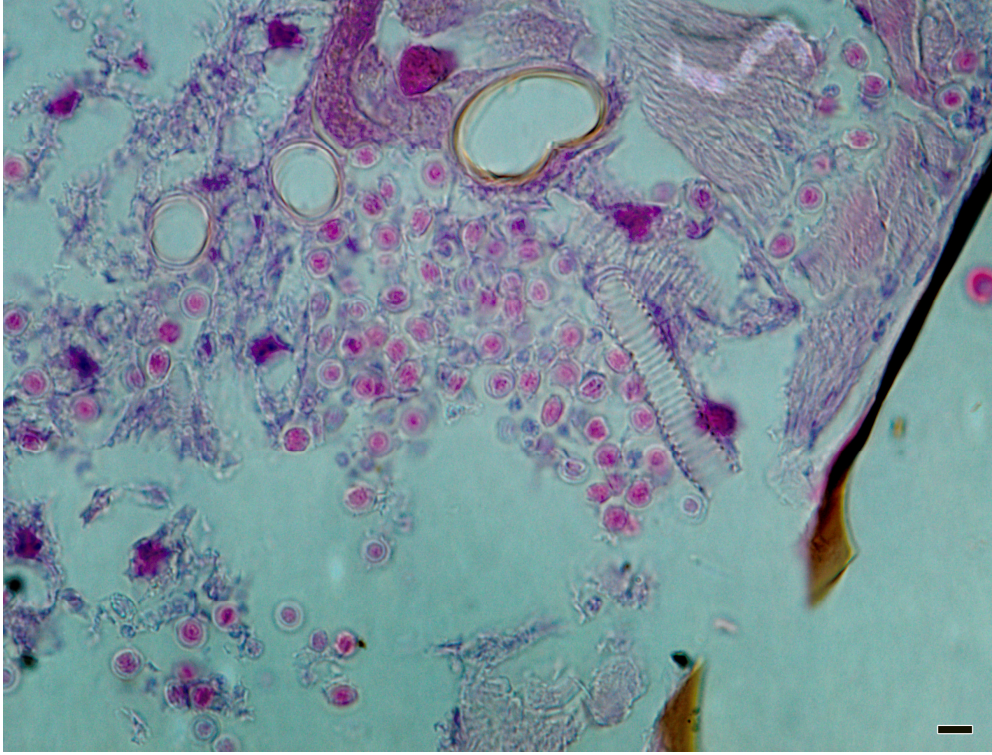
Çeşitli patojen tipleri, farklı özellikteki yapılarının varlığı ile karakterize edilir. Özellikle yağdokusu ve kan hücreleri oval ve yuvarlak şekilleri ile *Helicosporidium* enfeksiyonun karakteristik safhası olan kist safhasına benzemektedir. Bunların yanında *R. grandis* böceklerinde yaygın bir enfeksiyonuna yapan *B. bassiana* mantarı dikkatli şekilde irdelenmediği sürece morfolojik olarak *Helicosporidium* patojeninin kist yapısına bir nebze benzerlik gösterir. Bu tür karışıklıkları engellemek, *Helicosporidium* patojenini ayırmak ve tespit etmek için, değişik boyama metotları kullanıldı. Boyama metotlarıyla da enfeksiyona yakalanmış böceklerde *Helicosporidium* patojeni varlığı ayırt edilebildi.

Giemsa boyası nüklear ve stoplazmik hüresel ayrıntıları net olarak ayırabilen farklı bir boyadır. Giemsa boyası kalın hücre zarını boyamayan, stoplazmik yapı ile lipit tabakasını açık renkte, nüklear materyali koyu mavi renkte boyayan bir boyadır. *Helicosporidium* patojeninde giemsa boyasının kist yapısında hücre zarını ve filamentsi hücreyi boyamadığı görülür, bu nedenle kist içersinde sarmal olarak kist zarına temas eden filamentsi hücrenin varlığı, giemsa boyasında, kistin çevresinde beyaz bir halka yapısı olarak görülür. İçteki ovoid hücrelerin nüklear yapıları koyu yağ dokusu açık mavi tonlarında boyanır. Sıralı dizilmiş olan ovoid hücreler kolaylıkla görülebilmektedir (Şekil 10). Kist yapısında nüklear materyal koyu renkte boyanır, vejetatif safhalar ve ovoid hücrelerin nüklear materyali koyu mavi görünür. Vejetatif hücreler kistlere nispeten ince bir zara sahiptir ve boya kolaylıkla bu zardan geçebilir. Vejetatif hücrelerin sitoplazmik yapısı açık mavi hücrelerin nüklear bölmeleri koyu mavi renkte görülürler. Vejetatif bölünmede en fazla gözlenen safhalar iki yeni hücrenin oluştuğu ilk vejetatif bölünme ile dört yeni hücrenin oluştuğu ikinci bölünme sonrası safhadır. Dört yeni hücreli safha ışık mikroskobunda daima üç hücreli gibi görülür, hücrelerden biri daima altta kalır (Şekil 10).



Şekil 10. Giemsa boyalı *Helicosporidium* patojeni preparatı (C: kist, V: vejetatif hücre) (Bar: 5 µm).

Doku preparatı çalışmaları hastalığın hangi dokularda enfeksiyon özelliği gösterdiğinin bulunması, enfeksiyonu yapan patojen ve parazitlerin hayat döngülerinin çalışılması ve vertikal ve horizontal taşınım varlığı ile şeklinin incelenmesinde oldukça yardımcı bir tekniktir. Yapılan çalışmalarda *Helicosporidium* patojeninin kas dokusu, gevşek bağ dokusu ve özellikle vücut boşluğundaki kan hücrelerinde enfeksiyon yaptığı, filamentsi hücrenin bağırsak boşluğunda açıldığı ve filamentsi hücrenin vücut boşluğuna geçtiği tespit edildi. Vejetatif hücreler yoğun olarak vücut boşluğunda, açık kırmızı renkte gözlemlendi. Doku preparatı hazırlanması aşamalarında yağ dokusunun parçalanmasından dolayı yağ dokusu tam olarak görülememektedir. Doku preparatı örneklerinde *Helicosporidium* patojeninin vücut boşluğunda yoğun olarak bulunduğu gözlemlendi (Şekil 11).



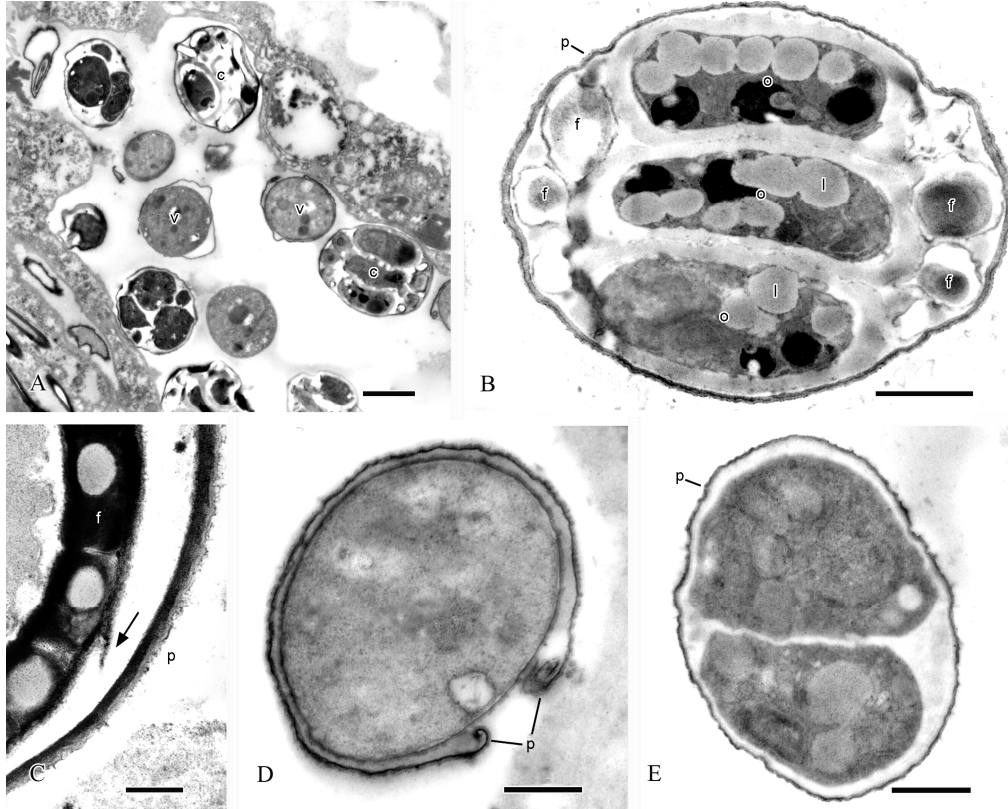
Şekil 11. *R. grandis* doku preparatında *Helicosporidium* patojeninin varlığı (Bar: 5µm).

3.1.2. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile *Helicosporidium*'un İncelenmesi

Literatürde tek bir *Helicosporidium* patojeni türü vardır ve *Helicosporidium parasiticum* olarak adlandırılır. Elektron mikroskobu çalışmaları ile *Helicosporidium* patojenin varlığı ve *Helicosporidium* patojeninin karakteristik safhası olan üç ovoid hücre ve bir filamentsi hücre ihtiva eden kist safhasının yapıları irdelendi.

Elektron mikroskobu çalışmalarında, enfeksiyon temel olarak kist varlığı, bunun yanında vejetatif safhalarının varlığı ve filamentsi hücrenin ve ovoid hücrelerin salınması sonrası boş zar yapısı olarak tanımlanan pelikülün varlığı ile tanımlanır (Kellen ve Lindegren, 1974) (Şekil 12 D). *Helicosporidium* patojeninin tipik hayat döngüsü safhası, pelikül zar içerisinde üç ovoid hücre ve üç veya dört halka oluşturan uzunlamasına filamentsi hücreyi bulunduran kist yapısıdır (Boucias vd, 2001; Bläske-Lietze ve Boucias, 2005) (Şekil 12 B). Pelikül zar lateral bölgede (90 nm, n = 8) dorsal / ventral bölgeye oranla (56 nm, n = 8) daha kalın yapıdadır (Şekil 12). *Helicosporidium* patojeni karakteristik bir lipit yapısı bulunan sitoplâzma sahiptir (Şekil 12 B). Filamentsi hücre yüzeyinde yaklaşık 375 nm uzunluğunda

iğne şekilli kancalara sahiptir (Şekil 12 C). Filamentsi hücrenin hücre zarı yaklaşık 60 nm kalınlığındadır. Vejetatif hücreleri çevreleyen pelikül zar 40 – 45 nm kalınlığı ile en ince zardır. Yeni oluşan vejetatif hücrelerin salındığı hayat döngüsü aşamasından arta kalan pelikül zar kesiti genellikle tipik içeri doğru kıvrımlar gerçekleştirir (Şekil 12 D). Vejetatif safha pelikül zar içersinde birçok yeni oluşan hücreleri içeren bölünme safhasıdır (Yaman ve Radek 2007) (Şekil 12).



Şekil 12. *Helicosporidium* patojeninin TEM elektron mikroskobu resimleri, A: Olgun kist (c) ve vejetatif safhalar (v) (Bar 2 μ m), B: Pelikül zar içersinde (p) üç ovoid hücre (o) ve bir filamentsi hücre (f) bulunduran kist yapısı (l lipit yapısı) (Bar: 1 μ m). C: Filamentsi hücrenin yüzeyinde kanca benzeri yapı (Bar: 500 nm), D: Vejetatif hücre ve etrafındaki eski pelükül zar (p) (Bar: 500 nm), E: Vejetatif hücre bölünerek yeni vejetatif hücrelerin oluşumu (Bar: 500 nm) (Yaman ve Radek, 2007).

3.2. *R. grandis* Predatör Böceğine *Helicosporidium* Patojeni Bulaşma Yolu Üzerine Yapılan Biyoassay Deneyler

Tez çalışması süresince *Helicosporidium* patojeninin *R. grandis* predatör böceğine geçiş yolu üzerine çalışmalar yapıldı. *Helicosporidium* patojeni özellikle hemolenfte enfeksiyon yapmaktadır. *R. grandis* ergin ve larvalarının, *D. micans* larva ve erginlerinin kan sıvısı ile beslendiği bilinmektedir. Bu durumda enfeksiyonun *D. micans* böceğinden *R. grandis* predatörüne bulaştığı düşünüldü ve çeşitli deneyler yapıldı. Yapılan çalışmalar sırasında *R. grandis* üretim laboratuvarlarından elde edilen *D. micans* larvalarının bir kısmı kesilerek enfeksiyon olmayan bölge tespit edilmiş ve bir kontrol gurubu dahil 15'er böcek yerleştirilen kütük sandviç deneyleri hazırlandı. *Helicosporidium*'un kist oluşumu için yeterli süre olan 10-15 günlük süreç sonrası deneyler açılarak enfeksiyon varlığı tespit edildi. Deney uygulanan kontrol gurubunda beklendiği şekilde enfeksiyona rastlanmadı. *Helicosporidium* patojeni verilen kütük kabuklarında canlı kalan *D. micans* larvalarında enfeksiyon oranı % 80 çıkmıştır. Ölen larvalarda enfeksiyon % 75 oranındadır. Ergin böceklerde enfeksiyon % 16 oranındadır. Enfeksiyon kapmamış laboratuvarlardan elde edilen *R. grandis* böcekleri, deney yolu ile enfeksiyon verilen *D. micans* larvaları ile beslendi. 10-15 günlük süre sonrasında *R. grandis* böcekleri incelendiğinde % 60 oranında enfeksiyona yakalandığı tespit edildi (Tablo 2). Enfeksiyonun *R. grandis* predatör böceğine *D. micans* zararlısı yolu ile bulaştığı kanıtlandı. Ordu ilinde yapılan deneylerin sonuçlarına bakıldığında, *Helicosporidium* enfeksiyonu verilen besinlerle beslenen *D. micans* larvalarının bulunduğu kütüklere yetiştirilen *R. grandis*'lerin *Helicosporidium* enfeksiyonuna % 13 oranında yakalandığı tespit edildi. Kontrol gurubu olarak sağlıklı larvaların bulunduğu kütüklerde yetiştirilen *R. grandis*'lerin enfeksiyona yakalanmadığı gözlemlendi. Ayrıca periyodik olarak üretim laboratuvarlarından elde edilen *D. micans* ve *R. grandis* böceklerinin diseksiyonu sırasında Maçka'daki *R. grandis* üretim laboratuvarlarından 2008 yılında Mayıs ayında elde edilen *R. grandis* larvalarında *Helicosporidium* patojeni varlığı % 23,5 olarak tespit edildi. Aynı tarih ve laboratuardan elde edilen *D. micans*'larda enfeksiyon % 24 olarak tespit edildi.

Tablo 2. *Helicospiridium* patojeni biyoassay deneyleri sonuç tablosu

<i>Helicospiridium</i> patojeni biyoassay deneyi	Enfekte edilenböcek sayısı	Boş	Msch	Hlc	Msch + Hlc	Nmt	Msch + Nmt	Hlc +Msch +Nmt
D. micans böceği Deney tarihi 15,04,08, Diseksiyon tarihi 30,04,08 Ergin böcek canlı	31	0	28		3			
D. micans böceği Deney tarihi 10,05,08, Diseksiyon tarihi 22,05,08 Ergin böcek canlı	18	7	6	2		1	1	1
Larva böcek canlı	55	1	15	8	31			
Larva böcek ölü	36	9	14	3	10			
D. micans böceği Deney tarihi 10,06,08, Diseksiyon tarihi 24,06,08 Larva böcek canlı	10		2	2	6			
Larva böcek ölü	14		10		4			
R. grandis böceği Deney tarihi 25,06,08, Diseksiyon tarihi 14,07,08 Ergin böcek canlı	14	5		9				
Toplam	178	22	75	24	54	1	1	1

Hlc. *Helicospiridium*.; Msch. *Metschnikowia* sp.; Nmt. Nematod.

3.3. *Helicospiridium* Patojeninin *R. grandis* Popülâsyonlarındaki Dağılımı

Tez süresince dört farklı ildeki yedi farklı üretim laboratuvarından gelen böcekler incelendi *Helicospiridium* patojeni varlığı ve dağılımı tespit edildi. Her iki böcek türünde de dişi erkek ayrımı literatüre dayanılarak yapıldı ve enfeksiyon dağılımı tespit edildi. İncelenen 2963 *R. grandis* örneklerinden 93 tanesinde *Helicospiridium* enfeksiyonuna rastlandı (% 3,1). *R. grandis* böceklerinde tespit edilen *Helicospiridium* patojeni dağılımı Tablo 4'de verilmiştir. *R. grandis* böceklerinde en yüksek *Helicospiridium* patojenine % 46,6 ile 2006 yılında Artvin de rastlandı. 2007 yılında genel enfeksiyon oranı % 1,3 oranında tespit edildi, en yüksek enfeksiyon % 8,3 olarak tespit edildi. 2008 yılında % 4,8 oranında bulundu, 2008 yılı içinde en yüksek enfeksiyon % 26,3 olarak bulundu. En düşük enfeksiyon ise % 0,8 ile Trabzon ilindeki laboratuvarlarda rastlandı. *R. grandis*'te *Helicospiridium* enfeksiyonununun 2007 yılı içi senelik dağılımına bakıldığında, aylara göre dağılımın en yüksek enfeksiyon oranına % 2,8 ile Ekim ayında rastlandı. En düşük enfeksiyon da Haziran ayında % 0,3 olarak bulundu.

Tez süresince *Helicospordium* patojeninin böceklerde cinsiyet farklılığı gözetip gözetmediği çalışıldı. Bu amaçla cinsiyet ayrımı yapılarak dişi ve erkek böcekler *Helicospordium* patojeninin dağılımı açısından ayrı incelendi. *Helicospordium* patojeni dişilerde % 3 oranında enfeksiyona yol açtığı halde erkeklerde bu oran % 3,8 olarak tespit edildi (Tablo 3).

Tablo 3. *R. grandis* böceğinin dişi ve erkeklerinde *Helicospordium* patojeninin dağılımı.

Laboratuvarlar ve tarihler		Erkek ♂♂			Dişi ♀♀		
		D	E	Y	D	E	Y
Artvin	2006	29	9	31,1	30	14	46,6
Merkez	28,08,2007	75	4	5,3	49	1	2,1
Ardanuç	02,08,2007	32	0	-	60	0	-
	28,08,2007	47	0	-	39	0	-
	06,10,2007	27	0	-	48	4	8,3
Şavşat	02,08,2007	120	0	-	124	0	-
	06,10,2008	16	2	6,3	20	0	-
Trabzon Maçka	27,06,2007canlı	104	0	-	122	0	-
	27,06,2007ölü	111	1	0,9	114	0	-
	09,05,2008	2	1	50	5	0	-
	25.06.2008	91	5	5,5	98	2	2,1
Şalpaazarı	01,06,2007	122	1	0,8	124	0	-
	01,09,2007	41	0	-	120	1	0,8
	05,05,2008	30	1	3,3	47	0	-
Giresun	10,07,2007	107	7	6,5	145	3	2,1
	09,05,2008	65	9	13,9	47	8	17,1
Ordu	2006 1, kütük	11	0	-	12	0	-
	2006 3, kütük	30	2	6,7	51	8	15,7
	19,12,2006	19	0	-	54	0	-
	25,12,2006	4	0	-	15	0	-
	21,02,2008	22	1	4,5	31	0	-
	11,04,2008	16	0	-	14	0	-
	15,05,2008	21	0	-	4	0	-
Toplam		1142	43	3,8	1373	41	3

D: disekte edilen böcek sayısı, E: enfeksiyon bulunan böcek sayısı, Y: enfeksiyon yüzdesi

Artvin ilindeki *R. grandis* üretim laboratuvarlarında *Helicospordium* patojeninin 2007 yılı için dağılımı incelendiğinde, Ağustos ayında Ardanuç ve Şavşat'ta enfeksiyon gözlemlenmedi. Ekim ayında Artvin merkezde % 5,6 ve Ardanuç'ta % 5,3 seviyesindedir. Trabzon ili için *Helicospordium* enfeksiyonu dağılımında, Haziran ayında Maçka ve Şalpaazarı *R. grandis* üretim laboratuvarlarında *Helicospordium* enfeksiyon yoğunluğu sırasıyla % 0,2 ve % 0,4 oranındadır. Eylül ayında % 0,6 seviyesinde kalmıştır ve Ekim

ayında enfeksiyona rastlanmamıştır. Giresun ilinde Temmuz ayında enfeksiyon % 4 oranındadır ve erkeklerde % 6,5 oranına çıkmıştır. Ordu ilinden 2007 yılında örnek temin edilememiştir. 2008 yılı dağılımına bakıldığında Trabzon ilinde enfeksiyon Mayıs ayı için % 26,3 oranına çıkmıştır, Haziranda % 3,7 oranında tespit edilmiştir. Giresun ilinde enfeksiyon Mayıs ayı için % 15,2 oranındadır. Ordu ilinde Ocak ayında % 2,3 oranındadır, Şubat ayında erkeklerde % 4,5 oranına yükselmiştir. Nisan ve Mayıs aylarında enfeksiyona rastlanmamıştır.

3.4. R. grandis Örneklerinden Tespit Edilen Diğer Patojenler

Tez süresince incelenen böcek numunelerindeki *Helicosporeidium* varlığının yanı sıra *R. grandis* örneklerinde bir Neogregarin türü; *Mattesia* sp., bir fungus türü *Metschnikowia* sp. ve *R. grandis* için yeni bir patojen bulgusu olarak *Microsporidia* sp.'ye rastlandı (Tablo 4). *R. grandis*'ten tespit edilen tüm patojenler Şekil 12'de gösterilmektedir. *R. grandis* için yeni bir patojen varlığı olarak tespit edilen *Microsporidia* patojeni farklı bir tez konusu olarak çalışılmaktadır.

3.4.1. Metschnikowia sp.

Metschnikowia sp. patojeni mantarlar alemine dahil olan konak spektrumu açısından diğer mantarlardan farklılık göstererek önem kazanan bir patojendir. Morfolojik olarak bakıldığında kayık şekilli yapıları ile ışık mikroskopunda rahatlıkla ayırt edilebilirler. Karakteristik olarak her bir kayık şekilli ascus yapısının içinde iki adet ortaya doğru basıklaşan iki ucu da iğne şekilli ascospor yapısı bulundurulur. Nüklear bölge ascosporların orta kısmında kolaylıkla ayırt edilebilir. *Metschnikowia* patojeninin biyolojisi aşağıdaki aşamalardan oluşmaktadır. Ağız yolu ile alınan ascuslar bağırsak lümeninde ascosporlarını serbest bırakırlar. Serbest kalan ascosporlar bağırsak duvarından geçerek bağırsak epitel hücrelerine yerleşirler. Çoğalmanın gerçekleştiği vejetatif safhada, ilk oluşturdukları vejetatif hücre tek çekirdekli ve yuvarlak yapıdadır. İlerleyen gelişim safhalarında, hücreler ovalleşerek en son olgun ascus yapısında kayık şeklini alırlar. Ascus yapıları bağırsak epitelinden ayrılmadan önce epitel hücrelerinin içinde yaklaşık olarak aynı zamanlamada olgunlaşarak, grup halinde bulunurlar. (Weiser vd., 2003; Wegensteiner vd., 2005; Yaman ve Radek, 2008). Vejetatif gelişim safhaları sonrası olgunlaşan ascuslar bağırsak epitel hücrelerini parçalayarak hemolenfe dağılırlar. *Metschnikowia* enfeksiyonu yağ dokusunun

yavaş yavaş bozulmasına neden olur. Taze preparatlardaki ascuslar ortalama olarak $18,6 \pm 1,9 \mu\text{m}$ ($22,5 \mu\text{m} - 14,7 \mu\text{m}$) ($n = 40$) boyunda ve $2,5 \pm 0,3 \mu\text{m}$ ($3,3 \mu\text{m} - 1,62 \mu\text{m}$) ($n = 59$) enindedir (Şekil 13 A ve B). Tez süresince 2006 – 2008 yılları arasında yapılan çalışmalarda 4 ildeki 7 farklı bölgeden elde edilen örnekler *Metschnikowia* varlığı açısından detaylı olarak irdelendi. En yüksek enfeksiyon oranı Trabzon ilinde Şalpazarı üretim laboratuvarında 2008'in Mayıs ayında gözlemlendi, enfeksiyon oranı % 53 oranındadır. Giresun ve Ordu illerinden elde edilen örneklerde enfeksiyona tez süresince rastlanmadı. Toplam enfeksiyon oranı % 1,4 olarak tespit edildi (Tablo 4).

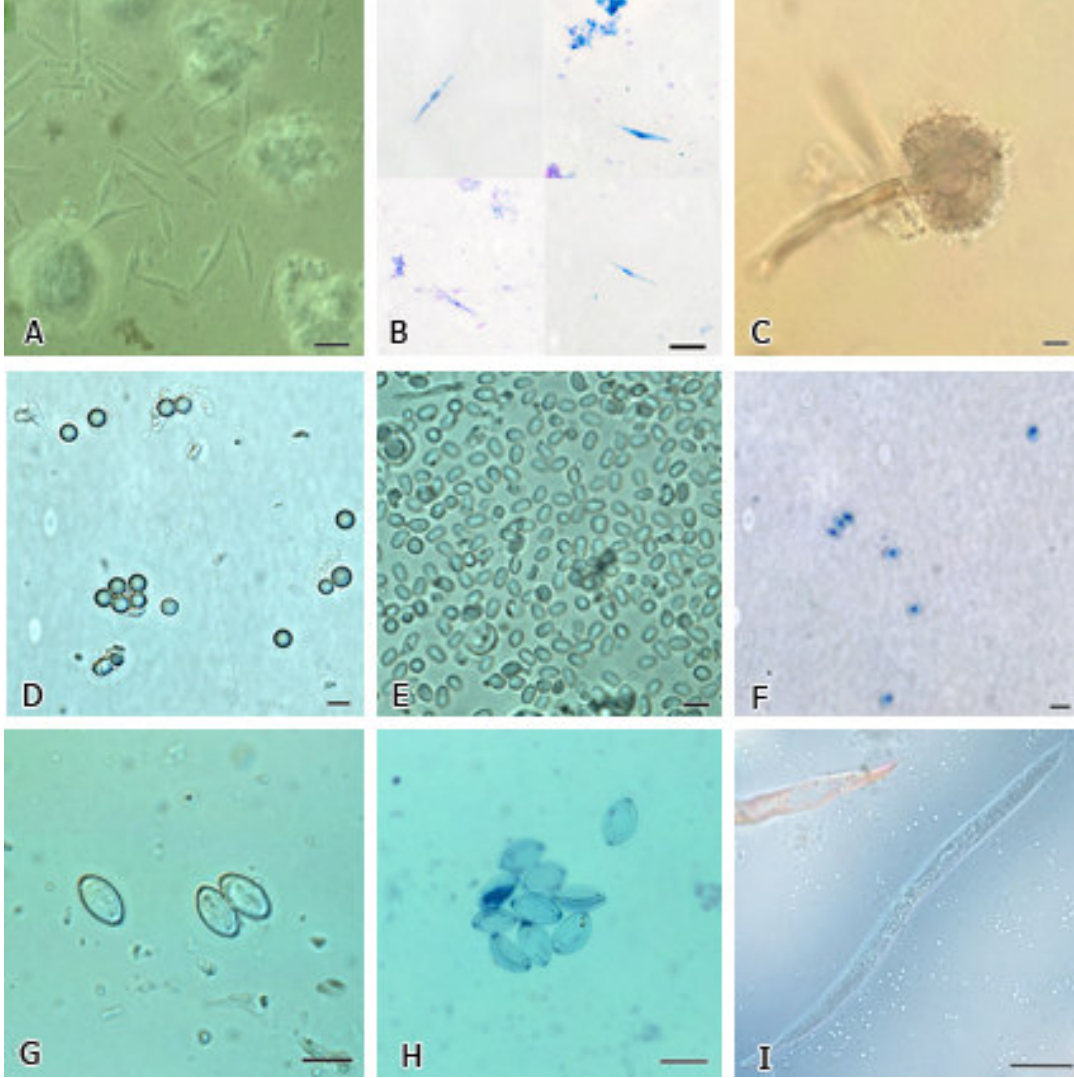
3.4.2. *Mattesia* sp.

Yapılan çalışmalar esnasında tek tür neogregarine rastlanmıştır. Bulunan Neogegarin *Mattesia* sp. olarak tanımlanmıştır. Genel olarak neogegarinler limon şekilli sporlara sahip çok ölümcül patojenlerdir. Bu özellikleriyle potansiyel bir biyolojik mücadele ajanının özelliklerini taşırlar. Morfolojilerine bakıldığında, limon şekilli sporlar her iki kutupta Giemsa boyası ile çok belirgin bir şekilde boyanan, tıpa benzeri yapılara sahiptir. Türlerine göre 2 veya daha fazla spor ihtiva eden kist yapıları oluştururlar. Hayat döngüsüne bakıldığında, besin yolu ile alınan sporlar açılarak trofozoitler bağırsakta serbest kalır. Şizogoni ile çoğalarak mikro nükleer şizontları oluştururlar. Çiçek şeklinde sitoplazma bölünmesi sonrası mikro nükleer merozoitleri oluştururlar. Serbest kalan mikro nükleer merozoitler makro nükleer şizontları oluştururlar. Tekrar sitoplazma bölünmeleri sonrası rozet şekilli makro nükleer merozoitler oluşur. Serbest kalan makro nükleer merozoitler gametositleri oluştururlar. Gametositler tekrar spor yapısını oluştururlar (Lipa ve Triggiani, 1992; Kleespies vd., 1997; Valigurova ve Bretis, 2006). Vücut boşluğunda yaygın olarak hemolenf ve yağ dokusunda enfeksiyon yapmaktadır (Valigurova ve Koudela, 2006). Kist içerisinde 2 spor oluşturmaları *Mattesia* türü için karakteristiktir. *Mattesia* patojeninin taze preparatlarında morfolojileri irdelenmiştir. Taze preparatlarda yapılan spor ölçümleri ortalama olarak $11,9 \pm 0,7 \mu\text{m}$ ($13,5 - 10,2 \mu\text{m}$) ($n = 60$) boyunda ve $6,9 \pm 0,4 \mu\text{m}$ ($7,7 - 6,2 \mu\text{m}$) ($n = 60$) eninde ölçüldü. (Şekil 13 G ve H). Bu patojenin dağılımına bakıldığında tez süresince yapılan çalışmada sadece iki bölgede (Artvin ve Giresun) enfeksiyona rastlandı. Enfeksiyon oranı % 0,2 ile % 5,8 arasında değişiklik göstermektedir. Enfeksiyon 2007'nin Temmuz ayında Giresun ilinde % 11,2 oranına yükselmiştir. Toplam enfeksiyon ortalama % 0,7 olarak bulundu (Tablo 4).

3.4.3. *Microsporidia* sp.

Tez çalışması sırasında *R. grandis* predatör böceği için yeni bir enfeksiyon olarak *Microsporidia* sp. patojenine rastlanmıştır. Enfeksiyon ergin böceklerde gözlemlenmiştir. Ergin böceklerin preparatlarında vejetatif evrelere pek sık rastlanmaz. *Microsporidia* patojenleri zorunlu hücre içi parazittirler ve doğada genellikle tek tip konakçıyı tercih ederler, bu özellikleri ile potansiyel biyolojik mücadele ajanı özelliği taşırlar. *Microsporidia* patojeni türe özgü olarak çok çeşit şekillerde olabilirler. *R. grandis* predatöründe gözlenen *Microsporidia* oval şekillidir ve tek nukleusludur. *Microsporidi* ların karakteristik hayat safhası olan spor yapılarına bakıldığında katmanlı bir golgi aygıtı veya mitokondri yapısı bulundurmazlar. *Microsporidialar* için karakteristik yapı polar filament yapısını ihtiva ederler, polar filament spor içersinde kıvrımlar oluştururlar ve kıvrım sayısı tür tespitinde kullanılan karakteristik özelliklerden biridir. Sporlar ayrıca lameller poloroplast ve posteriorvokuol yapısı ihtiva ederler. Hayat döngülerine bakıldığında: spor içersinde polar falment spor duvarına bağlanma bölgesi olan anchoring disk bölgesinden dışarı çıkarak polar tübü oluşturur, polar tüp konakçı bağırsağına enjektör gibi saplanır, daha sonra sporoplasma yapısını konakçıya bırakır. İki aşamalı hayat döngüsü vejetatif çoğalmanın olduğu merogoni ve spor oluşumunun olduğu sporogoni aşamalarıdır. Konak içersine bırakılan sporoplasma yapısı merontlara farklılaşır. Merontlar yuvarlak veya oval yapıdadırlar ve sporontlara farklılaşırlar. Oval tek çekirdekli sporontlar tek bir sporogonial bölünme ile yuvarlak ve merkezi tek bir çekirdeğe sporoblastları oluştururlar. Sporobalastlar olgun sporları oluştururlar. *Microsporidialar* öncelikle yağ dokusu ve Malpighi tüplerini enfekte etmektedir, enfeksiyonun bazen farklı dokulardada rastlanmaktadır, özellikle orta bağırsakta trakelerin sonlandığı hücreler ve trakesel matriste gözlemlenirler. Bağı dokusunun enfekte olmuş hücreleri aracılığıyla patojen dişilerin yumurtalıklarının yüzey tabakasına girer ve olgunlaştırma ovaryumlarında *Microsporidium* gelişmekte olan yumurtaların oositlerini ve foliküllerini istila ettiği görülmüştür. Enfeksiyon yumurta vasıtasıyla taşınır ve embriyonun dokularına bulaşır. Olgun yumurtalarda genellikle patojenin olgun sporları bulunduğu biliniyor (Weiser vd., 1995; Yaman ve Radek, 2003; Yaman vd., 2005; Yaman ve Radek, 2005b; Wang ve Chan, 2007; Kleespies vd., 2007). Taze preparatlarda *Microsporidia* sporları ortalama olarak $4,25 \pm 0,2 \mu\text{m}$ ($4,76 - 3,53 \mu\text{m}$) ($n = 164$) boyunda ve $2,4 \pm 0,2 \mu\text{m}$ ($2,9 - 1,9 \mu\text{m}$) ($n = 182$) eninde ölçüldü. (Şekil 13 E ve F). Bu patojenin dağılımına bakıldığında tez süresince yapılan çalışmada sadece iki bölgede (Artvin ve Trabzon) enfeksiyona rastlandı. Enfeksiyon oranı ortalama olarak % 0,16 olarak bulundu. Enfeksiyon 2007'nin Ekim ayında

Artvin ilinde % 10'a yükselmiştir. (Tablo 7). *R. grandis* predatör böceği için yeni bir enfeksiyon kaydı olan *Microsporidia* patojeni başka bir tez konusu olarak çalışılmaktadır.



Şekil 13. *R. grandis* örneklerinden tespit edilen diğer patojenler; A: *Metschnikowia* sp (bar: 10µm); B: Giemsa boyalı *Metschnikowia* sp. (bar: 10µm); C: Mantar (bar: 10 µm); D: Mantar sporları (bar: 5µm); E: *Microsporidia* sp. (bar: 5µm); F: Giemsa boyalı *Microsporidia* sp. (bar: 5µm); G: *Mattesia* sp. (bar: 10µm); H: Giemsa boyalı *Mattesia* sp. (bar: 10µm); I: ölü böcekten Nematod paraziti larvası (bar: 40µm).

Tablo 4. *R. grandis* böceğinden 2006 ve 2008 yılları arası tespit edilen patojenler.

	Disekte böcek sayısı	Boş	Hlc	Mtts	Msch	Mspr	Mnt	Spr	Akr	Nmt	Hlc + Akr	Hlc + Spr	Hlc + Mnt	Hlc + Msch	Mtts + Spr	Mtts + Akr	Msch + Mnt	Mspr + Mnt	Mnt + Akr	Mnt + Nmt	Mnt + Spr	Spr + Akr	Mnt +Nmt +Akr	Mnt +Akr +Spr	Hlc +Mnt +Akr		
ARTVİN																											
2006																											
Erkek	29	20	9																								
Dişi	30	16	14																								
2007																											
Merkez 28.08.2007																											
Erkek	75	29	4				37	1	3										1								
Dişi	49	25	1				23																				
Karışık	16		2				6												7			1					
Ardanuç 02.08.2007																											
Erkek	32	13					11	2	3										2	1							
Dişi	60	34					17	1	5										3								
Ardanuç 28.08.2007																											
Erkek	47	25		1			16	2	2										1								
Dişi	39	19					20																				
Karışık	21	16					5		1										1								
Ardanuç 06.10.2007																											
Erkek	27	16					8	1	1										1								
Dişi	48	22	3				18	1	2										1							1	
Şavşat 02.08.2007																											
Erkek	120	43					62	2	3								1		6		3						
Dişi	124	40					76		2										6								
Laboratuar 06.10.2007																											
Erkek	16	2	1				3	2											1		1				4		
Dişi	20						8		1			1						2	4	2	1		1				
TRABZON																											
2007																											
Maçka27.06.2007canlı																											
Erkek	104	6					92										1		5								
Dişi	122	20			2		93										1		5	1							

4. TARTIŞMA

D. micans, *I. typographus* ve *I. sexdentatus*'un Türkiye, Gürcistan ve diğer Avrupa ve Asya ülkelerinde ladin ormanlarında neden olduğu orman ölümleri göz ardı edilemeyecek kadar yüksektir.

D. micans zararlısıyla mücadelede kaçınılmaz yöntem biyolojik ve mekanik mücadeledir. Bu amaçla predatör böcek *R. grandis* üretim laboratuvarları kurulmuştur ve sadece on yıllık bir süreçte geniş bir alanda çok büyük zararlara neden olan *D. micans* zararlısıyla mücadele amaçlı çok sayıda *R. grandis* üretimi yapılarak mücadele çalışmalarına başlanmıştır. Bunlara ilave olarak farklı bilim adamları *D. micans* ile mücadelede alternatif bir yöntem geliştirmek için çalışmalar başlatmışlardır. Biyolojik mücadele kapsamında yapılan bu çalışmalar sırasında laboratuvar ortamında *D. micans* için ölümcül etkiye sahip olan bir patojen olan *Helicosporidium* sp. varlığı Yaman ve Radek (2005a) tarafından tespit edilmiştir. Yaman ve Radek (2007) bu patojenin *D. micans* zararlısının predatör böceği olan *R. grandis* böceğinde de enfeksiyon yapıp yapmadığını araştırmış ve aynı patojenin varlığını tespit etmişlerdir.

2006–2008 yılları arasında çalışılan bu yüksek lisans tezinde Coleoptera takımına ait olan ve önemli bir orman zararlısı olan dev kabuk böceği *Dendroctonus micans* (Coleoptera; Curculionidae, Scolytinae)'de hastalık oluşturan ilk entomopatojenik alg olan *Helicosporidium parasiticum* patojeninin *D. micans*'ın biyolojik mücadelesinde aktif olarak kullanılan predatör böceği olan Coleoptera takımına ait *R. grandis* (Coleoptera; Rhizophagidae)'e geçiş potansiyeli ve *R. grandis* üretim laboratuvarlarındaki varlığı araştırılmıştır.

Tez süresince *R. grandis* üretim laboratuvarlarında *R. grandis* örneklerinin yanında aynı koşullarda *D. micans* örnekleri toplanmış ve ayrı bir çalışmada *D. micans* zararlısının patojenlerinin varlığı incelenmiştir, bu sayede enfeksiyon varlığı iki böcek arasında karşılaştırılmıştır.

Yapılan çalışmalar sonucunda *Helicosporidia*'ya ilave olarak farklı patojenlere de rastlanmış ve ilk kez yeni bir patojenik bulgu olarak *Microsporidia* sp. varlığı tespit edilmiştir. *Helicosporidium* patojeninin varlığı her bir *R. grandis* üretim laboratuvarları için ayrı ayrı irdelenmiştir. Laboratuvarlarda *R. grandis* üretiminin yapıldığı Haziran ve Ekim ayları arasında her laboratuardan örnekler alınmış ve incelenmiştir. Tespit edilen *Helicosporidium* patojeninin çapı $4,9 \pm 0,4$ (5,8 – 3,5) (n = 265) olarak tespit edilmiştir. Tez

süresince ayrı bir çalışma olarak irdelenen *D. micans* zararlısında tespit edilen *Helicosporidium* patojeninin çapı $4,8 \pm 0,3$ ($5,8 - 4,1$) ($n = 71$) olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara bakıldığında *R. grandis*'ten tespit edilen *Helicosporidium* ile *D. micans*'tan tespit edilen *Helicosporidium* aynıdır. Ayrıca Yaman ve Radek (2005a ve 2007) tarafından yapılan araştırmalardaki *Helicosporidium* patojeni ile tez çalışmasında tespit edilen *Helicosporidium* patojeni aynıdır.

Bir yıllık süreç içerisinde aylara göre *R. grandis* predatör böceğinde *Helicosporidium* enfeksiyonunun dağılımına bakıldığında, 2007 yılı için Artvin ilindeki *R. grandis* üretim laboratuvarlarında *Helicosporidium* patojeninin Ağustos ayında Merkezde % 5 oranında enfeksiyon varken Ardauç ve Şavşat'ta enfeksiyon yapmadığı gözlemlenmiştir. Eylül ve Ekim ayında en yüksek enfeksiyon % 8,3 oranındadır, bu aylarda enfeksiyon artış göstermiştir. Bu durumun *R. grandis* ve *D. micans*'ın biyolojisi ile alakalı olduğu düşünülebilir. Trabzon ili için *Helicosporidium* enfeksiyonu Artvin ilinden farklı olarak Haziran ayında en fazla % 0,9 oranında gözlemlendi ve Eylül ayında en çok % 0,8 oranındadır, enfeksiyon bir artış göstermemiştir ve Ekim ayında enfeksiyona rastlanmamıştır. 2008 yılı içinde Trabzon ilinde Maçka laboratuvarında Haziran ayı için en yüksek enfeksiyon % 5,5 oranına çıkmıştır. Giresun ilinde en yüksek enfeksiyon % 17 oranındadır. Ordu ilinde en yüksek enfeksiyon % 4,5 dir. Genel olarak 2006 yılında enfeksiyon % 12,9 oranında, 2007 yılında % 1,3 oranında ve 2008 yılında % 4,8 oranındadır. *Helicosporidium* patojenine tüm üretim laboratuvarlarında rastlanmıştır. Enfeksiyon varlığı ve yoğunluğu her sene farklı sonuçlar vermektedir. Bu durumun nedenleri arasında *D. micans* ve *R. grandis*'in biyolojisini dolaylı olarak etkileyen etmenlerin varlığı düşünülebilir. Bu durumda *R. grandis* üretimi yapılacağı zaman anaç olarak alınacak *R. grandis* erginleri öncelikle *Helicosporidium* varlığının tespiti için uzman kişiler tarafından donanımlı laboratuvar ortamında irdelenmesi gereklidir, enfeksiyonun en az veya hiç olmadığı bölge ve zaman tespit edilerek üretim için en uygun bölge seçilmelidir.

R. grandis üretiminde besin kaynağı olarak kullanılan böcekler araziden toplanan zararlı böcek *D.micans* larvalarıdır. *Helicosporidium* enfeksiyonunun *D. micans* larvaları ile *R. grandis* böceğine geçtiği düşünülmektedir. Bunun kanıtlanması için deneyler yapılmıştır. Zooloji II Laboratuvarında *R. grandis*'in biyoassayı için gerekli materyal ve aletler 2008 yılı içinde temin edildiğinden deneyler 2007 yılı içinde Ordu ilindeki Çambaşı *R. grandis* üretim laboratuvarında yapılmıştır. Sonuçlar *Helicosporidium* enfeksiyonunun *R. grandis* predatörlerine *D. micans* zararlısı yoluyla bulaştığını kanıtlanmıştır. Ayrıca 2008 yılının mayıs ayında Maçka *R. grandis* üretim laboratuvarından elde edilen *D. micans* zararlısında *Helicosporidium*

patojeni % 24 oranında tespit edilmiştir, aynı kütüklerden elde edilen *R. grandis* larvası irdelenmiş ve % 23,5 oranında *Helicosporidium* patojeni tespit edilmiştir. Bu sonuçlar *R. grandis* larvalarının *Helicosporidium* patojenine yakalanmasının beslendikleri *D. micans* böceğinden geçtiğinin kanıtıdır. 2008 yılı içerisinde üç farklı üretim laboratuvarından deney kütükleri alınıp Zooloji II laboratuvarına getirilerek enfeksiyon varlığı günlük olarak izlenmiştir. Ayrıca enfeksiyonun *R. grandis* predatör böceğine *D. micans* zararlısı aracılığı ile geçtiğinin kanıtlanması için laboratuvar ortamında biyoassay deneyleri yapılmıştır. Yapılan *Helicosporidium* patojeni biyoassay deneyleri enfeksiyonun *R. grandis* predatör böceğine *D. micans* zararlısı aracılığı ile bulaştığını kanıtlamıştır. *R. grandis* erginlerinin larvalarının ilk besleme aşamasına yardımcı olmak için *D. micans* larvalarını boylamasına yardığı bilinmektedir. Enfeksiyon *R. grandis* larvalarında 2 ve 3. instarlarında rastlanmıştır. İlk instarda enfeksiyona rastlanmaması mevcut ilk instardaki larvaların *Helicosporidium* varlığında çok fazla dayanamamaları ile açıklanabilir. Aynı durum *D. micans* larvaları için de geçerlidir. *D. micans* larvalarında enfeksiyon en yoğun 3 – 4 ve 5. instarlarda gözlemlenmektedir. Her iki böcek türü için de son instar safhasına kadar yaşamayı başaran ve enfeksiyon kapmayan böcekler kolaylıkla ergin haline geçmek üzere pupa oluşturmaktadırlar. Bunun yanında prepupa ve pupa evresinde örnekler yeterli miktarda elde edilememiştir ve var olan örneklerde de *Helicosporidium* varlığına rastlanmamıştır. Özellikle *R. grandis* predatör böceği için pupa evresinde geçirdiği süre *Helicosporidium* patojeninin yayılımı için yeterlidir. Bundan dolayı pupa evresine *Helicosporidium* patojeni varlığı ile geçiş yapan böceklerin büyük çoğunluğu ergin hale geçmeden ölmektedir. Ergin hale geçenler ise enfeksiyonu tekrar beslendikleri *D. micans* böceklerinden kapmaktadır.

Farklı bir çalışmada *R. grandis* üretim laboratuvarlarından elde edilen *D. micans* larvalarında 2005 – 2007 yılları arasında enfeksiyon oranı toplamda % 9 oranında tespit edilmiştir (Yaman, 2008). *R. grandis*'in beslenmesinde *D. micans* larvalarının kullanılmasından dolayı aynı şekilde *D. micans* larvalarının da yeterli miktardaki örnekleri düzenli olarak irdelenmesi gereklidir. Ayrıca enfeksiyonun yıllık dağılımının irdelenmesi için düzenli olarak kütüklere beslenme için örnekler koyulmalı, bunlar koyulma öncesi ve sonrasında uzman kişilerce irdelenerek enfeksiyonun en az olduğu bölge tespit edilmeli ve düzenli olarak takip edilmelidir.

Tez çalışması sırasında 2007 yılı içinde tüm üretim laboratuvarları için *Helicosporidium* enfeksiyonun *D. micans* zararlısındaki varlığı da araştırılmıştır. Bu zararlıdaki enfeksiyonun bir yıllık süreç içerisinde aylara göre dağılımı incelendiğinde toplam *Helicosporidium* patojeni enfeksiyon oranı % 6,99 olarak saptanmıştır. En fazla enfeksiyona %19,9 ile Eylül ayında

rastlanmıştır. En düşük enfeksiyon oranı da %3 ile Haziran ayında görülmüştür. Bunun nedenleri arasında *D. micans*'ın biyolojisi önemli rol oynamaktadır. Aynı şekilde 2007 yılı için *R. grandis*'te *Helicospodidium* enfeksiyonun aylara göre dağılımına bakıldığında toplam enfeksiyon oranı %2,6 olarak tespit edilmiştir. En fazla enfeksiyona Ekim ayında rastlanmıştır (%2,8). En düşük enfeksiyon da Haziran ayında tespit edilmiştir (%0,3). *R. grandis*'in biyolojisine bakıldığında Nisan ve Temmuz ayları arasında yumurtlarlar ve Aralıktan önce ergin hale geçerler (King vd. 1991). Enfeksiyonun Haziran aylarında az Ekim aylarında çok görülmesini *R. grandis*'in erginlerinin hem toprakta hem kabuk altında uzun süre hayatta kalmalarına ve bu nedenle çoğu evreleri yılın her zamanında mevcut *D. micans* ergin ve larvalarını etkin bir şekilde tüketebilmelerine bağlanabilir. Bu durumda *R. grandis*'te enfeksiyonun aylara göre dağılımının *D. micans* zararlısındaki enfeksiyon dağılımına benzerlik göstermesi beklenen bir durumdur.

Tez çalışması sırasında *Helicospodidium* patojeninin böceklerde cinsiyet farklılığı gözetip gözetmediği çalışılmıştır. Bu amaçla cinsiyet ayrımı yapılarak dişi ve erkek böcekler *Helicospodidium* patojeninin dağılımı açısından ayrı ayrı incelenmiştir. *Helicospodidium* patojeni dişilerde % 3 oranında enfeksiyona yol açtığı halde erkeklerde bu oran % 3,6 olarak tespit edilmiştir. *Helicospodidium* enfeksiyonunun böceklerde bir cinsiyet ayrımı yapmadığı söylenebilir. Farklı bir çalışma olarak irdelenen *D. micans* böceğinde tespit edilen *Helicospodidium* patojeni böcekte cinsiyet ayrımı yapmamaktadır, aynı şekilde Yaman (2008) yaptığı çalışmada *Helicospodidium* patojeninin *D. micans* zararlısında yaptığı enfeksiyon için böceklerde dişi erkek ayrımı yapmadığını tespit etmiştir.

Predatör böcek *R. grandis* böceğinde *Helicospodidium* patojeninin 2007 yılı için bir yıllık periyotta aylara göre dağılımı açısından incelemek için yapılan corelasyon testi sonucunda sig. değeri 0,05 in altında bulunmuştur. Bu sonuç yorumlandığında *Helicospodidium* varlığı ile aylar arasında bir ilişki vardır denilebilir, bunun yanında corelasyon katsayısı negatif çıktığından dolayı bu ilişkinin doğrusal bir ilişki olmadığı söylenebilir. Haziran ayından Ekim ayına gidildikçe bir artış yada azalma yoktur enfeksiyon her ayda farklı yoğunluk göstermektedir denilebilir, bu durum da enfeksiyonun aylara göre farklı oranlarda çıkmasında böceklerin biyolojisi ve biyolojilerini etkileyen dış etmenlerin enfeksiyonun varlığı üzerindeki etkisinden söz edilebilir. (Şekil 14).

Correlations

			AYLAR	HELVARL
Kendall's tau_b	AYLAR	Correlation Coefficient	1,000	-,064**
		Sig. (2-tailed)	,	,002
		N	1880	1880
	HELVARL	Correlation Coefficient	-,064**	1,000
		Sig. (2-tailed)	,002	,
		N	1880	1880

** . Correlation is significant at the .01 level (2-tailed).

Şekil 14. *R. grandis* için aylara göre dağılım Corelasyon testi

Helicospiridium enfeksiyonunun *R. grandis* üretim laboratuvarlarının bulunduğu illere göre karşılaştırması yapıldığında *Helicospiridium* patojenine %5,8 ile Artvin ilinde rastlanmaktadır, en düşük enfeksiyona ise %1,8 ile Trabzon ve Ordu illerinde gözlemlenmiştir. Enfeksiyona her ilde rastlanmıştır, ayrıca tüm üretim laboratuvarlarında enfeksiyon varlığı tespit edilmiştir. Enfeksiyon iller arasında artan veya azalan bir ilişki olmadan dağılım göstermektedir.

R. grandis predatör böceğinde *Helicospiridium* enfeksiyonunun cinsiyet açısından ayırım yapıp yapmadığını irdelemek için Khi kare testi yapılmıştır. Bu testin sonucuna göre Asymp. Sig değeri 0,005 in üzerinde çıkmıştır. Sonuç yorumlandığında *Helicospiridium* patojeninin böceklerde yaptığı enfeksiyonun dişi ve erkek böceklerde farklı oranlarda enfeksiyon yaptığı veya enfeksiyonun farklı cinslerde farklı yoğunlukta olduğu söylenemez (Şekil 15).

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,110 ^b	1	,740		
Continuity Correction ^a	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,110	1	,740		
Fisher's Exact Test				1,000	,500
Linear-by-Linear Association	,107	1	,743		
McNemar Test				,503 ^c	
N of Valid Cases	38				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 7,50.

c. Binomial distribution used.

Şekil 15. *R. grandis* için *Helicospiridium* enfeksiyonunun cinsiyet ayırımı Khi kare testi

Tez çalışması süresince farklı patojenlerin varlığı tespit edilmiştir. Bunlar bir Neogregarin türü; *Mattesia* sp., bir fungus türü *Metschnikowia* sp. ve *R. grandis* için yeni bir patojen bulgusu olarak *Microsporidia* sp. dir.

Metschnikowia sp. patojeni $18,6 \pm 1,9 \mu\text{m}$ ($22,5 \mu\text{m} - 14,7 \mu\text{m}$) ($n = 40$) boyunda ve $2,5 \pm 0,3 \mu\text{m}$ ($3,3 \mu\text{m} - 1,62 \mu\text{m}$) ($n = 59$) enindedir. En yüksek enfeksiyon oranı Trabzon ilinde Şalpazarı üretim laboratuvarında 2008'in Mayıs ayında gözlemlendi, enfeksiyon oranı % 53 oranındadır. Giresun ve Ordu illerinden elde edilen örneklerde enfeksiyona tez süresince rastlanmadı. Toplam enfeksiyon oranı % 1,4 olarak tespit edildi. Ayrı bir çalışma olarak irdelenen *D. micans* böceğinde tespit edilen *Metschnikowia* sp. patojeni $18,1 \pm 2,4 \mu\text{m}$ ($n = 30$) boyunda ve $2,1 \pm 0,4 \mu\text{m}$ ($n = 31$) enindedir. Enfeksiyon oranı %90 seviyesine kadar yükselmiştir. En yüksek enfeksiyon oranı Giresun ve Trabzon illerinde gözlemlenmiştir. En düşük enfeksiyon Artvin ilinde görülmüştür. Toplam enfeksiyon oranı %48.9 olarak tespit edilmiştir. Aynı şekilde Yaman ve Radek (2008) *Metschnikowia* enfeksiyonu %50 seviyelerinde tespit etmişlerdir. İrdelenen Trabzon – Maçka ve Şalpazarı ile Ordu ilinden alınan örneklerde toplam enfeksiyon %18,6 olarak tespit etmişlerdir. En yüksek enfeksiyon Maçka'daki laboratuvarında gözlemlenmiştir. En düşük enfeksiyon oranına Şalpazarı'nda rastlanmışlardır. Ölçümler ve yüzdelere bakıldığında *R. grandis* böceğinde tespit edilen *Metschnikowia* sp. patojeni *D. micans* zararlısında tespit edilen patojenle aynı türdür, enfeksiyonun *R. grandis* böceğine *D. micans* böceğiyle beslenmesi yoluyla geçtiği söylenebilir.

Yapılan çalışmalar esnasında tek tür Neogregarine rastlanmıştır. Bulunan Neogregarin *Mattesia* sp. olarak tanımlanmıştır. Yapılan spor ölçümleri ortalama olarak $11,9 \pm 0,7 \mu\text{m}$ ($13,5 - 10,2 \mu\text{m}$) ($n = 60$) boyunda ve $6,9 \pm 0,4 \mu\text{m}$ ($7,7 - 6,2 \mu\text{m}$) ($n = 60$) eninde ölçüldü. Bu patojenin dağılımına bakıldığında tez süresince yapılan çalışmada sadece iki bölgede (Artvin ve Giresun) enfeksiyona rastlandı. Enfeksiyon oranı % 0,2 ile % 5,8 arasında değişiklik göstermektedir. Enfeksiyon 2007'nin Temmuz ayında Giresun ilinde % 11,2 oranına yükselmiştir. Toplam enfeksiyon ortalama % 0,7 olarak bulundu. İrdelenen *D. micans* böceğinde İki tip Neogregarine rastlanmıştır. Bunlar *Mattesia* sp. ve *Menzbieria* sp. olarak tanımlanmışlardır. Bu Neogregarinlerden biri olan *Mattesia* sp. patojeninin taze preparatlarında morfolojileri irdelenmiştir. Taze preparatlarda *Mattesia* sp. patojeninin sporları $10,9 \pm 0,7 \mu\text{m}$ boyunda ve $6,1 \pm 0,3 \mu\text{m}$ eninde bulunmuştur (Yaman ve Radek, 2008). Bu patojenin dağılımına bakıldığında 2005 – 2006 yılı arasında yapılan çalışmada sadece iki bölgede (Artvin ve Trabzon) enfeksiyona rastlanmıştır. Enfeksiyon oranı %0,7 ile %4,4 arasında değişiklik göstermektedir. 2007 yılında yapılan çalışmada her bölgede enfeksiyona

rastlanmıştır. Enfeksiyon kimi bölgelerde %22,2 ye kadar yükselmiştir. Toplam enfeksiyon ortalama %6 olarak bulunmuştur. En yüksek enfeksiyona Giresun ilinde en düşük enfeksiyona Artvin ilinde rastlanmıştır. Ölçümler ve yüzdelerle bakıldığında *R. grandis* böceğinde tespit edilen *Mattesia* sp. patojeni *D. micans* zararlısında tespit edilen patojenle aynı türdür.

Tespit edilen bir diğer patojen *Microsporidia* sp. patojeni *D. micans* zararlısında gözlemlenmemiştir ve *R. grandis* böceği için ilk kez tespit edilen bir patojendir. *R. grandis* böceğinde tespit edilen *Microsporidia* sp. patojeni ayrı bir tez konusu olarak çalışılmaktadır.

Hem *R. grandis* böceğinde hem de *D. micans* böceğinde tespit edilen üç tip patojen: *Helicosporidia* sp., *Mattesia* sp. ve *Metschnikowia* sp. morfolojik ve karakteristik yapıları ile boyutları bakımından aynıdır. Bu üç patojen için her iki böcek türünde de enfeksiyon yaptığı söylenebilir. *R. grandis* böceğinin *D. micans* ergin ve larvaları ile beslendiği düşünülür ise bu üç enfeksiyonun besin yolu ile *D. micans* böceğinden *R. grandis* predatör böceğine bulaştığı söylenebilir. *Helicosporidium* patojeninin *R. grandis* böceğine bulaşma yolunun *D. micans* böceği aracılığı ile olduğu biyoassay deneyleri ile kanıtlanmıştır. Diğer iki patojen için benzer biyoassay deneyleri yapılacaktır.

Türkiye gibi dünyanın çeşitli ülkelerinde de *D. micans* zararlısı büyük orman kayıplarına neden olmaktadır. Bu zararlı ile mücadelede her ülke kendi ekonomik stratejisini oluşturmuştur. Kimyasal mücadelenin neden olduğu olumsuz etkiler düşünüldüğünde kaçınılmaz olarak biyolojik mücadele çalışmalarına ağırlık verilmiştir. Bu çalışmaların kapsamında predatör böcek *R. grandis*'in üretim laboratuvarları kurulmuş ve üretime ve mücadeleye başlanmıştır. Bu kapsamda çeşitli ülkelerde *R. grandis* üretim laboratuvarlarında oluşan olumsuz durumların ortadan kalkması için farklı üretim metotları uygulanmaya başlanmıştır.

Dünyada *R. grandis* üretimi için çok çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemler sırasında karşılaşılan en büyük problem *B. bassiana* mantar türünün üremesinin engellenememesidir. Bu problemin çözümü için Avrupada çok sayıda *R. grandis*'ler yarı yapay bir metotla ladin kütükleri içindeki *D. micans* sürüleri ile beslenerek üretilebilmektedirler (Grégoire vd., 1986, Evans, 1985, Barras, 1972). Fakat bu yöntem *R. grandis*'in çok sayıda üretimi için yetersiz kalmıştır ve İngiltere'de *R. grandis*'in kitle üretimi için alternatif bir yöntem kullanılmaya başlanmıştır. Bu yöntem şuanda Türkiye'de uygulanan yöntemle aynıdır. İlk *R. grandis* üretim teknikleri Khobakhidze vd., (1970) ve Grégoire vd., (1984b) tarafından anlatılan yöntemi birebir takip etmiştir. Ergin predatörler +4⁰C de buzdolabında latens halde bariz bir olumsuz etki olmaksızın altı aya kadar dayanabilirler. Bu yöntem kütükte üretim yöntemi ile karşılaştırıldığında daha az yer kaplaması, daha az *D.*

micans larvasına ihtiyaç duyması ve kütük ihtiyacının ortadan kalkması gibi avantajlara sahiptir. Ayrıca hastalığa karşı daha fazla kontrol gibi büyük avantajları vardır. Ancak bu yöntem tek başına kullanılamaz. Çünkü sadece bir veya iki nesil için işe yaramaktadır (Grégoire vd., 1991). İhtiyaç olduğunda dört ay içinde çok sayıda böceğin üretilebilmesi bahsedilen yöntemle mümkündür, böylelikle predatör *D. micans*'ın salgın yaptığı yeni keşfedilmiş alanlara çabucak verilebilir. Bu ikinci yöntemde bahsedilen mantar enfeksiyonunu azaltmaya yönelik avantaj aynı şekilde *Helicosporidium* enfeksiyonu azaltmak için de kullanılabilir araştırılmaktadır.

5. SONUÇLAR

Bu yüksek lisans tezi süresince elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

1. Coleoptera takımına ait önemli bir ladin zararlısı olan Dev kabuk böceği *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae) ile mücadelede kullanılan predatör böceği *Rhizophagus grandis* (Coleoptera: Rhizophagidae) üretimi yapılan laboratuarlarda her iki böcekte ortak enfeksiyona neden olan *Helicospodium* patojeninin dağılımı araştırıldı.
2. Her iki böcek türünde de varlık gösteren enfeksiyonlar tespit edildi. *R. grandis* örneklerinde tek bir Neogregarin cinsi; *Mattesia* sp. tespit edildi. Ayrıca fungus *Metschnikowia* ve *R. grandis* için yeni bir patojen bulgusu olarak *Microsporidia* sp.'yede rastlandı.
3. Dört farklı ilden yedi farklı *R. grandis* üretim laboratuvarından toplanan böcekler irdelendi ve enfeksiyonun dağılımı çalışıldı.
4. *Helicospodium* enfeksiyonunun *R. grandis* predatör böceğine *D. micans* zararlısı aracılığı ile bulaştığı deney yapılarak kanıtlandı.
5. *Helicospodium* enfeksiyonunun laboratuarlara göre dağılımı irdelendi ve enfeksiyonun her laboratuvarında ne kadar oranda yayılma yaptığı tespit edildi.
6. *Helicospodium* enfeksiyonunun aylara göre dağılımı irdelendi. Bu sayede enfeksiyonun yeni döneme geçerken en yoğun olduğu ve aylar arasındaki ilişkinin doğrusal olmadığı tespit edildi.
7. *Helicospodium* enfeksiyonunun böceklerde cinsiyet ayrımı irdelendi ve enfeksiyonun dağılımında cinsiyet faktörünün önemli olmadığı tespit edildi.

6. ÖNERİLER

Ülkemizde büyük zararlar veren *D. micans* zararlısının mücadelesinde *R. grandis* üretim laboratuvarları kurulmuş ve mücadelede kimyasal kullanımının ortadan kaldırılması amaçlanmıştır. Böylelikle biyolojik mücadeleye başlanmış mekanik mücadele ile paralel olarak *D. micans* zararlısının etkileri en aza indirgenmeye çalışılmıştır. Bu amaçta harcama çaba, zaman ve ekonomik kaynaklar göz önüne alındığında yüklü bir bilânço ortaya çıkmaktadır. Bölesi bir çalışmada istenmeyen enfeksiyonların ortaya çıkması böylesi güç bir çalışmayı olumsuz etkilemekte hem de zaman ve maddi kayıplara neden olmaktadır.

Bu çalışmada bu istenmeyen enfeksiyonlardan biri olan ve ciddi ölümlere neden olan *Helicospordium* enfeksiyonu *D. micans*'larda potansiyel bir biyolojik ajan olmasına rağmen *R. grandis*'e büyük zarar vermektedir. Bu zararın en aza indirgenebilmesi için *R. grandis* üretim laboratuvarlarındaki sterilizasyon koşulları arttırılabileceği gibi yurt dışında kullanılan farklı alternatif kitle *R. grandis* üretim teknikleri kullanılabilir.

Helicospordium enfeksiyonunun dağılımına bakılarak enfeksiyon oranının en düşük olduğu illerden üretim için anaç görevi görecek *R. grandis* örnekleri alınmalı ve üretim bu böceklerden yapılarak *Helicospordium* enfeksiyonunun yayılımı engellenmelidir.

R. grandis üretim laboratuvarlarında *R. grandis* böceklerinin üretim amaçlı kütüklere yerleştirilmesi öncesinde besleme amaçlı toplanan *D. micans* örneklerinin yeterli miktarda örneği enfeksiyon dağılımının araştırılması için K.T.Ü. Biyoloji Bölümünde Zooloji II laboratuvarında incelenmelidir.

Helicospordium enfeksiyonunun her yıl farklı dağılım gösterdiği düşünülürse üretim laboratuvarlarından her yıl *R. grandis* örnekleri K.T.Ü. Biyoloji Bölümünde Zooloji II laboratuvarında incelenmelidir.

R. grandis üretimi öncesinde üreme amaçlı anaç *R. grandis* üretilecek olan laboratuvardaki *R. grandis* örneklerinden yeterli miktarda böcek numunesi üretim öncesinde K.T.Ü. Biyoloji Bölümünde Zooloji II laboratuvarında incelenmeli ve enfeksiyon varlığı araştırılmalıdır.

Helicospordium patojeninin *R. grandis* konakçısı için biyoassayı çalışılarak enfeksiyonun konak böceğin hayat döngüsündeki aşamaları çalışılabilir.

Ayrıca *Helicospordium*'un potansiyel bir biyolojik mücadele ajanı olduğu düşünülürse ticari üretimi çalışılarak *D. micans* zararlısının mücadelesinde alternatif metod olarak kullanılabilirliği araştırılabilir.

7. KAYNAKLAR

- Acatay, A., 1968. Türkiye’de yeni bir ladin tahripçisi, *Dendroctonus micans* Kug., İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi, A, 18, 1, 18-36.
- Alkan, S., 2000. Ladin ormanlarına zarar veren *Dendroctonus micans* ve *Ips typographus* zararlılarına karşı sürdürülen mücadele uygulamaları, 22-26 Mayıs Eğitim Semineri, İstanbul, 10-18.
- Alkan, S., 2001. Artvin ormanlarında *Ips typographus* böceğine karşı yürütülen biyoteknik mücadele çalışmaları, feromon tuzağı ve feromon denemeleri, Orman Mühendisliği Dergisi, 8, 7- 11.
- Alkan, S. ve Aksu, Y., 1990. *Rhizophagus grandis* Gyll.'in üretilmesinde yeni bir metodun uygulanması üzerine araştırmalar, Türkiye II. Biyolojik Mücadele Kongresi Bildirileri, 26-29 Eylül 1990, Ankara, 173-179.
- Alkan Akinci, H., Eroğlu, M. ve Özcan, G.E., 2004. Doğu ladini ormanlarımızda *Dendroctonus micans* (Kug.) ve *Ips typographus* (L.) (Coleoptera: Scolytidae)'un Popülasyon Düzeylerine ve Doğal Düşmanlarının Etkinliğine Dayalı Mücadele Stratejileri, Türkiye I. Bitki Koruma Kongresi, Eylül 2004, 95.
- Barras, S. I., 1972. Improved White's solution for surface sterilization of pupae of *Dendroctonus frontalis*, Journal of Economic Entomology, 65, 1504.
- Bevan, D., 1987. Forest insects. A guide to insects feeding on trees in Britain. Forestry Commission, Handbook No. 1. HMSO, London, UK.
- Bevan, D. ve King, C. J., 1983. *Dendroctonus micans* Kug., a new pest of spruce in U.K., Commonwealth Forestry Review 62, 1.
- Bläske-Lietze, V. U. ve Boucias, D. G., 2005. Pathogenesis of *Helicosporidium* sp. (Chlorophyta: Trebouxiophyceae) in susceptible noctuid larvae, Journal of Invertebrate Pathology, 90, 161-168.
- Bläske-Lietze, V. U., Shapiro, A., Denton, J. S., Botts, M., Becnel, J. J. ve Boucias, D. G., 2006. Development of the insect pathogenic alga *Helicosporidium*, The Journal of Eukaryotic Microbiology, 53, 3, 165-176.
- Bold, H. C. ve Wynne, M. J., 1978. Introduction to the Algae. Englewood Cliffs, New Jersey, Prentice-Hall.
- Boucias, D. G., Becnel, J. J., White, S. E. ve Bott, M., 2001. In Vivo and In Vitro Development of the Protist *Helicosporidium* sp., Journal of Eukaryotic Microbiology, 48, 4, 460-470.
- Ecevit, O., 1988. Zirai Mücadele İlaçları ve Çevreye Olan Etkileri, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayınları, Samsun.

- Eroğlu, M., 1995. *Dendroctonus micans* (Kug.) (Coleoptera, Scolytidae)'ın Populasyon Dinamiğine Etki Eden Faktörler Üzerine Araştırmalar, s. 148-159. I. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi, Ekim 1995, Trabzon, Bildiriler Kitabı, Cilt III, 148-159.
- Eroğlu, M., 1997. Interactions between *Rhizophagus grandis* Gyll. (Coleoptera, Rhizophagidae) and *Dendroctonus micans* (Kug.) (Coleoptera, Scolytidae), pp. 195. XI World Forestry Congress, October 1997, Antalya, Turkey, Proceedings, Volume I, 240.
- Evans, H. F., 1985. Great spruce bark beetle, *Dendroctonus micans*: An exotic pest new to Britain, *Antenna*, 9, 117-121.
- Evans, H. F. ve Fielding, N. J., 1994, Integrated management of *Dendroctonus micans* in the UK. *Forest Ecology and Management* 65, 17-30.
- Fielding, N. J. ve Evans, H. F., 1997. Biological control of *Dendroctonus micans* (Scolytidae) in Great Britain, *Biocontrol News and Information*, 18, 2, 51-60.
- Fielding, N. J., O'Keefe, T. ve King, C. J., 1991. Dispersal and host-finding capability of the predatory beetle *Rhizophagus grandis* Gyll. (ColL, Rhizophagidae), *Journal of Applied Entomology*, 112, 89-98.
- Göktürk, T., 2007. *Rhizophagus grandis*. <http://www.ormanci.net/content/view/20/29/> 10 Kasım 2007.
- Grégoire, J. C., 1983. Host colonization strategies in *Dendroctonus*: larval gregariousness or mass attack by adults?, p. 147-154. The role of the host in the population dynamics of forest insects, Canadian Forestry Service and USDA Forest Service, Victoria, British Columbia.
- Grégoire, J. G., 1984. *Dendroctonus micans* in Belgium; the situation today. In: Biological control of bark beetles (*Dendroctonus micans*), Brussels, Belgium, Commission of European Communities, pp, 48-62.
- Grégoire, J. C., 1988. The greater European spruce beetle, p. 455-478. Dynamics of forest insect populations: patterns, causes and implications. Plenum Publishing Corporation, New York, 624.
- Grégoire, J. C., J. Merlin, J. M., Pasteels, R., Jaffuel, G., Vouland, D. ve Schvester, 1984a. Massrearings and releases of *Rhizophagus grandis* in Lozere, In: Biological control of bark beetles (*Dendroctonus micans*), Brussels, Belgium, Commission of the European Communities, 122-128.
- Grégoire, J. C., Merlin, J. ve Pasteels, J. M., 1984b. Mass-rearing of *Rhizophagus grandis* for the biological control of *Dendroctonus micans*: an interplay between technical requirements and the species biological characteristics, Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent, 49, 763-769.

- Grégoire, J. C., Merlin, J.M., Pasteels, R., Jaffuel, G., Vouland, D. ve Schvester, 1985. Biocontrol of *Dendroctonus micans* by *Rhizophagus grandis* Gyll. (Coleoptera: Rhizophagidae) in the Massif Central (France), A first appraisal of the mass rearing and release methods, 2. Ang. Entomol., 99, 182-190.
- Grégoire, J. C., Merlin, J., Jaffuel, R., Denis, P., Lafont, P. ve Schvester, D., 1986. Elevage a petite moyenne échelle du prédateur *Rhizophagus grandis* Gyll. envue de la lutte biologique contre *Dendroctonus micans* Kug., Revue Forestière Française 38, 457-464.
- Grégoire, J. C., Baisier, M., Merlin, J. ve Naccache, Y., 1989. Interactions between *Rhizophagus grandis* (Coleoptera:Rhizophagidae) and *Dendroctonus micans* (Coleoptera:Scolytidae) in the field and the laboratory: their application for the biological control of *Dendroctonus micans* in France, p. 95-108. Potential for biological control of Dendroctonus and Ips bark beetles. Stephen F. Austin University, Nacogdoches, Texas, 255.
- Grégoire, J. C., Baisier, M., Drumont, A., Dahlsten, D. L., Meyer, H. ve Francke, W., 1991. Volatile compounds in the larval frass of *Dendroctonus valens* and *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae) in relation to oviposition by the predator, *Rhizophagus grandis* (Coleoptera: Rhizophagidae), Journal of Chemical Ecology, 17, 2003-2019.
- Grégoire, J. C., Couillien, D., Drumont, A., Meyer, H. ve Francke, W., 1992. Semiochemicals and the management of *Rhizophagus grandis* Gyll. (Col: Rhizophagidae) for the biocontrol of *Dendroctonus micans* Kug. (Col: Scolytidae), Journal of Applied Entomology, 114, 110-112.
- Hunter-Fujita, R. F., Entwistle, P. F., Evans, H. F. ve Crook, N. E., 1998. General laboratory practice, In: *Insect Viruses and Pest Management*, London, John Wiley & Sons, 359-473.
- Kanat, M., 2000. Türkiye Ormanlarında Görülen Başlıca Abiyotik ve Biyotik Zararlıların İncelenmesi, Fen ve Mühendislik Dergisi, 3, 2, 39- 50.
- Keilin, D., 1921. On the life-hisotry of *Helicosporidium parasiticum*, n. g., n. sp., a new type of protist parasitic in the larva of *Dasyhelea obscura* Winn. (Diptera, Ceratopogonidae) and some other arthropods, Parasitology, 13, 2, 97-113.
- Kellen, W. R. ve Lindegren, J. E., 1974. Life cycle of *Helicosporidium parasiticum* in the navel orangeworm, *Paramyelois transitella*, Journal of Invertebrate Pathology, 23, 202-208.
- Khobakhidze, D. N., 1965. Some results and prospects of the utilization of beneficial entomophagous insects in the control of insects pest in Georgian SSR (USSR), Entomophaga, 10, 4, 323-330.

- Khobakhidze, D. N., Tvaradze, M. S. ve Kraveishvili, I. K., 1970. Preliminary results of introduction, study of bioecology, development of methods of artificial rearing and naturalization of the effective entomophage, *Rhizophagus grandis* Gyll., against the European spruce beetle, *Dendroctonus micans* Kugel., in spruce plantations in Georgia, Soobshcheniya Akademii Nauk Gruzinskoi SSR, Bulletin of the Academy of Sciences of the Georgian SSR, 60, 205-208, in Russian.
- King, C. J., Fielding, N. J. ve O'Keefe, T., 1991. Observations on the life cycle and behavior of the predatory beetle, *Rhizophagus grandis* Gyll. (Col: Rhizophagidae) in Britain, Journal of Applied Entomology, 111, 286–296.
- Kleespies, R. G., Huger, A. M., Buschinger, A., Nahrung, S. ve Schumann, R. D., 1997. Studies on the Life History of a Neogregarine Parasite Found in *Leptothorax* Ants from North America, Biocontrol Science and Technology, 7, 117-129.
- Koning, A. P. ve Keeling, P. J., 2004. Nucleus-Encoded Genes for Plastid-Targeted Proteins in *Helicosporidium*: Functional Diversity of a Cryptic Plastid in a Parasitic Alga., Eukaryotic Cell, 3, 5, 1198-1205.
- Konukçu, M., 2001. Ormanlar ve Ormancılığımız. Devlet Planlama Teşkilatı, Yayın ve Temsil Dairesi Başkanlığı, Yayın No. DPT, 2630–238.
- Kostak, H., 2001. Giresun Orman Bölge Müdürlüğü *Dendroctonus .micans* (Kug.)'in zararı ve mücadelesi, Giresun Orman Bölge Müdürlüğü, Orman Zararlılarıyla Mücadele Şube Müdürlüğü 2001 faaliyet raporu, Giresun, 15-22.
- Kudo, R. R., 1931. Handbook of Protozoology, Springfield, IL, C. C. Thomas.
- Lempérière, G., 1994. Ecology of the Great European Spruce Bark Beetle *Dendroctonus micans* (Kug.), Ecologie, 25, 1, 31-38.
- Lindgren, J. E. ve Hoffmann, D. F., 1976. Ultrastructure of some developmental stages of *Helicosporidium* sp. in the navel orangeworm, *Paramyelois transitella*, Journal of Invertebrate Pathology, 27, 1, 105–113.
- Lipa, J. J. ve Triggiani, O., 1992. A newly recorded neogregarine (Protozoa, Apicomplexa), parasite in honey bees (*Apis mellifera*) and bumble bees (*Bombus* spp), Apidologie, 23, 533-536.
- Moser, J.C., 1989. An exotic predator for the biological control of the black turpentine beetle, pp. 189-200 In: Kulhavy, D. L. and Miller, M. C., (eds.) Potential for Biological Control of *Dendroctonus* and *Ips* Bark Beetles, center for Applied Studies, School of Forestry, Stephen F. Austin state University, Nacogdoches, TX, 255.
- Nadakavukaren, M. J. ve McCracken, D. A., 1973. Prototheca: An alga or a fungus?, Journal of Phycology, 9, 113-116.

- O'Neill, M. ve Evans, H. F., 1999. Cost-effectiveness analysis of options within an integrated crop management regime against great spruce bark beetle, *Dendroctonus micans*, Kug. (Coleoptera: Scolytidae), Agricultural and Forest Entomology, 151-156.
- Özcan, G.E., Eroğlu, M. ve Alkan-Akıncı, H., 2006. Ladin ormanlarında *Dendroctonus micans* (Kugelann) (Coleoptera: Scolytidae)'in zarar durumu ve *Rhizophagus grandis* (Gyllenhal) (Coleoptera: Rhizophagidae)'in zararlıının popülasyonuna etkisi, Türkisch Entomology, 30, 1, 1-12.
- Peter, G., 1984. Plant Pests and Their Control, Fenemore, London.
- Poinar, G.O., 1978. Identification of The Groups of Insect Pathogens, Plenum Press, New York.
- Radek, R. ve Fabel, P., 2000. A new entomopoxvirus from a Cockroach: Light and electron microscopy, Journal of Invertebrate Pathology, 75, 19-27.
- Serez, M., 1984. Türkiye'de *Dendroctonus micans* (Kugelann) üzerine araştırmalar, T.C. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı, Sıra No, 646, Seri No, 26, Ankara, 127.
- Tağıl, Ş., 2006. Peyzaj Patern Metrikleriyle Balıkesir Ovası ve Yakınında Habitat Parçalılığında ve Kalitesinde Meydana Gelen Değişim (1975-2000), Ekoloji, 15, 60, 24-36.
- Tartar, A., 2004. Incertae sedis no more: The phylogenetic affinity of Helicosporidia, Entomology and Nematology, PhD dissertation, Gainesville, University of Florida. 98.
- Tartar, A. ve Boucias, D. G., 2004. The non-photosynthetic, pathogenic green alga *Helicosporidium* sp. has retained a modified, functional plastid genome, FEMS microbiology letters, 233,1, 153-157.
- Tartar, A., Boucias, D. G., Adams, B. J. ve Becnel, J. J., 2002. Phylogenetic analysis identifies the invertebrate pathogen *Helicosporidium* sp. as a green alga (Chlorophyta), International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 52, 1, 273-279.
- Toguebaye, B.S., Marchand, B. ve Bouix, G., 1988. Microsporidia of *Chrysomelidae*, pp. 399-416 in: Petitpierre E., Hsiao T.H., Jolivet P.H. (eds), *Biology of Chrysomelidae*. Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Tømmerås, B. A., Mustaparta, H. ve Grtgoire. J. C., 1985. Electrophysiological recordings from olfactory receptor cells in *Dendroctonus micans* and *Rhizophagus grandis*. In *Animals and Environmental Stress*. R. Gilles, ed. Pergamon Press, 98-106.
- Tondeur, A. ve Gregoire, J. C., 1979. Chemical orientation of *Rhizophagus grandis* (Coleoptera: Rhizophagidae) towards mates, and towards prey: *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae), In: *Animals and Environmental Stress*, R. Gilles, ed. Pergamon Press, 93-94.

- Undeen, A. ve Vavra, J., 1997. Research methods for entomopathogenic protozoa, p. 117-151 in: Lacey, L., (ed), *Manual of Techniques in Insect Pathology*, Academic Press, San Diego.
- Valigurova, A. ve Bretislav, K. 2006. Ultrastructural study of developmental stages of *Mattesia dispersa* (Neogregarinorida: Lipotrophidae), a parasite of the flour moth *Ephesia kuehniella* (Lepidoptera), European Journal of Protistology, 42, 313–323.
- Wang, W. ve Chen, J., 2007. Ultrastructural study on a novel microsporidian, *Endoreticulatus eriocheir* sp. nov. (Microsporidia, Encephalitozoonidae), parasite of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* (Crustacea, Decapoda), Journal of Invertebrate Pathology, 94, 77–83.
- Wainhouse, D., Wyatt, T., Phillips, A., Kelly, D.R., Barghain, M., Beech-Garwood, P. ve Howell, R. S., 1991. Response of the predator *Rhizophagus grandis* to host plant derived chemicals in *Dendroctonus micans* larval frass in wind tunnel experiments (Coleoptera: Rhizophagidae, Scolytidae), Chemoecology, 2, 55-63.
- Wegensteiner, R., Pernek, M. ve Weiser, J., 2005. Occurrence of *Gregarina typographi* (Sporozoa, Gregarinidae) and of *Metschnikowia typographi* (Ascomycota, Metschnikowiaceae) in *Ips sexdentatus* (Col., Scolytidae) from Austria, 10th European Meeting, Invertebrate pathogens in biological control: Present and Future, Locorotondo, Italija, 10.-15.06.2005.
- Weiser, J., 1970. *Helicosporidium parasiticum* Keilin infection in the caterpillar of a hepialid moth in Argentina, Journal of Protozoology, 17, 3, 436-440.
- Weiser, J., Wegensteiner, R. ve Žižka, Z., 1995. *Canningia spinidentis* gen. Et sp. N. (Protista:Microspora), a new pathogen of the fir Bark Beetle *Pityokteines spinidens*, Folia Parasitologica, 42, 1-10.
- Weiser J., Wegensteiner R., Handel U. ve Žižka, Z., 2003. Infections with the Ascomycete Fungus *Metschnikowia typographi* sp.nov. In the Bark Beetles *Ips typographus* and *Ips amitinus* (Coleoptera, Scolytidae), Folia Microbiol, 48,5, 611–618.
- Wood, S. L., 1963. A revision of the bark-beetle genus *Dendroctonus* Erichson (Coleoptera: Scolytidae), *Great Basin Nature*, 23, 1-117.
- Yaman, M., 2008. First results on distribution and occurrence of the insect pathogenic alga *Helicosporidium* sp. (Chlorophyta: Trebouxiophyceae) in the populations of the great spruce bark beetle, *Dendroctonus micans* (Kugelann) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), North-Western Journal of Zoology, 4, 1, 99–107.
- Yaman, M. ve Radek, R., 2003. *Nosema chaetocnema* Sp. n. (Microspora: Nosematidae), a Microsporidian Parasite of *Chaetocnema tibialis* (Coleoptera: Chrysomelidae), Acta Protozool, 42, 231 – 237.
- Yaman, M. ve Radek, R., 2005 a. *Helicosporidium* infection of the great European spruce bark beetle, *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae), European Journal of Protistology, 41, 203-207.

- Yaman, M. ve Radek, R., 2005 b. New Microsporidian Parasite Record of *Phyllotreta undulata* (Chrysomelidae, Coleoptera). Turkish Journal Zoology, 29, 67–69.
- Yaman, M. ve Radek, R., 2007. Infection of the predator beetle *Rhizophagus grandis* Gyll. (Coleoptera, Rhizophagidae) with the insect pathogenic alga *Helicosporidium* sp. (Chlorophyta: Trebouxiophyceae), Biological Control, 41, 384–388.
- Yaman, M. ve Radek, R., 2008. Pathogens and parasites of adults of the great spruce bark beetle, *Dendroctonus micans* (Kugelann) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) from Turkey, Journal of pest science, 81, 91–97.
- Yaman, M., Radek, R., Aslan, İ. ve Ertürk, Ö., 2005. Characteristic Features of *Nosema phyllotretae* Weiser 1961, a Microsporidian Parasite of *Phyllotreta atra* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Turkey, Zoological Studies, 44, 3, 368-372.
- Yüksel, B., 1998. Doğu Ladini (*Picea orientalis* (L.) Link.) ormanlarında zarar yapan böcek türleri ile bunların yırtıcı ve parazitleri-II (yırtıcı ve parazitler), Doğu Karadeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü, Yayın No: 6, Teknik Bülten N

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Trabzon'un Yomra ilçesinde doğdu. İlkokulu 24 Şubat İlkokulunda, ortaokulu Cumhuriyet Ortaokulunda ve lise öğrenimini Trabzon Lisesinde tamamladıktan sonra 1999–2000 öğretim yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümünde Lisans öğrenimine başladı. 2004 yılında Biyolog unvanı ile mezun oldu. 2005 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'ne bağlı olarak Biyoloji Bölümünde yüksek lisans eğitime başladı. 2006 yılında TÜBİTAK destekli 107T166 nolu projede çalışmaya başlamıştır ve halen devam etmektedir. Halen K.T.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde mastır eğitime devam etmektedir.