

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

***LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* (COLEOPTERA, CHRYSOMELIDAE)'NİN  
BİR MİKROSPORİDİUM PATOJENİNİN KARAKTERİZASYONU VE VARLIĞI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Nejla ÖZCAN**

**HAZİRAN 2010**  
**TRABZON**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

***LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* (COLEOPTERA, CHRYSOMELIDAE)'NİN  
BİR MİKROSPORİDİUM PATOJENİNİN KARAKTERİZASYONU VE VARLIĞI**

**Nejla ÖZCAN**

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

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 21.05.2010  
Tezin Savunma Tarihi : 18.06.2010**

**Tez Danışmanı : Doç. Dr. Mustafa YAMAN  
Jüri Üyesi : Doç. Dr. Bilal KUTRUP  
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Mahmut EROĞLU**

**Enstitü Müdürü : Prof. Dr. Salih TERZİOĞLU**

**Trabzon 2010**

## ÖNSÖZ

“*Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera, Chrysomelidae)’nın Bir Mikrosporidium Patojeninin Karakterizasyonu ve Varlığı” adlı bu tez, patates böceğinin kontrolünde mikrospor kullanımının ülkemizde uygulanan ilk çalışmasıdır. Gerçekleştirilen bu biyolojik mücadele ön çalışmasının ülkemize yararlı sonuçlar sağlamasını ümit ediyorum.

Tez çalışmalarını süresince danışmanlığımı üstlenerek konu seçimimde yardımcı olan ve bu çalışmanın ortaya çıkması için imkanlarından sınırsız şekilde yararlanmamı sağlayan, Almanya’da gerçekleştirdiği elektron mikroskobu çalışmalarıyla bu yüksek lisans tezine büyük katkıda bulunan, benden engin bilgi ve tecrübesini esirgemeyen çok değerli hocam Doç. Dr. Mustafa YAMAN’a, elektron mikroskobu çalışmalarına imkan sağlayan ve bilgileriyle destek veren sayın Doç. Dr. Renate RADEK’e, tezin çalışılması ve sonuçlarının değerlendirilmesinde değerli görüş ve katkılarından dolayı Prof. Dr. Jerzy J. LIPA ve Andreas LINDE’ye, fikirleriyle ve yardımlarıyla bana destek olan laboratuvar çalışma arkadaşlarım Onur TOSUN, Çiçek ERDOĞAN, Funda ERASLAN, Hilal BAKİ ve F. Pınar GÜNGÖR’e, tez çalışmalarının sonuçlandırılmasına imkan sağlayan KTÜ Araştırma Fonu’na (Proje No: 2005.111.004.4) ve beni destekleyen sevgili arkadaşlarıma, maddi ve manevi anlamda her zaman yanımda olan değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Nejla ÖZCAN  
Trabzon 2010

## 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. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> (Coleoptera: Chrysomelidae) (Patates Böceği).....	3
1.2.1. Tanımı ve Yaşayışı.....	3
1.2.2. Zarar Şekli, Ekonomik Önemi ve Yayılışı.....	5
1.2.3. Doğal Düşmanları ve Mücadele Yöntemleri .....	6
1.3. Mikrosporidia.....	9
1.4. Tezin Amacı.....	11
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	12
2.1. Böceklerin Elde Edilmesi.....	12
2.2. Mikroskopik Çalışmalar.....	13
2.2.1 Işık Mikroskobu Çalışmaları.....	13
2.2.1.1. Giemsa Boyama .....	13
2.2.2. Elektron Mikroskobu Çalışmaları.....	14
2.2.2.1. Resine Gömme İşlemi ve Elektron Mikroskobu Çalışması.....	14
2.2.3 <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'ya Uygulanan Mikrospor Biyoassay DeneYleri.....	15
3. BULGULAR.....	17
3.1. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'da Mikrospor Enfeksiyonunun Belirlenmesi.....	17
3.1.1. Mikrospor Enfeksiyonunun Makroskopik Görünümü.....	17
3.1.2. Mikrospor Enfeksiyonunun Mikroskopik Olarak Belirlenmesi.....	18
3.1.2.1. Işık Mikroskobu Çalışmaları ile Mikrospor Enfeksiyonunun Belirlenmesi.....	18
3.1.2.2 Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile Mikrospor Patojeninin İncelenmesi.....	23
3.2. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'da Mikrospor Patojeninin Varlığı.....	31
3.3. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'ya Uygulanan Mikrospor Biyoassay DeneYleri.....	34

4.	TARTIŞMA.....	35
5.	SONUÇLAR.....	42
6.	ÖNERİLER.....	43
7.	KAYNAKLAR.....	44
	ÖZGEÇMİŞ	

## ÖZET

Patates bitkisi dünyanın birçok ülkesinde olduğu gibi ülkemizde de önemli bir besin kaynağıdır. Zengin içeriği, birçok iklim koşuluna gösterdiği uyum ve çok çeşitli kullanım alanı ile en çok tercih edilen tarım ürünlerinden biridir. Bu nedenle ekonomik açıdan da kayda değer bir öneme sahiptir.

Patates böceği, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae), en önemli patates zararlılarından biridir. Bu zararlı ile mücadelede çoğunlukla kimyasal ilaçlar kullanılmaktadır. Uygulanan kimyasalların yan etkileri, zararlının kontrolünü gittikçe güçleştirmektedir. Hazırlanan bu çalışmada *Leptinotarsa decemlineata*'da enfeksiyon yapan bir mikrosporidium patojeninin karakterizasyonu ve varlığı ortaya konmuştur. Trabzon'un dört lokalitesinden (Akçaabat, Pelitli, Yeşiltepe ve Yomra) periyodik olarak toplanan *L. decemlineata* ergin ve larvaları disekte edilip ışık mikroskobu altında incelenmiştir ve mikrospor enfeksiyonuna rastlanmıştır. Elektron mikroskobu (TEM) çalışmaları sonucunda tespit edilen bu patojenin *Nosema* cinsine ait, *Nosema leptinotarsae* Lipa, 1968 (Dissociodihaplophasida: Nosematidae) olduğu belirlenmiştir. Patojenin sporları  $4,54 \pm 0,5$  (n= 4809)  $\mu\text{m} \times 2,46 \pm 0,3$  (n=4878)  $\mu\text{m}$ 'dir. *N. leptinotarsae* enfeksiyonu bağırsakta, malpigi tüplerinde ve hemolenfte gözlenmiştir.

Akçaabat'tan toplanan 248 larvanın 4'ünde (% 1,61), 271 erginin 28'inde (% 10,33), Pelitli'den toplanan 238 larvanın 5'inde (% 2,1), 146 erginin 7'sinde (% 4,79), Yeşiltepe'den toplanan 294 larvada hiç bulunmazken, 317 erginin 9'unda (% 2,83), Yomra'dan toplanan 206 larvanın 15'inde (% 7,28), 47 erginin 2'sinde (% 4,25) *N. leptinotarsae* enfeksiyonu kaydedilmiştir.

Arazi çalışmaları sonucunda elde edilen erginler ile gerçekleştirilen mikrospor biyoassay deneyleri sonucunda % 62,8 oranında enfeksiyon tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler :** *Nosema leptinotarsae*, Patates böceği, Mikrosporidium, Patojen

## SUMMARY

### CHARACTERIZATION AND OCCURENCE OF A MICROSPORIDIUM PATHOGEN OF *LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)

Potato is an important nutrition source in our country as well as in many countries of the world. It's one of the most preferred agricultural products because of its rich content, consistence of several climate conditions and various area of usage. Therefore it has also a significant economical importance.

Colarodo potato beetle, *Leptinotarsae decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) is one of the serious pests of potato. Chemical pesticides are used for control of this pest. Side-effects of these chemical pesticides complicate control of the beetles increasingly. In this study, characterization and occurrence of a microsporidium pathogen that infects *L. decemlineata* and its potential usage against Colarodo potato beetle as a biological agent is revealed.

The adults and larvae of *L. decemlineata* collected from four different localization of Trabzon (Akçaabat, Pelitli, Yeşiltepe and Yomra) were dissected and observed under light microscope. At the end of the studies a microsporidium infection is determined. As a result of the TEM studies, it is defined that observed pathogen in this study is *Nosema leptinotarsae* belonging *Nosema* genus. Spores of this pathogen are measured as  $4.54 \pm 0.5$  (n= 4809)  $\mu\text{m}$  in length,  $2.46 \pm 0.3$  (n=4878)  $\mu\text{m}$  in width. *N. leptinotarsae* infection is observed in gut, malpighian tubules and hemolymph of the pest.

4 (1.61%) of 248 larvae, 28 (10.33%) of 271 adults from Akçaabat, 5 (2.1%) of 238 larvae and 7 (4.79%) of 146 adults from Pelitli, 9 (2.83%) of 317 adults from Yeşiltepe, 15 (7.28%) of 206 larvae and 2 (4.25%) of 47 adults from Yomra are infected by *N. leptinotarsae*.

According to results of bioassay experiments realized by adults of *L. decemlineata* obtained from field studies, *N. leptinotarsae* infection was recorded. The rate of this infection is 62.8%.

**Key Words:** *Nosema leptinotarsae*, Colarodo potato beetle, Microsporidium, Pathogen

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

Şekil 1.	<i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'ya ait ergin, yumurta, larva ve pupa safhaları....	4
Şekil 2.	<i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın patates tarlalarındaki zarar durumu.....	6
Şekil 3.	<i>Leptinotarsa decemlineata</i> erginlerine uygulanan mikrospor biyoassay deneyi.....	16
Şekil 4	Mikrospor patojenin <i>L. decemlineata</i> dokularındaki yaptığı enfeksiyon. Işık mikroskobu görünümü .....	19
Şekil 5.	Giemsa boyalı <i>Nosema leptinotarsae</i> 'nin hayat döngüsü, spor safhası.....	20
Şekil 6.	Giemsa boyalı <i>Nosema leptinotarsae</i> 'nin hayat döngüsü, meront safhası .....	21
Şekil 7.	Giemsa boyalı <i>Nosema leptinotarsae</i> 'nin hayat döngüsü sporont safhası.....	22
Şekil 8.	Giemsa boyalı <i>Nosema leptinotarsae</i> 'nin hayat döngüsü sporoblast safhası..	22
Şekil 9.	<i>Nosema leptinotarsae</i> 'nin meront safhasının TEM'deki görünümü.....	23
Şekil 10.	<i>Nosema leptinotarsae</i> 'nin sporont safhasının TEM'deki görüntüsü.....	24
Şekil 11.	<i>Nosema leptinotarsae</i> 'nin sporoblast safhasının TEM'deki görüntüsü.....	25
Şekil .12.	<i>Nosema leptinotarsae</i> 'nin çift çekirdekli spor safhasının TEM'deki görüntüsü.....	26.
Şekil 13.	<i>Nosema leptinotarsae</i> 'nin, çift çekirdekli, 15-16 polar filamentli spor safhasının TEM'deki görünümü.....	27
Şekil 14.	<i>Nosema leptinotarsae</i> sporlarının polar filamentlerinin TEM'deki görünümü.....	28
Şekil 15.	<i>Nosema leptinotarsae</i> 'nin spor safhası.....	29
Şekil 16.	<i>Nosema leptinotarsae</i> 'nin polar filamentlerinin Anchoring disc yapısının TEM'deki görüntüsü.....	30
Şekil 17.	Mikrospor enfeksiyon oranlarının bölgesel dağılımı.....	39
Şekil 18.	Mikrospor enfeksiyon oranının aylara göre dağılımı.....	40
Şekil 19.	<i>L. decemlineata</i> 'daki mikrospor enfeksiyon oranının dişi ve erkek bireylerdeki dağılımı.....	41



## TABLULAR DİZİNİ

### Sayfa No

Tablo 1. Arazi ya da laboratuvar çalışmaları sonucunda patates böceğinin direnç geliştirdiği insektisitler (Whalon vd. 2008).....	8
Tablo 2. Araziden toplanan <i>L. decemlineata</i> larvalarındaki mikrospor enfeksiyonu...	31
Tablo 3. Araziden toplanan <i>L. decemlineata</i> erginlerindeki mikrospor enfeksiyonu...	32
Tablo 4. Araziden toplanan <i>L. decemlineata</i> 'nın enfekte olmuş dişi ve erkek bireyleri	33
Tablo 5. Mikrospor biyoassay deneylerinin sonucu.....	34
Tablo 6. Chrysomelidae (Coleoptera) Familyasında Kaydedilen <i>Nosema</i> Türleri.....	36
Tablo 7. Chrysomelidae Familyasında Tanımlanan <i>Nosema</i> Türleri ve Morfolojik ve Ultrastrüktürel Özellikleri.....	38

## SEMBOLLER DİZİNİ

TEM : Transmisyon Elektron Mikroskobu  
 $\mu\text{m}$  : Mikrometre

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Giriş

Dünyanın birçok ülkesinde yetiştirilmekte olan patates bitkisi, tarım ürünleri arasında üretim miktarı bakımından ilk sıralarda yer almaktadır. İçerdiği karbonhidrat, protein, mineraller ve vitaminlerle, özellikle gelir düzeyi fazla olmayan ülkelerde çok önemli bir besin kaynağı olma özelliği taşımaktadır.

Temelde çeşitli yöntemlerle hazırlanıp tüketilen patates, gelişmiş ülkelerde sanayi alanında konserve, dondurulmuş gıda, cips, püre, granül ve toz formlarda işlenip pazarlanmaktadır. Bunun dışında yan ürün olarak alkol, nişasta ve hayvan yemi yapımında da kullanılmaktadır (Onaran vd., 2000).

Ülkemizde patates, çeşitli iklim koşullarına gösterdiği uyum özelliği ile tercih edilen, yaygın olarak tüketilen ve ihracatı yapılan bir bitkidir. Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre 2006 yılında 1,579,084 dekarlık alanda 2765 kg/dekar verimle 4,366,180 ton, 2007 yılında 1,525,975 dekarlık alanda 2771 kg/dekar verimle 4,227,726 ton, 2008 yılında, 1,478,883 dekarlık alanda, 2838 kg/dekar verimle yaklaşık 4,196,522 ton patates üretilmiştir (TUIK, 2009). Bu veriler patates bitkisinin ülkemiz ekonomisine ne denli önemli bir katkı sağladığını ortaya koymaktadır. Tarım ve ekonomi açısından bu kadar büyük öneme sahip olan patatesin üretimini etkileyen olumsuz etmenler mevcuttur. Bu olumsuzluklar içersinde verimsiz alanlarda yapılan ekim işlemleri, bitkinin doğal hastalıkları, olumsuz iklim koşulları ve özellikle büyük kayıplara neden olan zararlı böcekler yer almaktadır.

Patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata*), en önemli patates zararlılarından biridir. Böceğin larva ve erginleri patates bitkisinin yaprakları ile beslenmektedir. Zararlının patates bitkisindeki beslenme işlemi, bitkinin tüm yaprakları yok olana kadar devam etmektedir. Patates böceği, zarar gören bitkinin yaprakları tükendikten sonra beslenmeye devam etmek için yeni bitkilere geçmekte ve hızlı bir şekilde çok geniş bir alana yayılabilmektedir. Uçabilen erginler yakınlardaki tarlalara geçmekte ve zararın yayılmasına neden olmaktadır. Yapraklarını kaybeden patates bitkisi gelişimi için gerekli ışık ve nem gibi hayati unsurlardan yoksun kalmakta ve gelişimini tamamlayamamaktadır (Onaran vd., 2000). Bu durumda patates üretimindeki verim, olumsuz yönde büyük ölçüde etkilenmektedir.

Türkiye’de ve dünyada patates böceğinin verdiği zararı engellemek için büyük çaba ve maddi güç sarf edilmektedir. Zararlı böcek mücadelesinde diğer tarımsal ürünlerde olduğu gibi kimyasal ilaçlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Kimyasal ilaçların zararlı böcekler üzerindeki etkisinin dışında çevreye ve dolaylı olarak insan sağlığına oldukça büyük zararları mevcuttur. Kimyasal ilaç kullanımı ile hedeflenen böcek dışında, ortamda bulunan birçok yararlı hayvan da zarar görmektedir. Yağmur rüzgar gibi abiyotik etmenlerle kimyasallar toprağa, ekim alanındaki tarım ürünlerine ve hatta akarsular aracılığı ile içme sularına bulaşmakta ve insan sağlığını tehdit etmektedir (Ecevit, 1988).

Ne yazık ki kullanılan kimyasal ilaçlar bu böcekler üzerinde beklenen etkiyi sağlamamaktadır. Çünkü *L. decemlineata* insektisitlere karşı çok çabuk direnç kazanan bir böcektir. Kazandığı direnç sayesinde böceğin yeni jenerasyonu kullanılan kimyasal insektisitlerden etkilenmemektedir. *L. decemlineata*, en çok insektisit direnci geliştiren 13 böcek ve akar türünden bir tanesidir (Weisz vd., 1994). Bu nedenle yeni biyolojik mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir (Martin, 2004). Kimyasal mücadele yöntemlerinde insektisit kullanımının bu olumsuzluklarından dolayı birçok bilim adamı ve devlet çalışanları alternatif mücadele teknikleri üzerinde yoğunlaşmaktadır. Alternatif mücadele tekniklerinin başında çevreye ve insanlara olan zararlı etkisinin minimum, maliyetinin düşük olduğu yöntemler tercih edilmelidir. Bu amaçla son yıllarda biyolojik mücadele yöntemleri önem kazanmaktadır. Biyolojik mücadele yöntemlerinde zararlı böcek üzerinde doğal hastalık oluşturan etmenler ilgi odağı olmuştur.

Bu yüksek lisans tezinde dünyada önemli bir tarım zararlısı olan *L. decemlineata* zararlısına karşı mücadele amaçlı olarak kimyasal kullanımını azaltacak ekonomiye ve çevreye daha duyarlı mücadele yöntemleri araştırılmıştır. Bu kapsamda böcekte doğal hastalık oluşturan bir patojenin, doğadan izolasyonu, zararlı böcek popülasyonundaki varlığı ve dağılımının, araştırılıp geliştirilmesi amaçlanmıştır.

## 1.2. *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) (Patates Böceği)

Alem: Animalia (Hayvanlar)

Şube: Arthropoda (Eklembacaklılar)

Alt Şube: Hexapoda

Sınıf : Insecta (Böcekler)

Takım: Coleoptera (Kıncanatlılar)

Familya: Chrysomelidae (Yaprak böceğigiller)

Cins: *Leptinotarsa*

Tür: *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824

### 1.2.1. Biyolojisi

Patates böceğinin erginleri, 10-11 mm uzunluğunda, şişkin, oval ve oldukça konvektir. İki sarı kanat kabuğunun her birinin üstünde 5 ince siyah çizgi bulunur. Baş ve göğsün üstünde yaklaşık bir düzine küçük siyah noktalar vardır. Bacakların ucu koyu kahverengi ya da siyahtır (Şekil 1 A). Üst kanatların altında yalnızca uçarken görülebilen bir çift pembe kanat görülür (EPPO Council, 2009). Kışı ergin olarak toprağa gömülü şekilde geçiren patates böceğinin çıkışı Mayıs ayında başlar. Bulunduğu iklim koşullarına bağlı olarak 1-3 döl verir.

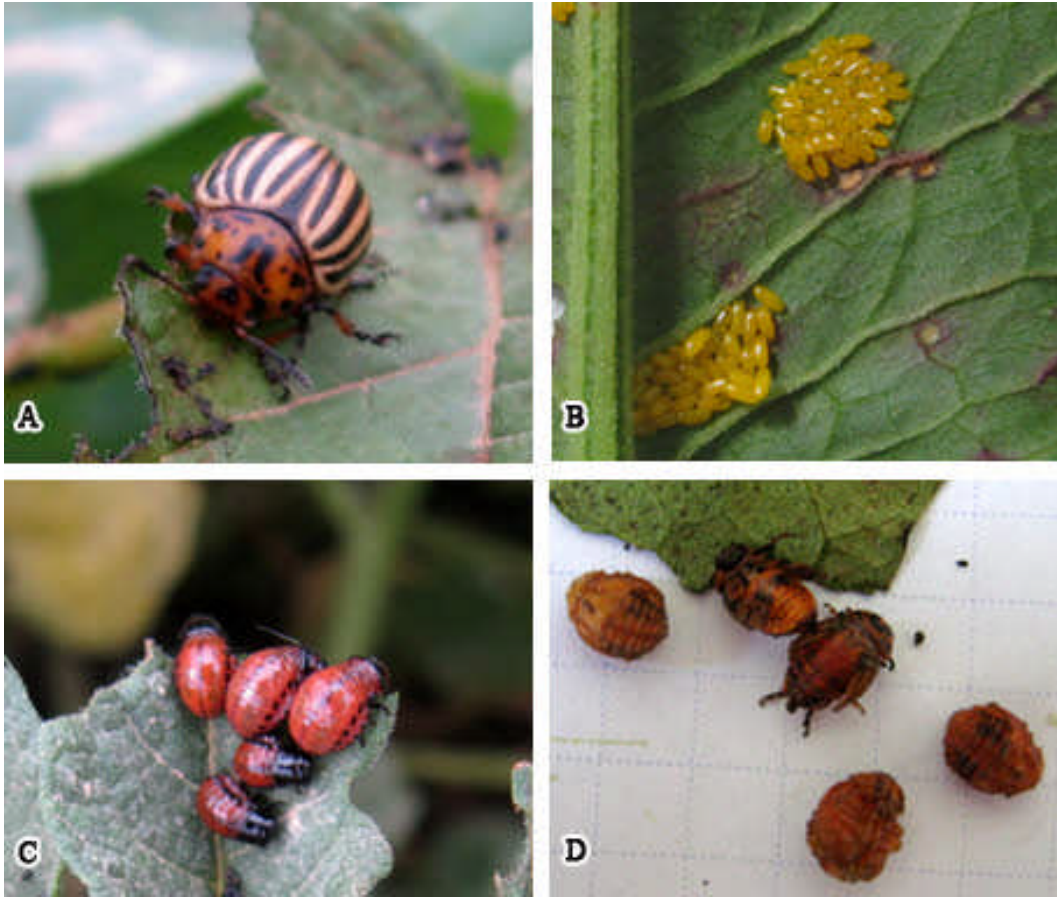
Patates böceğinin yumurtaları sarı ya da açık turuncu renkte, uzun-oval, yaklaşık 1,2 mm uzunluğundadır ve patates yaprağı altında bir arada bulunur (Şekil 1 B). Ergin dişi bireyler, tek seferde 10-30 tane olmak üzere ve yaprağın alt yüzeyine oldukça düzgün bir şekilde yumurtalarını bırakırlar. Yumurta bırakma süresi boyunca dişi bireyler 500-3000 yumurta bırakabilir. (EPPO Council, 2009).

Normal mevsim şartları altında, yumurtadan larva çıkışı yumurta bırakıldıktan 5 gün sonra gerçekleşir. Larvalar geniş bir abdomene ve kavisli bir vücuda sahiptir. Birinci instar kiraz kırmızısı renğinde, parlak baş ve ayaklara sahiptir. Sonraki instarlar kademeli olarak havuç rengi ve uçuk portakal rengindedir. Vücutlarının her iki yanında siyah noktalardan oluşan şeritler mevcuttur (Şekil 1 C).

Yumurtadan çıkan larvalar hemen beslenmeye başlar. Deri değiştirme dönemleri haricinde beslenmeyi nadiren bırakırlar. Larvalar güçlü ve olumsuz hava koşullarına karşı dayanıklı olsalar da aşırı yağış ve güçlü rüzgarlar, özellikle genç instarlarda ölüm oranını

arttırabilir. Aynı grup yumurtalarının larvaları ilk deri değişimine kadar alt yaprak yüzeyinde bir arada dururlar; daha sonra tomurcukların dip kısımlarına hareket ederler. 4. instar evresinde larvalar yaprak sapları ve gövdelere saldırır (EPPO Council, 2009).

Larvalar dört kez gömlek değiştirir. Gelişen larva toprak üzerinde birkaç gün prepupa halinde kalır. Dördüncü gömleği değiştirdikten sonra toprağın 1-14 cm derinine gömülerek pupa oluşturur (Şekil 1 D). 5-10 gün içinde ergin hale geçer. İklim koşullarına bağlı olarak yılda 1-3 döl veririler.



Şekil 1. *Leptinotarsa decemlineata* 'ya ait ergin, yumurta, larva ve pupa safhaları A: Ergin, B: Yumurta, C: Larva, D: Pupa (Fotoğraf: Nejla ÖZCAN)

### 1.2.2. Zarar Şekli, Ekonomik Önemi ve Yayılışı

Patates böceğinin ergin ve larvaları bitkinin yaprakları, gövdesini ve nadiren de olsa yumrularıyla beslenerek zarar verir. Son yıllarda Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya'da gerçekleşen zarar 16 milyon km<sup>2</sup>'dir ve bu rakam gittikçe artmaktadır (Alyokhin vd., 2008).

Patates böceği, kendisine en yakın patates tarlasına kısa bir yürüyüş ya da uçuş sonucunda ulaşır. Geniş alanlara yayılmasının esas yolu, özellikle bahar jenerasyonunun rüzgarla yaptığı göçtür.

Ergin ve larvalar, patates bitkisi ve yumruları üzerinde ve paketlenmiş tüm formlarında kolaylıkla taşınabilir. Kışlayan böceğin barınağı olan, patates, patlıcan ve domates gibi taze tarla sebzeleri, uluslararası pazardaki en yaygın taşıyım araçlarıdır (EPPO Council, 2009).



Şekil 2. *Leptinotarsa decemlineata*'nın patates tarlalarındaki zarar durumu. A: Zarar görmemiş patates ekili alan, B: Böceğin saldırısına uğramış alan. (Fotoğraf: Nejla ÖZCAN)

### 1.2.3. Doğal Düşmanları ve Mücadele Yöntemleri

Dünyada ve ülkemizde *L. decemlineata*'nın mücadelesinde yoğun olarak kimyasal ilaçlar kullanılmaktadır. Bunun yanında bu zararlının birçok doğal düşmanı ve doğal hastalıkları mevcuttur, bu nedenle bu zararlının mücadelesinde biyolojik mücadele ajanlarının kullanımı mümkündür. *L. decemlineata*'nın birçok eklembacaklı predatörleri ve parazitleri mevcuttur. *Carabus hampei*, *Chrysomelobia labidomerae*, *Chrysoperla carnea*, *C. sinica*, *Edovum puttleri*, *Euthyrhynchus floridanus*, *Lebia grandis*, *Myiopharus doryphorae*, *Oplomus dichrous*, *Perillus bioculatus*, *Podisus maculiventris*, *Rhynocoris* sp.



Buna ilaveten nematod, *Heterorhabditis heliothidis*, *Hexameris* sp., *Pristionchus uniformis*, *Steinernema feltiae*, *S. glaseri*; mantar *Beauveria bassiana*, *B. tenella*, *Paecilomyces farinosus*, *Penicillium funiculosum*; bakteri *Bacillus thuringiensis* ve iridovirüsler patates böceğine karşı kullanılmıştır (EPPO Council, 2009).

Patates böceği popülasyonlarını kontrol etmek için genellikle insektisitler kullanılır. Ancak bu zararlıın insektisit direnci hızla gelişir (Wilkerson vd., 2005). *L. decemlineata*, en çok insektisit direnci geliştiren 13 böcek ve akar türünden bir tanesidir (Weisz vd., 1994).

Son yüzyılın ortasından bu yana, patates böceği tüm büyük insektisit çeşitlerinin 52 değişik bileşimine direnç geliştirmiştir (Alyokhin vd., 2008). Patates böceği, modern insektisit endüstrisinin ortaya çıkmasında büyük ölçüde sorumlu olduğu düşünülmektedir (Gauthier vd., 1981). 1864'ten beri yüzlerce bileşik bu zararlıya karşı denenmiş ve bu kimyasalların taşınmalarına yardımcı olmak için uygulama ekipmanı oluşturulmuştur (Gauthier vd., 1981).

1939 yılının başlarında gerçekleştirilen ilk uygulamalarla birlikte, DDT'in ilk hedeflerinden biri de olmuşlardır (Hitchner, 1952; Gauthier vd., 1981). 1952'de DDT için yapılan kayıt, patates böceğinin sentetik organik pestisitlere gösterdiği direncin ilk örneğidir (Quinton, 1955). Dieldrine direnç 1958'de rapor edilmiştir, bunu diğer klorlu hidrokarbonlar takip etmiştir (Hofmaster vd., 1967). Sonraki yıllarda başarısız sonuçlar elde edilen insektisit grupları rapor edilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Arazi ya da laboratuvar çalışmaları sonucunda patates böceğinin direnç geliştirdiği insektisitler (Whalon vd., 2008)

<b>Kimyasal grup</b>	<b>Yaygın isimleri</b>
Karbamat	Aldikarp, karbaril, karbofuran, kloetokarp, dioksakarp, oksamil, propoksür
Organofosfataz	Azametifos, azinfosetil, azinfosmetil, klorfeninfos, malatyon, metamidofos, metidatyon, monokrotofos, paratyon, paratyon-metil, forat, fosmet, foksım, kuinalfos, tetraklorinfos, triklorfon
Organoklorinler	DDT, metoksiklor
Kiklodiye Organoklorinler	Aldrin, klordan, dieldrin, endosulfan, endrin, HCH-gamma, toksafen
Organotinler	Azosiklotin
İnorganikler	Hidrojen siyanid
Piretroidler, Piretrinler	Sipermetrin, deltametrin, esfenvalerat, fenvalerat, permetrin
Isoflavonlar	Rotenon
Neonikotinoidler	Tiametoksam, asetamiprid, klotianidin, dinotefuran, imidaklopid, N-desmetiltiametoksam, N-metilimidaklopidnitenpiram, thiaklopid
Makrosiklik laktonlar (avermektinler)	Abamektin
Nereistoksin analogları	Kartap
Spinosinler	Spinosad
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>tenebrionis</i> endotoksinler	<i>Bt</i>

Hala biyolojisinde sınırlı bilgilerin olması, değişken hayat döngüsü patates böceğinin insektisitlere karşı gösterdiği direncin kontrolünü engellemektedir (Alyokhin vd., 2008). Patates bitkisinin yaprak ve sürgünlerinde meydana gelen kaybı belli oranda tolere edebildiği bilinmektedir (Ferro vd., 1983). Bu durumda patates bitkisinde zarar yapan *L. decemlineata* böceğinin popülasyon yoğunluğunun belli bir oranın altına çekilmesi, mücadelesinde yeterli olmaktadır. Bu durumda *L. decemlineata*'nın doğal patojen ve parazitlerinin tespiti ve popülasyonunun kontrol altına alınması mücadelede en başarılı sonucu verecektir.

Bu yüksek lisans tezinde *L. decemlineata* böceğinde doğal hastalık oluşturan bir mikrosporidium patojeni tespit edilmiş ve zararlı böceğin popülasyonundaki dağılımı ve popülasyona olan etkisi çalışılmıştır.

### 1.3. Mikrosporidia

Fungus alemine ait olan, ökaryotik mikrosporodiyalar, zorunlu hücre içi parazitlerdir. Mitokondrileri bulunmayan mikrosporodiyalar, hücre dışında kalın protein ve kitin yapıda duvarla çevrili sporlar halinde bulunurlar. Sarmal yapıda polar filament içerirler (Vavra, 1976 a, b).

Mikrosporların gelişimi, merogoni ve sporogoni safhalarını içerir. Merogoni sayesinde vejetatif çoğalma gerçekleşirken, sporogoni ile sporlar meydana gelir. Merogoni ile sporogoni aşamaları ve hayat döngüsündeki evrelerin çekirdek sayıları, türden türe değişiklik gösterir.

Mikrosporlar iki çeşit spor oluştururlar. Bunlardan ilki daha kalın spor duvarına sahip olan eksternal sporlardır. İkincisi ise konak içinde farklı dokulara bulaşmaya yarayan internal sporlardır. Eksternal sporlar konak tarafından vücuda ağız yoluyla alınır. Besin yoluyla alınan bu taşınım vertikal taşınım olarak adlandırılır. İnternal sporlar ise hastalıklı dişi tarafından yumurta aracılığıyla bulaştırılır. Sporların bu yolla bulaştırılmasına horizontal taşınım denir.

Genellikle tek tip olan sporları çok küçüktür (1-20  $\mu\text{m}$ ). Mikrosporlar ışık mikroskopunda ışığı kıran, neredeyse aynı boyut ve şekilde çok sayıda spor ile kendini belli eder. Spor şekil ve boyutları türden türe değişmekle birlikte, çoğu 2-7  $\mu\text{m}$  aralığındadır ve genellikle oval şekle sahiptir.

Mikrospora ait sporlar, konak tarafından vücut içine alınıp bağırsağa ulaştıktan sonra polar filamentlerini dışarı çıkarıp polar tüp oluştururlar ve konağın hücre zarını delerek içine girerler. Mikrosporidialar konak hücrenin tüm bağışıklık sistemini bu şekilde aşarlar. Sporun içindeki çekirdek ve sitoplazmadan oluşan sporoplazma tüp vasıtasıyla konak hücre içine aktarılır (Hazard vd., 1984, 1985).

Konak hücreyi enfekte eden mikrosporların ilk vejetatif hayat safhası, meront safhasıdır. Küre şeklinden oval şekle değişiklik gösteren merontlar ince bir hücre duvarına sahiptir. Merontlar hızla ve çok sayıda mitoz bölünme geçirerek sporontları oluştururlar. Küre ya da uzun şekilli sporontların hücre duvarının kalınlaşmaya başladığı gözlenir. Bir

sonraki safhada organelleri belirginleşen hücre duvarı oldukça kalın sporoblastlar göze çarpar. Sporoblastlar, patojenin tanımlanmasında karakteristik özelliğe sahip olan olgun sporları oluşturan son vejetatif safhadır.

Mikrosporlar, konak spesifitesi olan canlılardır, yani doğada tek bir konağı tercih ederler. Bununla birlikte enfeksiyon gerçekleştirdikleri zararlının ölümüne sebep olmazlar. Bunun yerine buldukları konağın hayat süresinin kısalmasını, canlılıklarının azalmasını, iştah ve kilo kaybını ve aynı zamanda üreme potansiyellerinin azalması gibi belirtileri olan kronik bir hastalığa yol açarlar. Mikrosporidialar genel olarak tek bir konağa özgü olmaları nedeniyle biyolojik mücadelede kullanıma uygun patojenlerdir. Böylelikle sadece hedef organizmayı etkilerler, çevreye ve diğer organizmalara zarar vermezler. Bu özellikleri ile tercih edilmesi gereken biyolojik mücadele ajanlarıdır.

İnsanlarda da hastalığa sebep olabildikleri için mikrosporidiaların teşhis edilmesi ve karakterizasyonu son derece önemlidir. Mikrosporidiaların kesin teşhisi için Giemsa boyaması yöntemi kullanılır. Boyanan sporlar kayda değer bir küçülmeye maruz kalırlar ancak çekirdeğin oldukça belirgin bir şekilde boyaması sayesinde bu yöntem çok etkilidir. Giemsa boyama yöntemiyle teşhis edilen mikrosporların elektron mikroskobu çalışmaları sayesinde detaylı karakterizasyonunu yapmak mümkündür.

#### 1.4 Tezin Amacı

Hazırlanan bu yüksek lisans tezinde, en önemli patates zararlısı olan, Coleoptera takımına ait patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say, Col; Chrysomelidae)'nde doğal bir şekilde hastalık oluşturan bir mikrospor patojeninin tespiti, izolasyonu ve çeşitli metotlar aracılığıyla karakterizasyonunun gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Tez çalışmaları boyunca patates böceğinin dağılımı ve bu böcekte *Nosema leptinotarsae* enfeksiyonunun varlığı araştırılmıştır. Arazi çalışmaları her lokalite için aynı zaman diliminde gerçekleştirilmiştir. *N. leptinotarsae*'nin patates böceğinden izolasyonu, patates böceğinin ergin ve larvasına geçişi ve özelliklerinin belirlenmesi için çeşitli deneyler yapılmıştır.

### 2.1. Böceklerin Elde Edilmesi

Bu çalışmanın konusunu oluşturan *L. decemlineata*'nın ergin ve larvaları, 2009 yılı Mayıs-Temmuz ayları arasında, Trabzon'un Akçaabat, Yeşiltepe, Pelitli ve Yomra lokalitelerinden toplanmıştır.

Arazi çalışmaları sırasında böcekler dikkatle steril kaplara toplanmıştır. Enfeksiyon dağılım oranını etkilememek ve muhtemel kontaminasyonu engellemek için her lokalitenin ergin ve larvaları ayrı kaplarda toplanmıştır. Böceğin elde edildiği yer, tarih ve önemli olarak nitelendirilen özellikler ait oldukları kaplara etiketlenmiş ve toplanan bireyler en kısa sürede, güvenli bir şekilde laboratuara getirilmiştir.

Laboratuar ortamına getirilen böcekler temiz ve besinleri yenilenmiş kaplara konmuştur. 18 saat aydınlık, 6 saat karanlık ortamı sağlayacak şekilde ayarlanmış Binder marka iklimlendirme dolabında, 24°C sıcaklıkta ve % 60 oranındaki nemli ortamda bulundurulmuşlardır.

Enfeksiyon oranını, bölgesel dağılım dışında, dişi-erkek bakımından da ele alabilmek için, cinsiyet ayrımı yapılmıştır. Patates böceklerinin erkek bireyleri genellikle dişi bireylerden küçüktür. Bu sayede makroskobik olarak bir ayrım yapılması mümkündür. Ancak bu ayrımın daha sağlıklı yapılabilmesi ve kesin sonuç elde edilebilmesi için erginlerin cinsiyetine diseksiyon esnasında karar verilmiştir ve sonuçlar bu şekilde kaydedilmiştir.

## 2.2. Mikroskopik Çalışmalar

*L. decemlineata*'nın ergin ve larvalarında enfeksiyon gerçekleştirdiği belirlenen *N. leptinotarsae*'nin morfolojik, anatomik ve histopatolojik özelliklerini ortaya koymak için ışık ve elektron mikroskobu (TEM) çalışmaları yapılmıştır.

### 2.2.1 Işık Mikroskobu Çalışmaları

Arazi çalışmaları sonucunda elde edilen ergin ve larvalar, hazırlanan Ringer solüsyonu içinde disekte edilmiştir. Diseksiyon, abdomenin böceğin vücudundan ayrılmasıyla yapılmıştır. Tüm doku ve organları içerecek şekilde hazırlanan preparat ışık mikroskobu (Olympus CX41) altında 40x'ten 1000x'e kadar olan büyütmelemlerle incelenmiştir. Enfeksiyon tespit edilen preparatlar, DP-25 dijital kamera ve DP2-BSW resim sistemine sahip Olympus BX51 mikroskobuyla yeniden incelenmiş, patojenin fotoğrafları çekilmiş ve karakterizasyonu için gerekli olan ölçümler yapılmıştır.

Böcek dokularıyla hazırlanan preparatlarda, enfeksiyon yapan patojenler çoğu zaman, preparatta mevcut olan besin artıkları ile morfolojik bakımdan benzerlik gösterebilir. Ortaya çıkabilecek bu karışıklığı gidermek için Giemsa boyama tekniği kullanılmıştır. Tespit edilen tüm mikrospor enfeksiyonlu preparatlar gerekli işlemlerden geçirilerek Giemsa ile boyanmıştır. Boyanan preparatlar incelenmiş ve var olan sporlar boyanma şekilleri ile ayırt edilip ölçümleri tekrar yapılmıştır.

#### 2.2.1.1. Giemsa Boyama

Giemsa boyası sayesinde hücrenin sitoplazması ve çekirdeği farklı renklere boyanır. Sitoplazmik kısım açık mavi ve kırmızıya boyanırken nükleer kısım pembe renkte boyanır. Böylece detaylı bir inceleme ortamı sağlanarak patojen ya da parazitin hayat döngüsü safhalarıyla birlikte ortaya konulur. Bununla birlikte Giemsa boyası spor duvarını boyamadığı için tespit ve teşhis de çok önemli bir rol oynar.

Enfeksiyon tespit edilen preparatların boyama işlemi sırasıyla şu aşamalardan geçirilerek yapılmıştır: öncelikle preparat oda sıcaklığında kurutulmuş, %100'lük metil alkolde 3 dakika bekletilerek olası kontaminasyon engellenmiş, tekrar oda sıcaklığında kurutulup saf suyla hazırlanan % 5'lik Giemsa boyasında 16 saat boyamaya bırakılmıştır.

Boyanan preparat steril suyla yıkanıp kurutulmuş ve incelemeye hazır hale getirilmiştir. İmmersiyon yağı ile birlikte 100x'lik büyütmede incelenmiştir (Toguebaya vd., 1988; Undeen ve Vavra, 1997).

### 2.2.2. Elektron Mikroskobu Çalışmaları

Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) çalışmaları, incelenmesi istenen yapıların morfoloji ve içyapılarının ayrıntılı bir şekilde açığa çıkarılması bakımından çok önemlidir. Bu tez çalışmaları sırasında tespit edilen mikrosporun, *N. leptinotarsae* olduğunun kanıtlanmasında elektron mikroskobunun katkısı büyüktür. Patates böceklerinden izole edilen *N. leptinotarsae*'nin detaylı yapısı Almanya, Berlin Üniversitesi Laboratuvarı'nda Philips JM 208 elektron mikroskobunda incelenmiş ve fotoğraflanmıştır.

#### 2.2.2.1. Resine Gömme İşlemi ve Elektron Mikroskobu Çalışması

Işık mikroskobu altında enfeksiyon olduğu tespit edilen preparattaki dokular dikkatlice alınarak birtakım işlemde geçirilmiş ve Resine gömülmüştür. Böylece dokular elektron mikroskobunda incelenmek için hazır hale getirilmiştir.

Yukarıda bahsedilen aşamalar şunlardır: ayrılan doku materyali pH 7,2'de 0,1M kakodilat tamponu ile seyreltilen % 2,5'lik glutaraldehit içinde iki saat boyunca fiske edilmiş, pH 7,2'de 0,1 M cacodylate tamponu içerisinde üç kez 10'ar dakika yıkanmıştır. Daha sonra  $O_5O_4$  ile 2 saat süreyle muamele edilmiş, yeniden pH 7,2'de 0,1 M cacodylate tamponu içerisinde üç kez 10'ar dakika yıkanmıştır.

Numuneler sırasıyla % 30'luk, % 50'lik ve % 70'lik etanolla 15'er dakika, % 90'lık, % 96'lık ve % 100'lük etanol ile 10'ar dakika üçer kez muamele edilip dehidrasyona uğratılmıştır. Daha sonra 1:1 oranında hazırlanan ERL: etanol karışımı ile 1 saat, 3:1 oranında hazırlanan ERL: etanol karışımı ile 4 saat muamele edilen numuneye Epoxy resin emdirilmiştir. Saf ERL içerisinde bir gece boyu bekletilmiştir. Taze saf ERL ile beam tüplerine aktarılmış ve ortalama 48 saat 70°C'de etüv içerisinde sertleşmeye bırakılmıştır. Resinlerden ultra mikrotom kullanılarak kesitler alınmış, bu kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanmıştır (Radek ve Fabel, 2000).



### 2.2.3 *Leptinotarsa decemlineata*'ya Uygulanan Mikrospor Biyoassay Deneyleri

Patates böceğine *Nosema leptinotarsae*'nin hangi yolla enfekte olduğu ve bugüne kadar yeterince aydınlatılmamış olan, enfeksiyonun gerçekleştiği dokuların hangileri olduğu gerçekleştirilen iki biyoassay deneyi ile ortaya konmuştur.

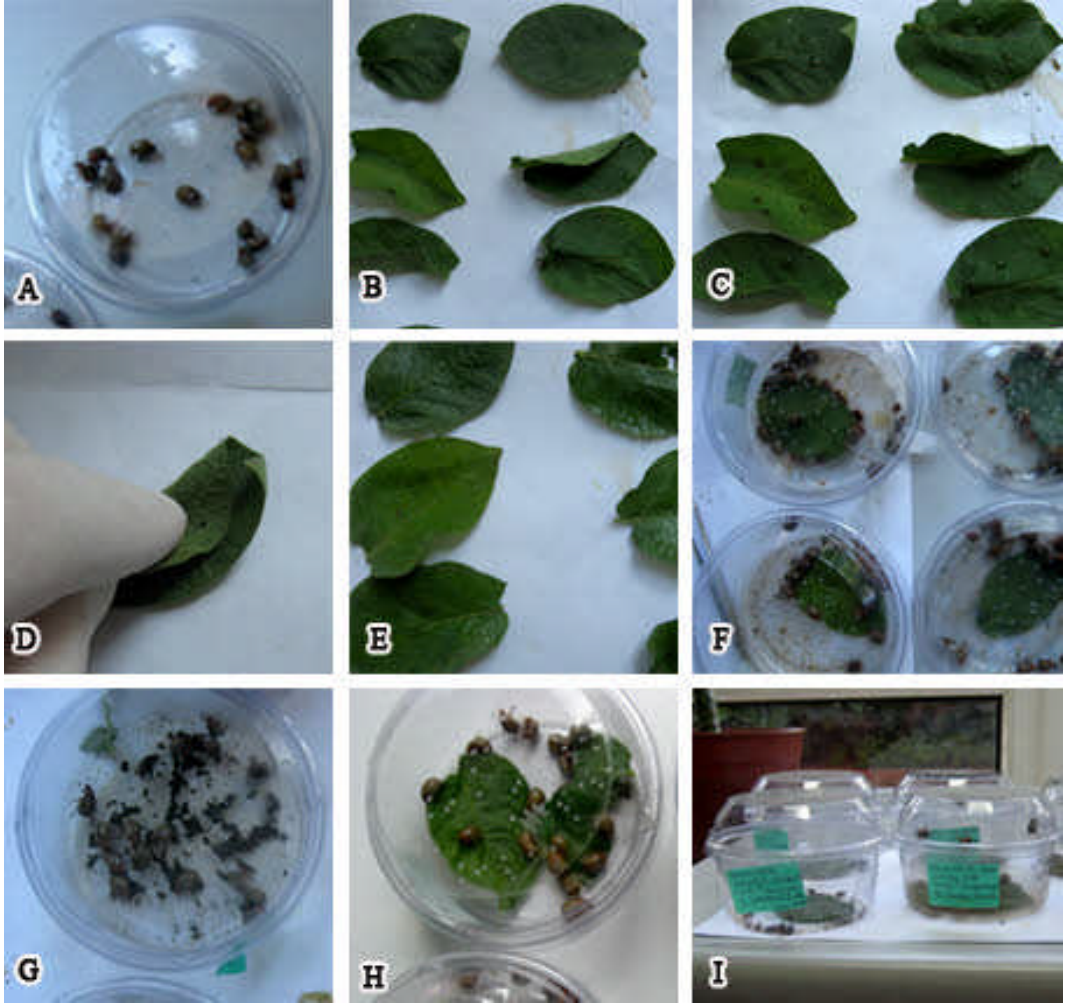
Araziden toplanıp laboratuara getirilen ergin bireylerden, sağlıklı görünen ve hareketli olanlar ayrılmıştır. Her iki deneyde 3'er deney grubu ile 1'er kontrol grubu hazırlanmıştır. İlk deney için her gruba 20'şer birey, ikinci deneyde kontrol grubu ve birinci deney grubuna 20, ikinci ve üçüncü deney grubuna 15'er birey yerleştirilmiştir. Başarılı bir deney uygulaması gerçekleştirmek için deney grubundaki tüm ergin bireyler bir gün süreyle aç bırakılmıştır (Şekil 3 A).

Arazi diseksiyonları sonucu izole edilen ve saflaştırılan mikropsor numuneleri eşit boyutlardaki patates yapraklarına damlatılmış, yaprak yüzeyine dağıtılmış ve kurumaya bırakılmıştır (Şekil 3 B, C, D ve E). Daha sonra kontrol grubu haricindeki deney gruplarına bu yapraklar verilmiştir (Şekil 3 F). Kontrol grubundaki bireyler temiz ve enfeksiyon bulunmayan yapraklarla beslenmiştir. Sonraki günlerde besinlerini tüketen tüm grupların buldukları kaplar yenilenmiş ve bireyler temiz ve süspansiyon bulunmayan patates yapraklarıyla günlük olarak beslenmiştir (Şekil 3 G, H ve I).

21 günlük deney süresince tüm gruplar, 24°C sıcaklık ve % 60 oranındaki neme ayarlanmış iklim dolabında bulundurulmuşlardır.

Deney esnasında ölen larvalar hemen alınıp diseksiyonları yapılarak mikroskop altında incelenmiş ve ölüm oranı günlük olarak kaydedilerek, deney sonunda oranlar aşağıda belirtilen Abbott (1925) formülü ile hesaplanmıştır.

Abbott formülü :  $100 \times (\text{Test grubundaki ölüm yüzdesi} - \text{Kontrol grubundaki ölüm yüzdesi}) / (\%100 - \text{Kontrol grubundaki ölüm yüzdesi})$



Şekil 3. *Leptinotarsa decemlineata* erginlerine uygulanan mikrospor biyoassay deneyi. A: Bir gün boyunca aç bırakılan erginler, B: Temizlenmiş patates yaprakları, C: Mikrospor süspansiyonu damlatılmış yapraklar, D: Süspansiyonun yaprak yüzeyine dağıtılması, E: Uygulanan süspansiyonun kurutulması, F: Süspansiyonlu yaprakların erginlere verilmesi, G: Mikrospor süspansiyonlu yaprakları tüketen erginler, H: Ergin bireylerin temizlenmiş, taze yapraklarla beslenmesi, I: Deney gruplarının genel görünüşü. (Fotoğraflar: Nejla ÖZCAN)

### 3. BULGULAR

Patates bitkisinin en önemli zararlılarından biri olan Coleoptera takımına ait, patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata*) ile mücadelede kullanmak amacıyla zararının doğal düşmanı olan mikrosporidium patojeninin varlığı araştırılmıştır. Bu amaçla yapılan arazi çalışmalarında böceğin ergin ve larvaları Trabzon: Akçaabat, Pelitli, Yeşiltepe ve Yomra ilçelerinden Mayıs ve Temmuz ayları arasında periyodik olarak toplanmıştır. Tüm lokalitelerden toplanan patates böceği ergin ve larvalarında mikrospor enfeksiyonuna rastlanmıştır. Tez süresince bu patojenin patates böceğindeki varlığı, dağılımı ve biyoassay deney çalışmaları yapılmıştır. Tespit edilen mikrosporidium patojeni ilgili ayrıntılı bilgi aşağıda verilmektedir.

#### 3.1. *Leptinotarsa decemlineata*'da Mikrospor Enfeksiyonunun Belirlenmesi

Bu yüksek lisans tezinde Türkiye tarım alanlarında üretilen patates bitkisinde büyük zarara neden olan patates böceği *L. decemlineata*'da enfeksiyon yapan patojenlerin varlığı çalışılmıştır. Uzun yıllar önce bahsi geçen zararlıda, mikrosporidium patojeni Lipa (1968) tarafından tespit edilmiş ve o günden bu yana bu patojenle ilgili herhangi bir kayda rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmalar sırasında özellikle mikrosporidium patojeni varlığı üzerinde titizlikle durulmuştur. Tespit edilen mikrosporidium patojeni için ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu çalışmaları gerçekleştirilmiştir ve *L. decemlineata* popülasyonundaki dağılımı çalışılmıştır.

##### 3.1.1. Mikrospor Enfeksiyonunun Makroskobik Görünümü

Mikrospor enfeksiyonunun konağı üzerinde makroskobik olarak gözlenebilen birkaç semptom mevcuttur. Bu belirtiler arasında aşırı genişlemiş vücut kısımları, deride renk değişimi, hareket yeteneğinde azalma, iştahsızlık, kütikül üzerinde belirgin leke benzeri renklenmeler ve larvaların instar değişimindeki anormallikler sayılabilir. Ayrıca dişi böceklerin yumurtlama veriminde azalmanın gerçekleştiği de bilinmektedir (Joudrey ve Bjørnson, 2007). Çalışmalar sırasında biyoassay deneylerinde, enfekte olmuş böceklerin beslenmelerinde iştahsızlık gözlenmiştir. Ayrıca örneklerin diseksiyonu sırasında, böceklerin hemolenfinin preparat üzerinde mat beyaz renk bıraktığı tespit edilmiştir.

Mikrospor enfeksiyonunun preparat üzerinde konakçı hemolenfini mat süt beyazı bir renge dönüştürdüğü bilinmektedir. Her ne kadar şüphelenilen enfeksiyonun belirlenmesinde makroskopik bulgular önemli olsa da, kesin yargıya varabilmek için mikroskopik düzeydeki bulguların önemi büyüktür.

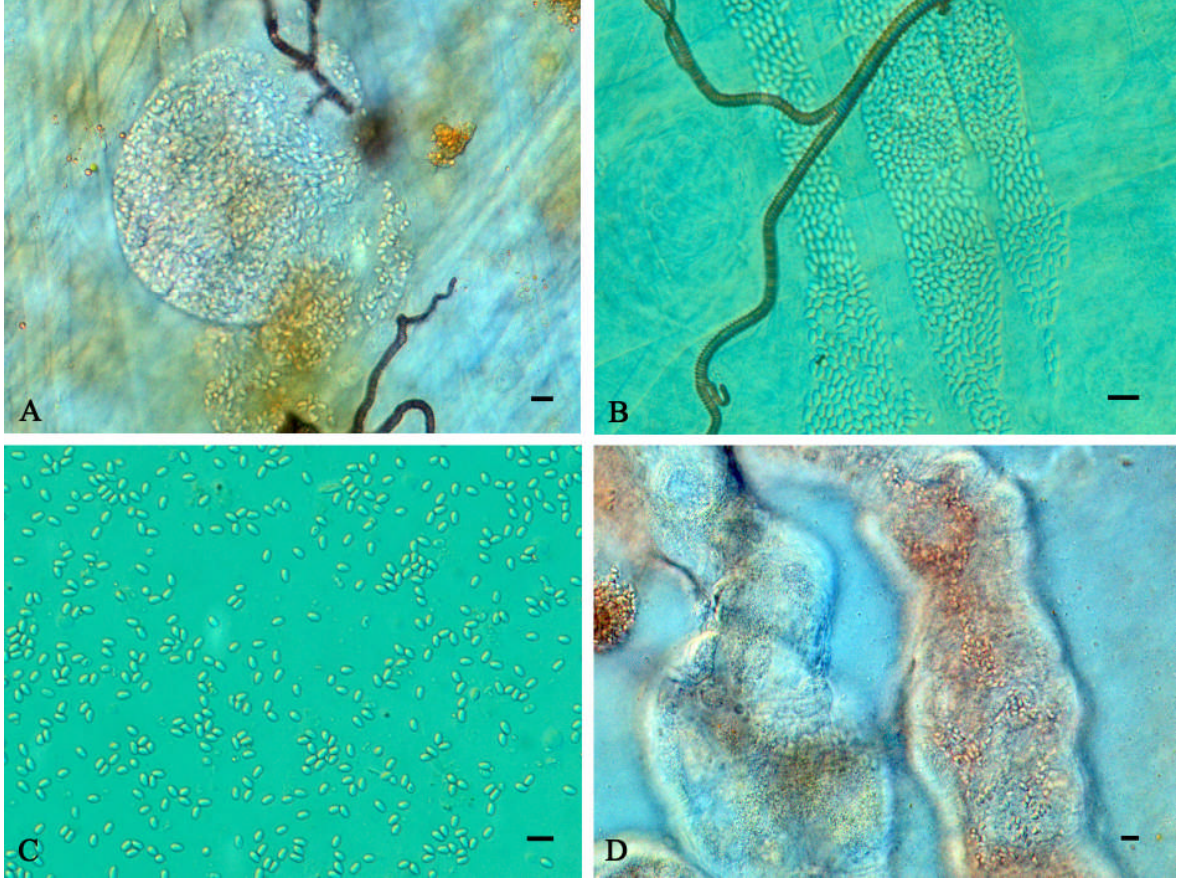
### **3.1.2. Mikrospor Enfeksiyonunun Mikroskopik Olarak Belirlenmesi**

Bu tez çalışmasında, tespit edilen mikrospor patojeninin mikroskopik olarak incelemeleri: ışık mikroskobu çalışmaları ile direkt olarak dokunun incelenmesi, enfeksiyon belirtisi gösteren numunelerin Giemsa boyama teknikleri ile incelenmesi ve tespit edilen enfeksiyonun elektron mikroskobu (TEM) incelenmesi şeklinde gerçekleştirilmiştir. Tespit edilen mikrospor patojeni, önce ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Taze preparatlardaki mikrospor patojeninin karakteristik hayat safhası olan ve ışığı farklı açıdan kıran sporlar incelenmiştir. Daha sonra entomopatojenlerin detaylı bir şekilde ele alınmasında yaygın olarak kullanılan Giemsa boyama tekniği ile spor yapıları tekrar incelenmiş ve mikrospor varlığı teyit edilmiştir. TEM çalışmaları ile mikrospor patojeninin ultrastrüktürel yapısı ortaya çıkarılmış ve karakteristik özelliklerinin belirlenmesi açısından detaylı olarak irdelenmiştir. Bu çalışmalar sayesinde tür tespiti sağlanmıştır.

#### **3.1.2.1 Işık Mikroskobu Çalışmaları ile Mikrospor Enfeksiyonunun Belirlenmesi**

Işık mikroskobu çalışmalarında incelenmek üzere diseksiyonu yapılan örneklerde mikrospor patojenine ait önemli hayat safhaları dikkatli şekilde tespit edilmeye çalışılmıştır. Doğrudan taze dokuların incelenmesi sırasında, mikrospor enfeksiyonunun bulunduğu dokulardaki morfolojik farklılıklar, normal dokular ile karşılaştırılarak enfeksiyon varlığı saptanmıştır. Taze preparatlarda konağın dokularında gerçekleşen tahribat gözlemlenmiştir. Işık mikroskobu çalışmaları sonucunda mikrospor enfeksiyonunun böceğin bağırsak dokusunda, malpigi tüplerinde ve hemolenfinde enfeksiyon yaptığı belirlenmiştir (Şekil 4). Özel kamera ve resim sistemlerine sahip mikroskop kullanılarak, daha önce ışık mikroskobunda tespit edilen mikrosporların enfekte ettiği dokular fotoğraflanmış ve sporlarının ölçümü yapılmıştır.

Mikrospor patojenin karakteristik özelliklerini taşıyan sporlar ışığı farklı şekilde kırmaları, aynı boyut ve şekle sahip olmaları konakçının diğer dokularından ayırt edilmektedir. Taze praperatlarda ışık mikroskobu ile tespit edilen patojenin sporları  $4,54 \pm 0,5$  (n= 4809)  $\mu\text{m} \times 2,46 \pm 0,3$  (n=4878)  $\mu\text{m}$  ölçüsündedir.



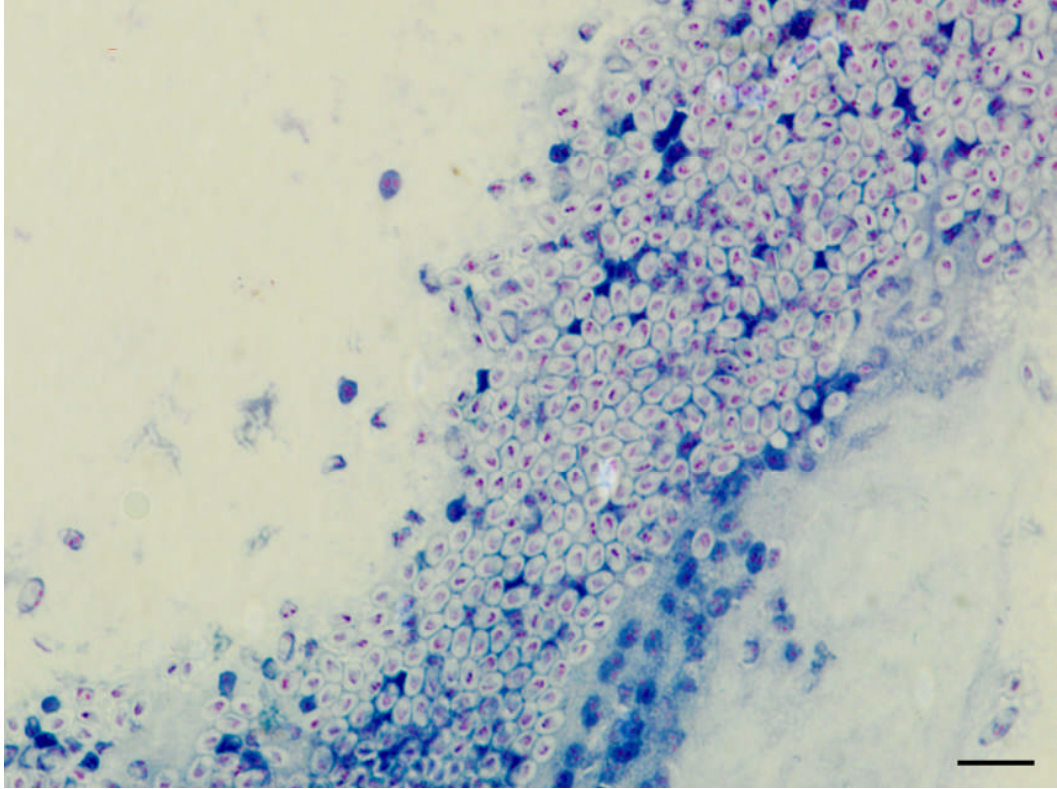
Şekil 4. Mikrospor patojenin *L. decemlineata* dokularındaki yaptığı enfeksiyon. Işık mikroskobu görünümü A, B: Bağırsak epiteli; C: Hemolenf; D: Malpigi tüpleri (Bar: 10  $\mu\text{m}$ ).

Böceklerde enfeksiyona neden olan entomopatojenler ışık mikroskobu altında morfolojik olarak birbirlerine benzemektedir. Çeşitli patojen türleri farklı özellikteki yapılarının varlığı ile karakterize edilebilmektedir. Özellikle birçok mantar türü morfolojik yapıları ile mikrospor patojenin karakteristik spor safhasına benzerlik göstermektedir. Işık mikroskobu çalışmalarında patojenlerinin neden olabileceği karışıklığı gidermek ve mikrospor patojenini diğer dokulardan ve patojenlerden ayırt edebilmek için çeşitli boyama teknikleri kullanılmaktadır. Entomopatojenlerin tespitinde yaygın olarak kullanılan Giemsa boyası ile preparatlar boyanarak mikrospor patojenin karakteristik safhası olan sporlar ile

hayat döngüsündeki diğer meront, sporont ve sporoblast gibi karakteristik öneme sahip safhalar boyanarak tespit edildi (Şekil 5, 6, 7, 8). Giemsa boyama metodu ile enfeksiyon kapmış böcek dokularında mikrospor enfeksiyonu teyit edilmiştir.

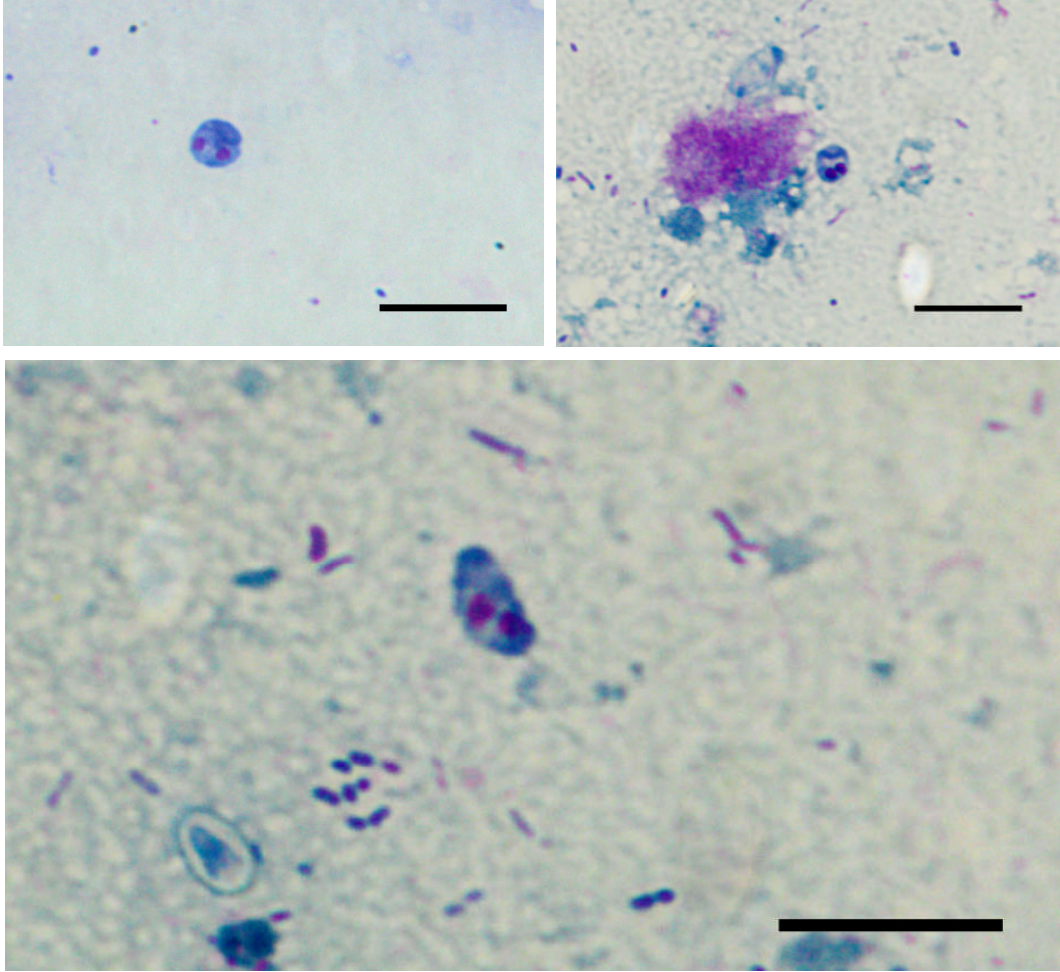
Giemsa ile boyanan numunelerde çift çekirdekli sporlar, kalın spor duvarları nedeni ile renksiz veya oldukça açık renkte, sporun posterior kutbu, farklı bir renkte, tanecikler şeklinde göze çarpan Golgi aygıtının kalıntıları da koyu mavi renkte boyanmıştır. Hayat safhasının diğer önemli safhalarında sitoplazmanın belirgin mavi renkte, çekirdeklerin koyu mor renkte boyandığı gözlenmiştir.

Mikrospor patojeninin tanımlanmasında karakteristik safhası spor safhasıdır. Sporlar oval şekillidir (Şekil 5). Giemsa ile boyama işleminden sonra mikrospor patojenine ait sporlar tekrar ölçüldü, ölçümler sonrasında sporların boyu  $3,80 \pm 0,4$  (n=535)  $\mu\text{m}$ , eni ise  $2,18 \pm 0,2$  (n=586)  $\mu\text{m}$ 'dir.



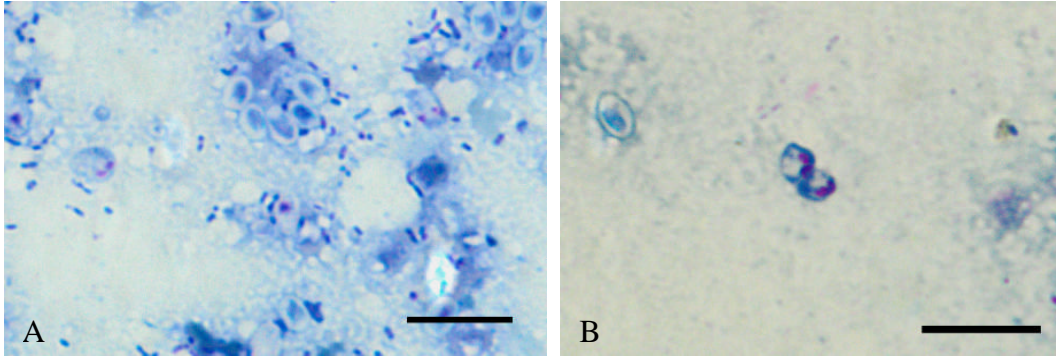
Şekil 5. Giemsa boyalı *Nosema leptinotarsae*'nin hayat döngüsü, spor safhası (Bar:10  $\mu\text{m}$ ).

Tespit edilen mikrospor patojenine ait ilk hayat safhası meront safhasıdır. Giemsa ile boyanan numunelerde bulunan merontların sitoplazması kısmen mavi renkte, nukleuslar ise belirgin mor renkte boyanmıştır. Tek bir diplokaryona sahip merontlar küresel veya oval şekillidir (Şekil 6). Küre şeklindeki merontlar  $4,08 \times 4,28 \mu\text{m}$ , oval şekle sahip merontlar ise  $2,82 \times 5,79 \mu\text{m}$  olarak ölçülmüştür.



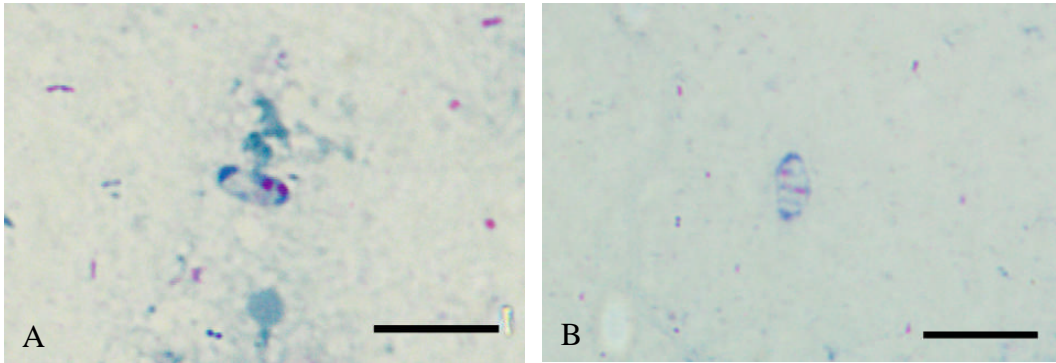
Şekil 6. Giemsa boyalı *Nosema leptinotarsae*'nin hayat döngüsü, meront safhası (Bar:  $10 \mu\text{m}$ ).

Mikrospor patojeninin merontları birçok bölünme geçirerek sporontları meydana getirir. Giemsa ile boyanan sporontların sitoplazmaları, merontlara oranla daha açık mavi renkte, nukleusları ise mor renkte boyanmıştır. Sporontlar küresel şekilden uzamış şekle değişen yapıdadır (Şekil 7 A). Boyalı numunelerde gözlemlenen sporontlar 3,48 – 4,68  $\mu\text{m}$  arasında değişen ölçülere sahiptir. Diplokaryotik sporlar sporoblastları oluşturmak için tek bir bölünme geçirirler (Şekil 7 B).



Şekil 7. Giemsa boyalı *Nosema leptinotarsae*'nin hayat döngüsü sporont safhası, A: sporont; B: bölünmekte olan sporont (Bar: 10  $\mu\text{m}$ ).

Olgun sporları oluşturacak olan sporoblast safhası, mikrosporun hayat döngüsünün son vejetatif safhasıdır. Giemsa ile boyandıktan sonra sporoblastların sitoplazmaları çok açık mavi, nukleusları açık mor renkte gözlemlenmiştir. Tespit edilen sporoblastlar uzamış şekildedir. Giemsa boyalı numunelerde sporoblastlar 2,9 x 6,23  $\mu\text{m}$  boyutlarında ölçülmüşlerdir (Şekil 8).



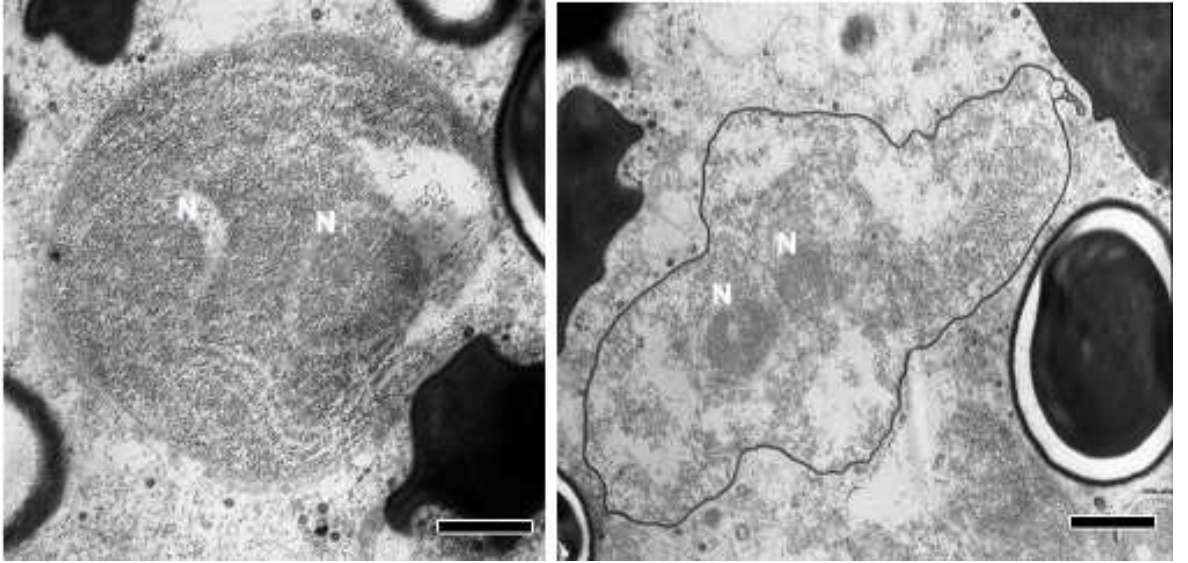
Şekil 8. Giemsa boyalı *Nosema leptinotarsae*'nin hayat döngüsü sporoblast safhası A, B: sporoblast (Bar: 10  $\mu\text{m}$ ).



### 3.1.2.2 Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile Mikrospor Patojeninin İncelenmesi

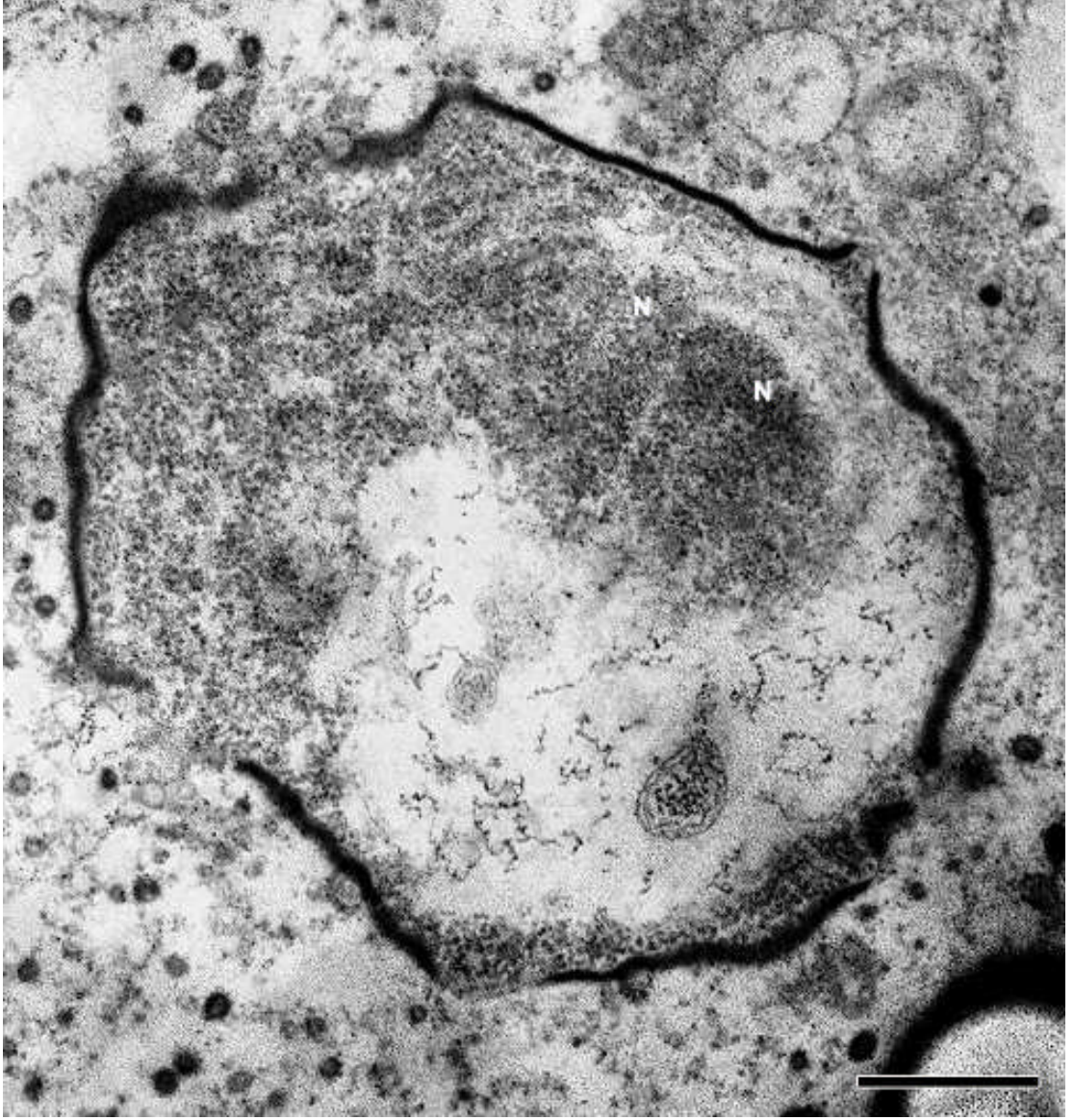
Yukarıda bahsedildiği gibi *L. decemlineata* böceğinde hastalık oluşturan patojenin ışık ve giemsa boyalı incelemeleri sonrası patojenin mikrospor olduğu tespit edilmiştir. TEM çalışmaları sayesinde tespit edilen patojenin diğer patojenlerden ayırt edilmesi gerçekleşmiş ve tür seviyesinde tespiti yapılmıştır. Önemli hayat safhaları olan meront, sporont, sporoblast ve spor safhaları gözlemlenmiş ve fotoğraflanmıştır. Tem çalışmaların sonucunda bu tez çalışmasında *L. decemlineata* böceğinde hastalık oluşturan mikrospor patojeninin *Nosema* cinsine ait olan *Nosema leptinotarsae* olduğu teyit edilmiştir. TEM incelemelerinde önemli bir karakteristik bulgu olarak sporların konak hücrenin sitoplazmasıyla doğrudan bağlantılı olduğu teyit edilmiştir (Şekil 13-16).

*L. decemlineata* böceğinde enfeksiyon yapan *Nosema leptinotarsae*'nin hayat döngüsündeki ilk safha meront safhasıdır. Giemsa boyalı numunelerde tespit edildiği gibi merontlar oval şekildedir (Şekil 9).



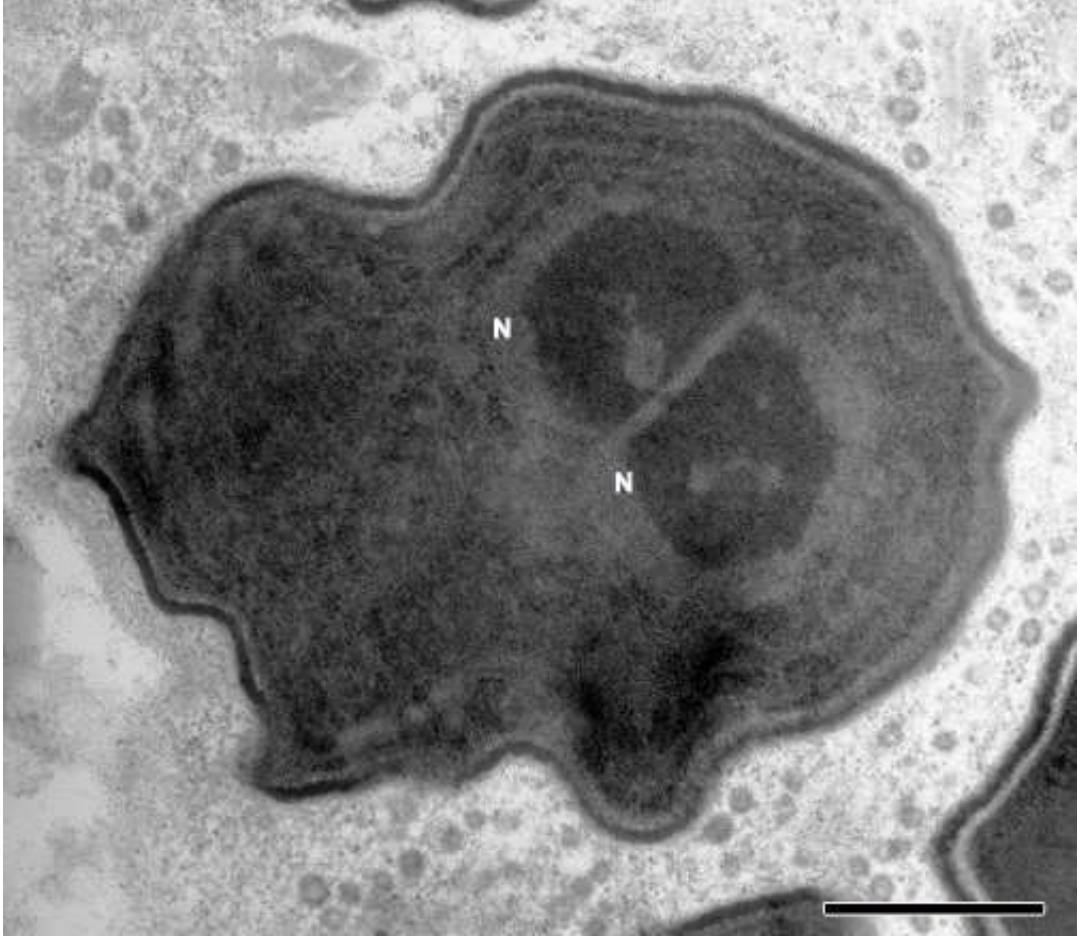
Şekil 9. *Nosema leptinotarsae*'nin meront safhasının TEM'deki görünümü.  
N: nukleus (Bar: 10 µm)

Meront safhasını sporont safhası takip eder. Küre biçiminden uzun şekle kadar değişkenlik gösteren sporontlar, her safhada olduğu gibi diplokaryondur (Şekil 10).



Şekil 10. *Nosema leptinotarsae*'nin sporont safhasının TEM'deki görüntüsü.  
N: nukleus (Bar: 10 µm)

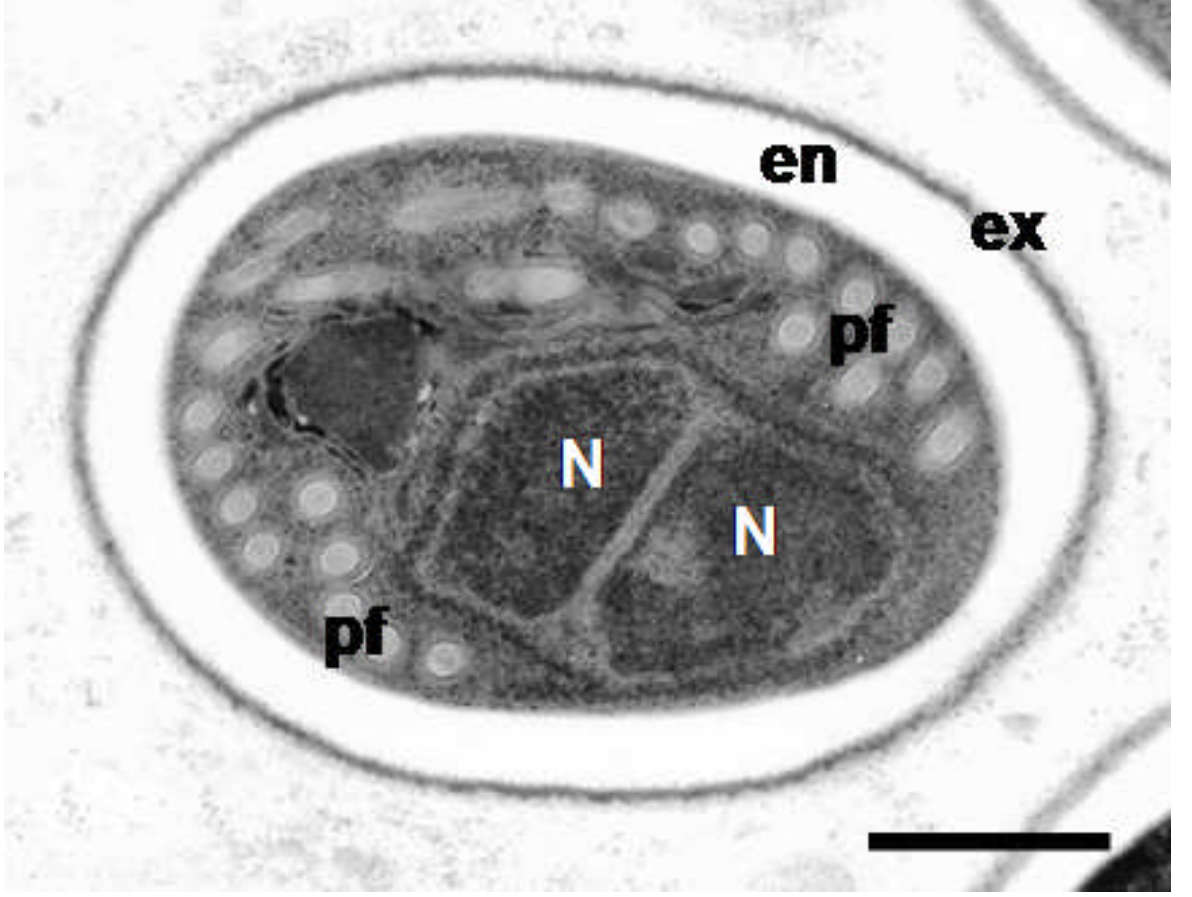
Diplokaryotik sporontlar bölünerek olgun sporları oluşturacak olan sporoblastları meydana getirir.



Şekil 11. *Nosema leptinotarsae*'nin sporoblast safhasının TEM'deki görüntüsü.  
N: nukleus (Bar: 10  $\mu$ m)

Sporoblast safhasından sonra sporlar oluşur. Oval şekle sahip olan sporlar çift çekirdekli (Şekil 12-14). Spor duvarı kalın ve 180-250 nm ölçüsündedir. Spor duvarı belirgin bir endospora (130-170 nm) ve elektronca yoğun bir ekzospora (50-80 nm) sahiptir. Ekzospor homojendir (Şekil 15-16). Polar filament izofilardır ve 15-16 polar filament halkasına sahiptir (Şekil 13-15) ve eşmerkezli 4 tabakayla çevrelenmiş merkezi bir çekirdek bulunur (Şekil 15). Polar filamentin son kısımlarındaki bazı halkalar olgunlaşmamıştır ve bu yüzden küçük görünürler (Şekil 13-14). Olgun halkaların çapı 125-160 nm olarak ölçülmüştür. Endoplazmik retikulumun düzenli iplikçikleri diplokaryonun

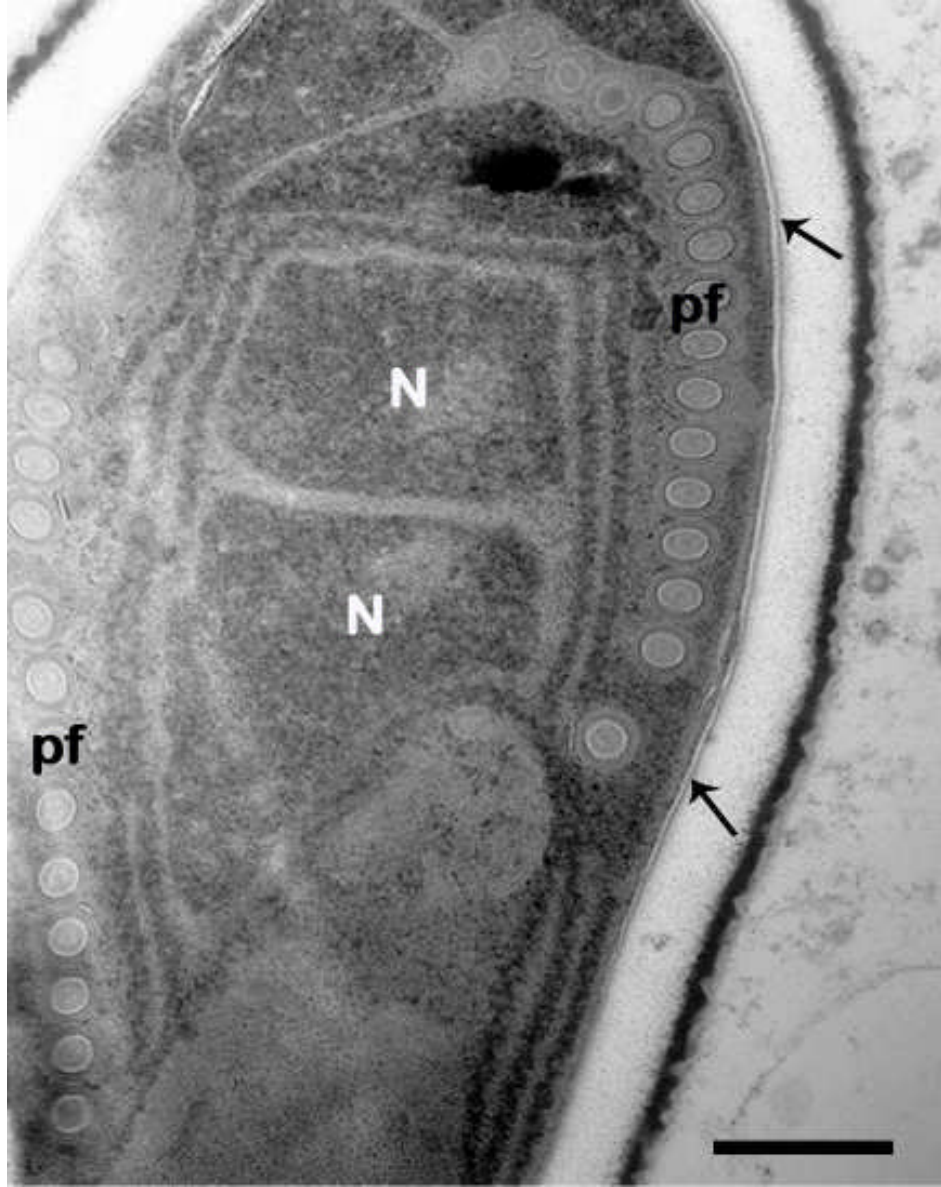
her iki tarafına dizilmiştir (Şekil 14-15). İyi gelişmiş polaroplast ince tabakalara sahip bir doku barındırır (Şekil 13,16).



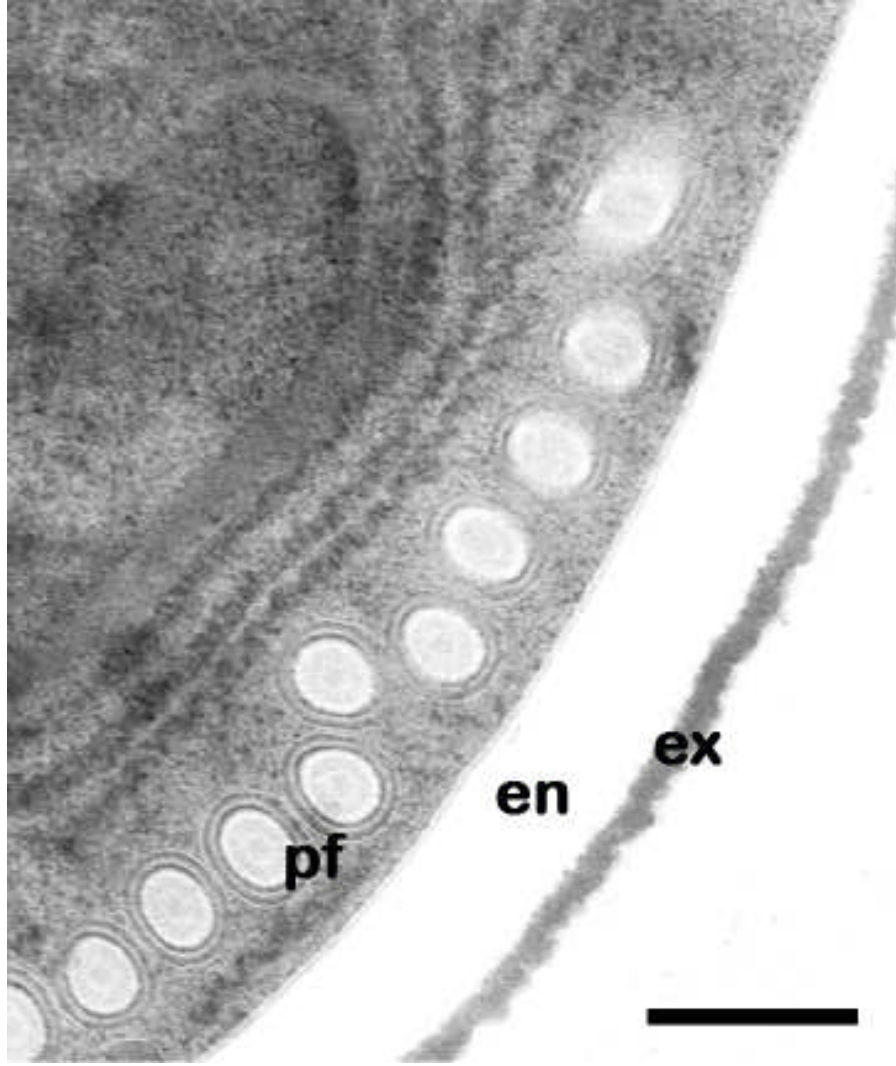
Şekil 12. *Nosema leptinotarsae*'nin çift çekirdekli spor safhasının TEM'deki görüntüsü. N: nukleus, pf: polar filament, en: endospor, ex: ekzospor, (Bar: 10  $\mu$ m)



Şekil 13. *Nosema leptinotarsae*'nın, çift çekirdekli, 15-16 polar filamentli spor safhasının TEM'deki görünümü. N: nukleus (Bar: 10  $\mu$ m).

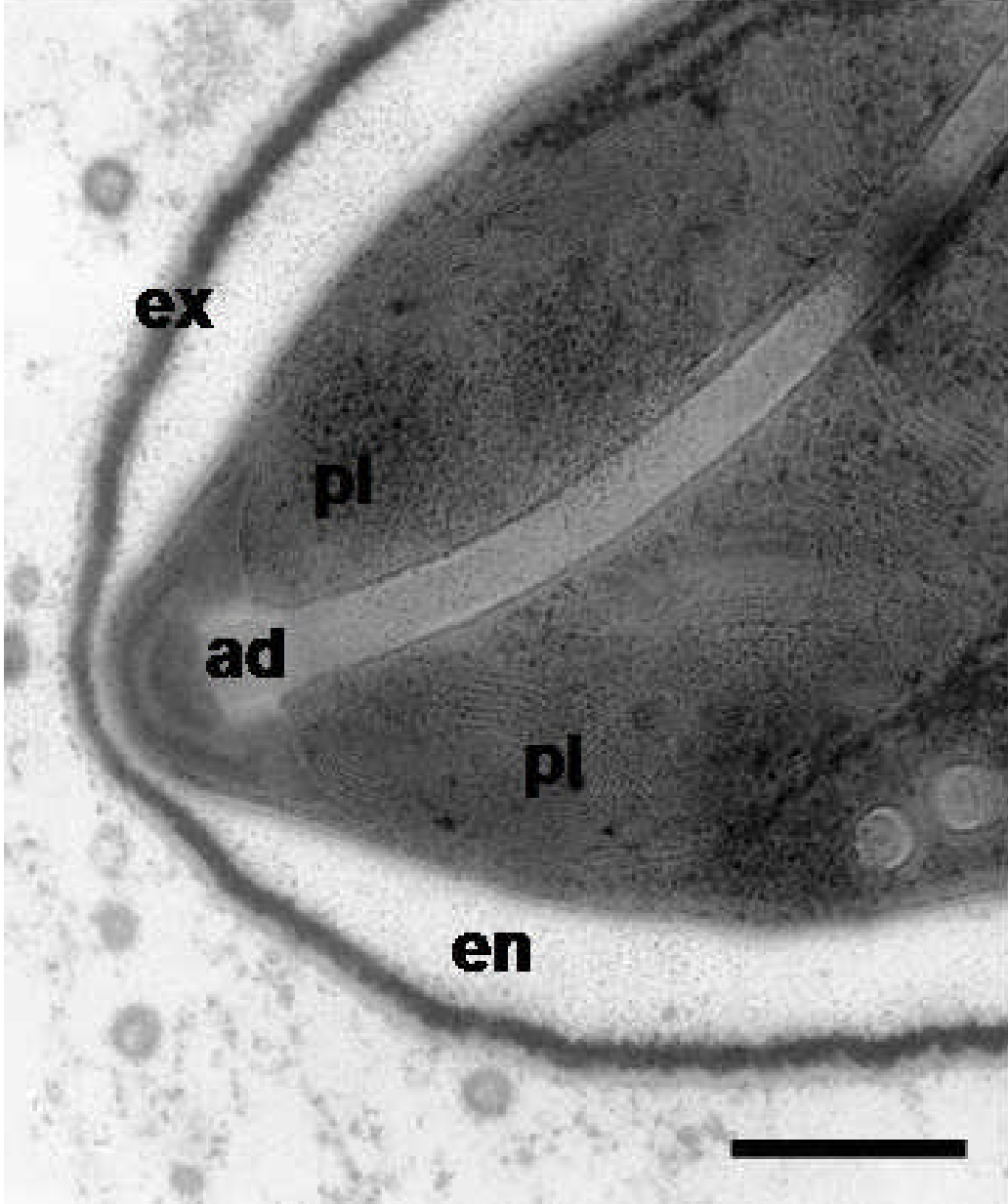


Şekil 14. *Nosema leptinotarsae* sporlarının polar filamentlerinin TEM'deki görünümü. pf: polar filament, N: nukleus (Bar: 10  $\mu$ m).



Şekil 15. *Nosema leptinotarsae*'nin polar filamentlerinin enine kesiti. pf: polar filament, en: endospor, ex: ekzospor (Bar: 10  $\mu$ m).

Polar filamentin Anchoring disk yapısı, elektron mikroskobu çalışmaları sayesinde net bir şekilde görüntülenmiştir (Şekil 16).



Şekil 16. *Nosema leptinotarsae*'nin Anchoring disk yapısının TEM'deki görüntüsü.  
ad: anchoring disk, en: endospor, ex: ekzospor, pl: polaroplast (Bar: 10 µm).



### 3.2. *Leptinotarsa decemlineata*'da Mikrospor Patojeninin Varlığı

Araziden elde edilen böcekler toplandıkları hafta içerisinde disekte edilmiş, ışık mikroskobu altında incelenmiş ve sonuçları düzenli bir şekilde kaydedilmiştir. Çalışmalar boyunca toplam 984 larva, disekte edilmiştir. Disekte edilen larvaların 24'ünde (% 2,43) mikrospor enfeksiyonu tespit edilmiştir. Arazi çalışmalarından elde edilen larvalardaki enfeksiyon oranı Akçaabat'ta % 1,61, Pelitli'de % 2,1, Yomra'da % 7,28'dir. Yeşiltepe'den toplanan larvalarda enfeksiyona rastlanmamıştır (Tablo 2).

Tablo 2. Araziden toplanan *L. decemlineata* larvalarındaki mikrospor enfeksiyonu.

Toplandığı Yer	Tarih	Disekte Edilen Larva Sayısı	Enfekte Olmuş Larva Sayısı	Mikrospor (%)
AKÇAABAT	30.05.09	26	-	-
	21.06.09	117	2	1,71
	30.06.09	52	-	-
	07.07.09	53	2	3,77
PELİTLİ	18.06.09	136	2	1,47
	29.06.09	70	3	4,28
	08.07.09	32	-	-
YEŞİLTEPE	27.05.09	82	-	-
	11.06.09	32	-	-
	21.06.09	117	-	-
	30.06.09	50	-	-
YOMRA	07.07.09	13	-	-
	30.05.09	21	10	47,6
	21.06.09	71	3	4,23
	30.06.09	66	2	3,03
	08.07.09	48	-	-
<b>TOPLAM</b>		<b>986</b>	<b>24</b>	<b>2,43</b>

Dört farklı lokalitedeki patates tarlalarından temin edilen toplam 768 ergin bireyin 33'ünde (% 4,30) mikrospor enfeksiyonu kaydedilmiştir. En yüksek enfeksiyon oranı % 10,33 ile Akçaabat arazisinin erginlerinde tespit edilmiştir. Bu oran Pelitli'de % 4,79, Yeşiltepe'de % 2,83, Yomra'da % 4,25'tir (Tablo 3).

Tablo 3. Araziden toplanan *L. decemlineata* erginlerindeki mikrospor enfeksiyonu.

Toplandığı Yer	Tarih	Disekte Edilen Ergin Sayısı	Enfekte Olmuş Ergin Sayısı	Mikrospor (%)
AKÇAABAT	11.05.09	4	-	-
	30.05.09	30	1	3,33
	21.06.09	94	2	2,13
	30.06.09	67	15	22,39
	07.07.09	76	10	13,15
PELİTLİ	18.06.09	3	1	33,33
	29.06.09	67	1	1,49
	08.07.09	76	5	6,57
YEŞİLTEPE	04.05.09	23	4	17,39
	08.05.09	31	1	3,23
	21.06.09	137	2	1,46
	30.06.09	72	-	-
	07.07.09	54	2	3,70
YOMRA	30.05.09	19	-	-
	01.06.09	4	-	-
	21.06.09	5	-	-
	30.06.09	19	2	10,53
<b>TOPLAM</b>		<b>768</b>	<b>33</b>	<b>4,30</b>

Mikrospor enfeksiyonunun dişi ve erkekte ne şekilde bir dağılım gösterdiğini belirlemek için toplanan erginlerin diseksiyon sırasında cinsiyet ayrımı yapılmıştır. Bu sayede doğal hastalık etmeni olan bu patojenin dişi-erkek ayrımı gözetip gözetmediği de araştırılmıştır. Araziden toplanan erginlerin 478'i dişi, 290'ı erkektir. Dişilerdeki enfeksiyon, % 5,57 iken erkek bireylerde bu oran % 5,69'dur. Bu sonuçlar mikrospor patojeninin cinsiyete bağlı olmadan enfeksiyon gerçekleştirdiğini ortaya koymaktadır (Tablo 4).

Tablo 4. Araziden toplanan *L. decemlineata*'nın enfekte olmuş dişi ve erkek bireyleri

Toplandığı Yer	Tarih	♂♂			♀♀		
		D	E	Y	D	E	Y
AKÇAABAT	11.05.09	2	-	-	6	-	-
	30.05.09	14	-	-	16	1	6,25
	21.06.09	69	2	2,90	25	-	-
	30.06.09	38	11	28,95	29	4	13,79
	07.07.09	32	6	18,75	44	4	9,09
PELİTLİ	18.06.09	2	1	50,00	1	-	-
	29.06.09	45	1	2,22	22	-	-
	08.07.09	48	1	2,08	28	4	14,28
YEŞİLTEPE	04.05.09	10	1	10,00	13	3	23,08
	08.05.09	22	1	4,55	9	-	-
	21.06.09	90	2	2,22	47	-	-
	30.06.09	37	-	-	35	-	-
	07.07.09	34	-	-	20	2	10,00
YOMRA	30.05.09	13	-	-	6	-	-
	01.06.09	4	-	-	-	-	-
	21.06.09	4	-	-	1	-	-
	30.06.09	15	2	13,33	4	-	-
	08.07.09	23	-	-	10	-	-
<b>TOPLAM</b>		<b>502</b>	<b>28</b>	<b>5,57</b>	<b>316</b>	<b>18</b>	<b>5,69</b>

D: Disekte edilen ergin sayısı, E: Enfekte olmuş ergin sayısı, Y: Enfeksiyon yüzdesi

Arazi çalışmaları sırasında elde edilen bir başka dikkat çekici bulgu da toplanan yumurtalardan elde edilen larva ve yine bu larvalardan gelişmiş pupalarda mikrospor enfeksiyonuna rastlanmış olmasıdır. 82 larvanın 7'sinde (% 8,5), 6 pupanın 1'inde (% 16,6) enfeksiyon kaydedilmiştir. Bu durum bu patojenin vertikal bulaşma yoluyla enfeksiyon yaptığı gözlenmiştir.

### 3.3. *Leptinotarsa decemlineata*'ya Uygulanan Mikrospor Biyoassay Deneyleri

Arazi çalışmaları süresince toplanan böceklerden izole edilen mikrospor patojeni *L. decemlineata* erginlerine uygulanmıştır. Yapılan bu biyoassay deneyleri ile uygulanan mikrospor patojeninin, patates böceğinde gerçekleştireceği enfeksiyonun zararlıyı ne şekilde etkileyeceği ve bu böceğin verdiği zararın patates bitkisinin tolere edebileceği orana çekilip çekilemeyeceği ortaya konmaya çalışılmıştır. Biyoassay deneylerinin sonuçlarına göre, birinci deney grubundaki 40 erginden 28'inde (% 58,6), ikinci deney grubundaki 35 erginin 29'unda (% 80,8), üçüncü deney grubundaki 35 erginin 25'inde (% 60,5) *Nosema leptinotarsae* patojenine rastlanmıştır. Toplamda 110 erginin 82'sinde (% 62,8) enfeksiyon gözlenmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. Mikrospor biyoassay deneylerinin sonucu

	<b>DİSEKTE OLAN</b>	<b>ENFEKTE OLAN</b>	<b>MİKROSPOR (%)</b>
1. GRUP	40	28	58,6
2. GRUP	35	29	80,8
3. GRUP	35	25	60,5
<b>TOPLAM</b>	<b>110</b>	<b>82</b>	<b>62,8</b>

Yürütülen deneyin sonuçları, Abbott (1925) formülü kullanarak da ele alınmıştır. Bu formüle göre mikrospor enfeksiyon oranı toplamda % 62,8 olarak belirlenmiştir.

#### 4. TARTIŞMA

Hazırlanan bu yüksek lisans tezinde önemli bir patates zararlısı olan Coleoptera takımına ait patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Col; Chrysomelidae)'nin bir mikrosporodiyum patojeninin karakterizasyonu, varlığı ve biyolojik mücadele potansiyeli ele alınmıştır. Yürütülen çalışmalar sonucunda Trabzon'un dört farklı lokalitesinden (Akçaabat, Pelitli, Yeşiltepe, Yomra) toplanan *L. decemlineata* ergin ve larvalarında mikrosporidiyum patojenine rastlanmıştır. Giemsa boyama ve elektron mikroskobu çalışmaları neticesinde, gerek hayat döngüsü gerekse ultrastrüktürel özellikleri dikkate alındığında bu mikrosporodiyum patojeninin *Nosema* cinsine ait, *Nosema leptinotarsae* (Lipa, 1968) olduğu belirlenmiştir. Kaydedilen patojen diplokaryotik safhaların varlığı, homojen ekzospor ve spor duvarı kalınlığı (Larsson, 1986, 1988, 1999) gibi *Nosema* cinsinin tipik özelliklerine sahiptir.

Birçok *Nosema* türünün ultrastrüktürel yapısı tanımlanmıştır (Sato vd., 1982, Avery ve Anthony, 1983, Toguebaye ve Marchand, 1984, Toguebaye ve Marchand, 1986, Toguebaye ve Bouix, 1989, Canning ve Vávra, 2000, Yaman ve Radek, 2003, Yaman vd., 2005a, b, Ovcharenko ve Wita, 2005, Yaman vd., 2008). Bu çalışmalar, *Nosema* cinsinin tanımlanmasında faydalı bilgiler sağlamaktadır. *Nosema* sporlarının ultrastrüktürel özellikleri Sato vd. (1982) ve Canning ve Vávra (2000) tarafından belirlenmiştir.

Bugüne kadar *L. decemlineata*'da kaydedilen tek mikrospor patojeni *Nosema leptinotarsae* Lipa 1968'dir. Şimdiye kadar *L. decemlineata*'dan bu önemli patojen ve herhangi bir diplokaryotik mikrospor türü kaydedilmemiştir. Sovyetler Birliği'nde Lipa (1968), ergin böceklerin hemositlerinde bu türü tespit etmiştir ve spor morfolojisini ışık mikroskobu çalışmaları ile tanımlamıştır. Ancak bu görsel materyaller ileriki çalışmalar açısından aydınlatıcı değildir (Brooks vd., 1988). Bu tez çalışması, Lipa (1968)'nin yayınından sonraki ilk kayıttır.

Yaman vd. (2008)'ye göre, şimdiye kadar Chrysomelidae sınıfından *Nosema* cinsine ait 11 tür kaydedilmiştir; bu türleri birbirinden ayıran özellikleri Tablo 6'da gösterilmiştir. Bu tez çalışmaları süresince tespit edilen mikrospor patojeni, *N. leptinotarsae*'ye spor ölçüsü ve enfekte ettiği konak türüyle benzerlik göstermekte ve diğer *Nosema* türlerinden ayrılmaktadır.

Tablo 6. Chrysomelidae (Coleoptera) Familyasında Kaydedilen *Nosema* Türleri

<b><i>Nosema</i> Türü</b>	<b>Spor Ölçüsü</b>	<b>Enfekte Ettiği Organ</b>	<b>Konak</b>	<b>Yer</b>
<i>Nosema phyllotretae</i> Weiser, 1961	4,2 x 2-3 µm	Yağ doku	<i>Phyllotreta atra</i> <i>Phyllotreta undulata</i>	İngiltere
<i>Nosema gastroideae</i> Hostounský ve Weiser, 1973	3-4,8 x 2,5-3 µm	Genel enfestasyon	<i>Gastrophysa polygona</i> ve birçok deneysel konak	Çekoslovakya
<i>Nosema polygrammae</i> Hostounský ve Weiser, 1975	4,8 x 2,05 µm	Bağırsak	<i>Polygramma undecimlineata</i>	Küba
<i>Nosema equestris</i> Hostounský ve Weiser, 1980	4-5 x 3 µm	Genel enfestasyon	<i>Gastrophysa viridula</i> <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	Çekoslovakya
<i>Nosema couilloudi</i> Toguebaye ve Marchand, 1984	3,4 -4 x 1-1,5 µm	Bağırsak	<i>Nisotra</i> sp.	Senegal
<i>Nosema birgii</i> Toguebaye ve Marchand, 1986	6.2 x 3,5 µm	Yumurta ve genel enfestasyon, larva ve imago	<i>Mesoplatys cincta</i>	Senegal
<i>Nosema nisotrae</i> Toguebaye ve Marchand, 1989	5,8 x 3,1 µm	Genel enfestasyon	<i>Nisotra</i> sp.	Senegal
<i>Nosema galerucellae</i> Toguebaye ve Bouix, 1989	4,95 x 2,89 µm	Özellikle bağırsak, yağ doku kaslar, trake ve Malpigi tüpleri	<i>Galerucella luteola</i>	Fransa
<i>Nosema chaetocnema</i> Yaman ve Radek, 2003	3,52 x 2,09 µm	Bağırsak, trake, kaslar ve Malpigi tüpleri	<i>Chaetocnema tibialis</i>	Samsun, Türkiye
<i>Nosema tokati</i> Yaman vd. 2008	3.82 x 1,3 µm	Malpigi tüpleri	<i>Chaetocnema tibialis</i>	Tokat, Türkiye
<i>Nosema leptinotarsae</i> Lipa, 1968	2-5 x 1,9-3,3 µm	Hemolenf	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	S.S.C.B
<i>Nosema leptinotarsae</i> Tez çalışması	4,69 x 2,43 µm	Genel enfestasyon	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	Trabzon, Türkiye

Son yıllarda yapılan çalışmalardaki Mikrospor cinslerini tanımlamadaki anahtar ultrastrüktürel özellikleri (özellikle sporların özellikleri) içermektedir (Larsson, 1986, 1988, 1999, Yaman ve Radek, 2003, Yaman vd., 2008, 2009). Spor, her zaman var olan ve değerlendirme açısından belirleyici özellikler sağlayan en önemli hayat safhasıdır (Larsson, 1999). Lipa tarafından ışık mikroskobu ile spor morfolojisi tanımlanan, Chrysomelidae familyasını enfekte eden diğer mikrosporlardan farklı ultrastrüktürel özelliklere sahip *N. leptinotarsae*'nin bulunup bulunmadığını anlamak için, sporlarının ultrastrüktür yapısı ortaya konmuştur ve Chrysomelidae (Coleoptera) familyasına ait patojenik *Nosema* türleri ile karşılaştırılmıştır.

Şimdiye kadar elektron mikroskobu kullanılarak Chrysomelidae (Coleoptera) familyasından 11 *Nosema* türünden 7'si çalışılmıştır; ayırt edici ultrastrüktürel özellikleri Tablo 7'de gösterilmiştir. Tablo 7'de görüldüğü gibi, *N. leptinotarsae* ultrastrüktürel özellikleri bakımından diğer tüm *Nosema* türlerinden ayrılmaktadır. Bununla birlikte polar halka sayısı da türlerin farklılığını ortaya koymak için yararlı bir taksonomik ölçüttür (Cheung ve Wang 1995). Tanımlanan patojenin polar halkalarının sayısı (15-16), dört Chrysomelid paraziti *Nosema galerucellae* (7-9 halka), *N. couilloudi* (8-10 halka), *N. birgii* (12-14 halka), *N. chaetocnema* (13 halka), *N. phyllotretae* (13-15 halka) ve *N. tokati* (8-10 halka)'nin halka sayısından farklıdır. *N. leptinotarsae*'nin polar halka sayısı (15-16) *N. nisotrae*'nin halka sayısı ile hemen hemen aynıdır, ancak *N. leptinotarsae*, polaroplast şekli, spor duvarı kalınlığı, spor ölçüsü, enfekte ettiği konak türü ve konak popülasyon lokalitesi bakımından *N. nisotrae*'den farklıdır (Tablo 7). Chrysomelidae familyasını enfekte eden tüm *Nosema* türleriyle karşılaştırıldığında *N. leptinotarsae* en kalın spor duvarına sahip olan türdür (180-250 nm). *N. leptinotarsae* polar filament bakımından da chrysomelidleri enfekte eden diğer mikrospor türlerinden farklılık gösterir. *N. leptinotarsae* en kalın polar filament de içermektedir (125-160 nm çapında). *N. chaetocnema* (Yaman ve Radek, 2003)'da polar filament çapı 115 nm, *N. phyllotretae* (Yaman vd., 2005)'da 120 nm, *N. tokati* (Yaman vd., 2008)'de 90-100 nm'dir.

Tablo 7. Chrysomelidae Familyasında Tanımlanan *Nosema* Türleri ve Morfolojik ve Ultrastrüktürel Özellikleri

<i>Nosema</i> Türü	Konak	Spor Ölçüleri ( $\mu\text{m}$ )	Ultrastrüktürel Özellikler			Referans
			Polaroplast	Spor duvarı (nm)	Polar filament	
<i>Nosema couilloudi</i>	<i>Nisotra</i> sp.	3,4~4 x 1~1,5	Lamellar	60	8~10 kıvrımlı	Toguebaye ve Marchand, 1984
<i>Nosema birgii</i>	<i>Mesoplatys cincta</i>	6,2 x 3,5	Lamellar ve veziküler	---	12~14 kıvrımlı	Toguebaye ve Marchand, 1986
<i>Nosema nisotrae</i>	<i>Nisotra</i> sp.	5,8 x 3,1	Tübüler	65~155	15~18 kıvrımlı	Toguebaye ve Marchand, 1989
<i>Nosema galerucellae</i>	<i>Galerucella luteola</i>	4,95 x 2,89	Lamellar	80~100	7~9 kıvrımlı	Toguebaye ve Bouix, 1989
<i>Nosema chaetocnema</i>	<i>Chaetocnema tibialis</i>	3,52 x 2,09	Nispeten veziküler	176.5~213	13 kıvrımlı	Yaman ve Radek, 2003
<i>Nosema phyllotretae</i>	<i>Phyllotreta atra</i>	4,08 x 2,53	Lamellar	110~175	13~15 kıvrımlı	Yaman vd., 2005
<i>Nosema tokati</i>	<i>Chaetocnema tibialis</i>	3,82 x 1,3	Lamellar	85~100	8~10 kıvrımlı	Yaman vd., 2008
<i>Nosema leptinotarsae</i>	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	4,69 x 2,43	Lamellar	180~250	15~16 kıvrımlı	Tez çalışması



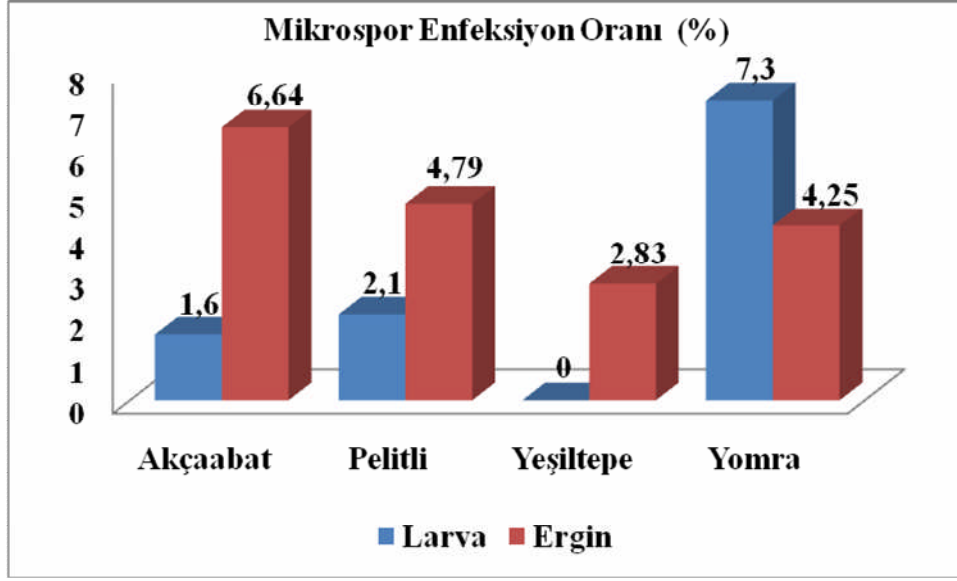
*N. leptinotarsae*'nin tanımlanması spor morfolojisine dayanmaktadır ve ultrastrüktürel detaylardan yoksundur (Lipa, 1968). Bununla birlikte daha önce spor morfolojisini esas alan ve ultrastrüktürel detayları açıklanmamış mikrosporidium tanımlamaları çoğu zaman yeni tür açısından gereksiz bir çalışma olarak sonuçlanmıştır (Malone ve McIvor, 1995).

Lipa mikrospor enfeksiyonunu yalnızca ışık mikroskobu ile tespit etmiştir. Tez çalışmaları esnasında gerek Giemsa boyama gerekse TEM çalışmaları ile sporun hayat safhaları aydınlatılmış ve ultrastrüktürel özellikleri belirlenmiştir. Bu sonuçlar, Lipa'nın 1968 yılında tanımlamış olduğu mikrosporu onaylamaktadır. Ortaya çıkarılan *N. leptinotarsae*'nin spor ultrastrüktürel yapısı, bu patojenin Chrysomelidae familyasına ait böceklerde tespit edilen diğer *Nosema* türleri ile karşılaştırılmasında faydalı olacaktır.

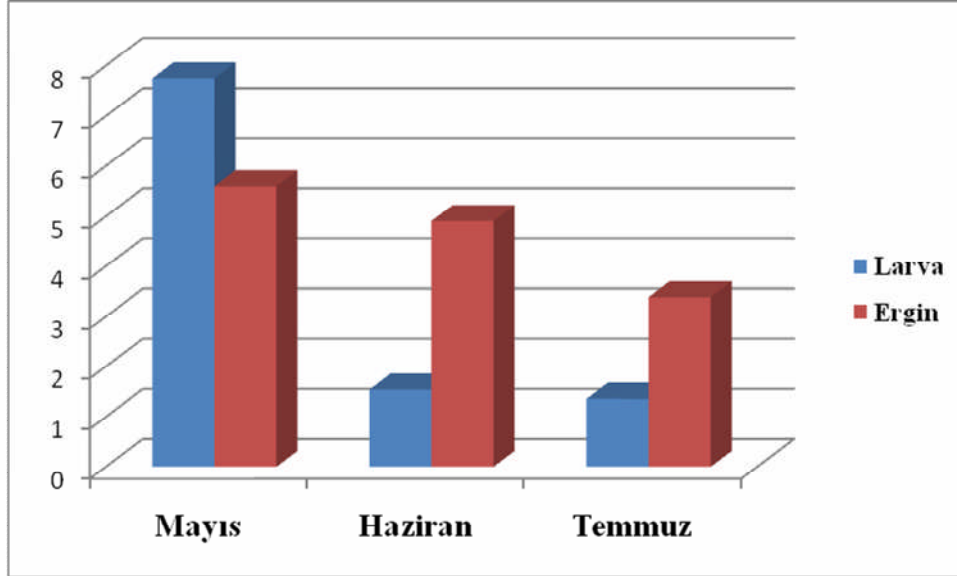
Lipa 1968 yılında yaptığı çalışmada *N. leptinotarsae* enfeksiyonunu böceğin hemositlerinde gözlemlemiştir. Tez çalışmalarının sonuçları, enfeksiyonun böceğin bağırsak dokusunda, hemolenfinde ve malpigi tüplerinde olduğunu göstermektedir. Bu sonuç, enfeksiyonun yalnız tek bir dokuda gerçekleşmediğini tüm dokulara yayıldığını ortaya koymaktadır.

Bu çalışmada kaydedilen toplam enfeksiyon oranı düşük görünmesine rağmen, enfeksiyon bazı bölgelerde % 30'un üzerine çıkmaktadır (Tablo 2, 3). Lipa (1968) *L.decemlineata* erginlerinde en fazla % 20 oranında enfeksiyon kaydetmiştir. Bu sonuçlar karşılaştırıldığında Türkiye'deki *N. leptinotarsae* enfeksiyonu önemli ölçüde yüksektir.

Arazi çalışmaları kapsamında mikrospor enfeksiyon oranı sonuçları bölgesel olarak ele alındığında en yüksek oranın Yomra'dan, en düşük oranınsa Yeşiltepe'den kaydedildiği görülmektedir (Şekil 17). Bununla birlikte enfeksiyon oranının en yüksek olduğu zaman Mayıs ayı iken, en düşük enfeksiyon oranı Temmuz ayına aittir (Şekil 18).



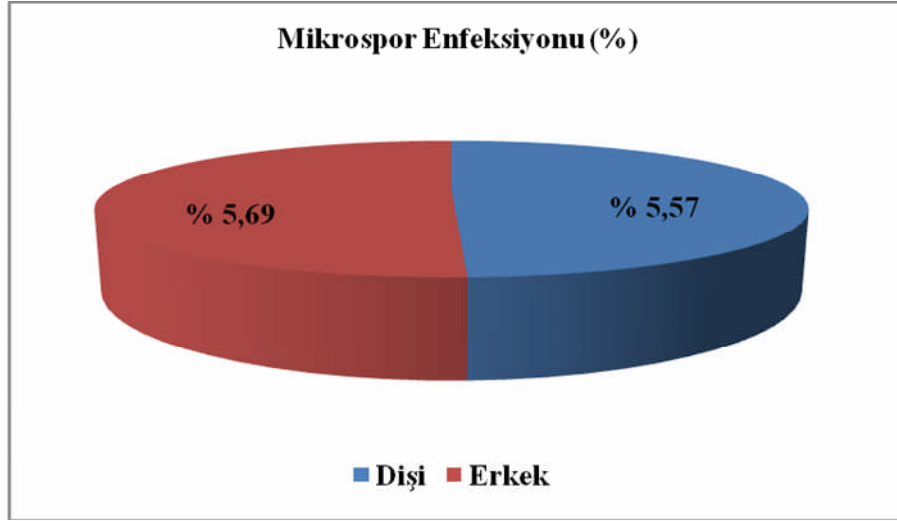
Şekil 17. Mikrospor enfeksiyon oranlarının bölgesel dağılımı



Şekil 18. Mikrospor enfeksiyon oranının aylara göre dağılımı

Hazırlanan bu yüksek lisans tezinin bir başka önemli sonucu, mikrospor enfeksiyon oranının *L. decemlineata* erkek ve dişilerinde önemli bir farklılığa sahip olmaması ve *N. leptinotarsae*'nin cinsiyet ayrımı yapmamasıdır (Şekil 19). Buna ilaveten tez çalışmaları süresince *N. leptinotarsae* patojeni, *L. decemlineata*'nın ergin ve larvalarında kaydedilmiştir. Lipa (1968), mikrospor enfeksiyonunu yalnızca ergin böceklerde gözlemlemiştir. Bu sonuç ışığında *L. decemlineata*'nın biyolojik mücadelesinin, zararlı

henüz larva safhasındayken başlatılabileceği ve *N. leptinotarsae*'nin, *L. decemlineata*'nın doğal ve etkili bir baskılayıcı faktörü olabileceği açıkça görülmektedir. Araziden elde edilen yumurtalardan çıkan larva ve yine bu larvalardan gelişen pupalarda da enfeksiyon tespit edilmesi, vertikal bulaşma sağlayarak zararlı ile mücadele yöntemi için kayda değer bir sonuçtur.



Şekil 19. *L. decemlineata*'daki mikrospor enfeksiyon oranının dişi ve erkek bireylerdeki dağılımı

Ferro vd. (1983), patates bitkisinin yapraklarında patates böceğinin neden olduğu zararın % 20'sinin tolere edilebildiğini ortaya koymuştur. Bu oran bitkinin fenolojik dönemine ve gelişimine bağlı olarak % 40'a kadar çıkmaktadır (URL-1). Kedici vd. (1998)'nin zararı tolere etmiş patates bitkisinin ürün verimliliğinde bir azalma olmadığına dair yaptıkları tespit, bu görüşü desteklemektedir. Gerek arazi diseksiyonları, gerekse biyoassay deneylerinin sonuçları, *N. leptinotarsae*'nin patates böceği popülasyonlarını azalttığını göstermektedir. Bu azalmaya bağlı olarak, böceğin zararına maruz kalan patates bitkisinin yukarıda belirtilen tolerasyon oranını sağlaması ve ürüne verilen zararın en aza indirgenmesi mümkün olacaktır (Tablo 2, 3).

## 5. SONUÇLAR

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

1. Coleoptera takımına ait olan patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Col: Chrysomelidae) ile biyolojik mücadelede kullanılmak üzere doğal hastalık etmeni mikrospor patojeninin varlığı araştırılmış ve 2009 yılının, Mayıs ve Temmuz ayları arasında, Trabzon'un dört farklı lokalitesinden (Akçaabat, Pelitli, Yeşiltepe, Yomra) toplanan ergin, larva ve yumurtalardan gelişen larva ve pupalarda bir mikrosporidium patojenine rastlanmıştır.
2. *L. decemlineata*'da tespit edilen mikrosporun morfolojik ve ultrastrüktürel özellikleri, ışık mikroskobu, Giemsa boyama ve elektron mikroskobu (TEM) çalışmaları ile belirlenmiş ve bu patojenin *Nosema* cinsine ait *Nosema leptinotarsae* olduğu saptanmıştır.
3. Giemsa boyama yöntemi ve elektron mikroskobu çalışmaları sonucunda elde edilen hayat döngüsü safhaları ve ultrastrüktürel yapı bulguları tespit edilen bu mikrospor patojeninin diğer *Nosema* türlerinden farklı olduğunu göstermiş ve daha önce Lipa (1968) tarafından tanımlanan *N. leptinotarsae* olduğu kanıtlanmıştır. Bu tez çalışması Lipa'dan sonra, patates böceğinde tespit edilen mikrospor patojeninin dünya ve Türkiye için ilk kayıdır.
4. Arazi çalışmalarından elde edilen ergin ve larvaların diseksiyonu sonucunda % 30'a varan mikrospor enfeksiyon oranı, biyoassay deneylerinin sonucunda % 60'a çıkmıştır.
5. Mikrospor patojeninin konak spesifitesinin yüksek olması, doğal hastalık oluşturup çevreye ve diğer canlılara zarar vermeden, ekolojik dengeyi koruyarak yalnızca hedef zararlı popülasyon yoğunluğunu azaltması, biyolojik mücadelede bu patojenlerin tercih edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.
6. Bu yüksek lisans tez çalışması ile Türkiye için ilk kez patates böceği *Leptinotarsa decemlineata*'da doğal hastalık oluşturan bir mikrosporidium patojeni tespit edilmekte, karakterizasyonu ve varlığı açıklanmaktadır.

## 6. ÖNERİLER

Alan zararlılarıyla mücadelede ülkemizde tamamen kimyasal ilaçlarla yapılmaktadır. Kimyasalların hedef zararlı dışında, çevreye, doğadaki diğer yararlı canlılara ve insan sağlığına olumsuz yöndeki etkileri endişe verici bir durumdur. İstenmeyen bu etkileri ortadan kaldırmak ya da minimum seviyeye indirmek için alternatif mücadele yöntemleri geliştirilmektedir. Çevreye duyarlı, yalnızca kontrol altına alınması ve etkisinin azaltılması gereken zararlıya etki eden biyolojik mücadele yöntemi, tercih edilmesi gereken yöntemlerin başında gelir. Bu yüksek lisans tez çalışmaları sırasında tespit edilen *N. decemlineata* patojeni, ülkemiz için önemli bir besin kaynağı olan patates bitkisinde çok ciddi zarar yapan patates böceği, *L. decemlineata*'ya karşı kimyasal mücadeleye alternatif olarak kullanılmalıdır. Bu amaçla bu mikrosporidium patojeninin kütle üretimi yapılarak, ekin üreticilerine ticari şekilde sunulmalıdır. Söz konusu patojenin kullanılmasıyla zararlı ile biyolojik mücadele gerçekleştirilmiş ve aynı zamanda kimyasal ilaçların çevreye ve canlılara verdiği zararlı etkiler de önlenmiş olacaktır. Tek ilin dört farklı lokalitesinde gerçekleştirilen bu çalışmanın kapsamı geliştirilerek Karadeniz Bölgesi'nde ve hatta Türkiye'de patates ekimi yapılan bölgelerdeki zarar yapan böceklerde patojen varlığı araştırılabilir. Patojenin larva gelişimine, beslenmeye ve yumurta bırakma gibi faaliyetlerine etkisi araştırılmalıdır. Tespit edilen patojenin moleküler karakterizasyonu gerçekleştirilmelidir. Yalnızca zararlının erginlerine uygulanan biyoassay deneyleri, yine bu zararlının larvalarına da uygulanabilir. Vertikal yolla bulaşma özelliği belirlenen patojenin, horizontal yolla bulaşma potansiyeli araştırılabilir. Aynı zamanda bu patojenin Chrysomelidae familyasına ait türlerde enfeksiyon gerçekleştirip gerçekleştirmediği de çalışılabilecek konular arasındadır. Bu tez çalışmasının ülkemiz için ilk kayıt olması, bu alanda yapılacak olan diğer çalışmalara kaynak olacaktır. Bu çalışma aracılığı ile sunulan bilgiler kullanılarak diğer tarımsal zararlılarla mücadelede yeni patojenik ajanların tespiti mümkün olabilir.

## 7. KAYNAKLAR

- Abbott, W., S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide, J. Econ. Entomol., 18, 265-267.
- Alyokhin A., Baker M., Mota-Sanchez D., Dively G. ve Grafius E., 2008. Colorado Potato Beetle Resistance to Insecticides. Am. J. Pot Res, 85, 395–413.
- Avery S. W. ve Anthony D. W. 1983. Ultrastructural study of *Nosema algerae* in *Anopheles bimanus*. J. Invert. Pathol., 42, 335-343.
- Brooks, W.M., Becnel, J.J. ve Kennedy, G.G., 1988. Establishment of *Endoreticulatus* n. g. for *Pleistophora fidelis* (Hostounsky and Weiser, 1975) based on the ultrastructure of a microsporidium in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). J. Protozool., 35, 481–488.
- Canning, E.U. ve Vavra, J., 2000. Phylum microsporida. In: Lee, J., Leedale, G.F., Bradbury, P. (Eds.), The Illustrated Guide to the Protozoa. Allen Press Inc., Lawrence, 39–126.
- Cheung, W.W.K ve Wang, J.B., 1995. Electron microscopic studies on *Nosema mesnili* Paillot (Microsporidia: Nosematidae) infecting the Malpighian tubules of *Pieris canidia* larva. Protoplasma 186, 142-148.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) Council., 2009. Data Sheets On Quarantine Pests '*Leptinotarsa decemlineata*', Prepared by CABI and EPPO for the EU under Contract 90/399003.
- Ferro, D. N., Morzuch B. S. ve Margolies D., 1983. Crop Loss Assessment of the Colorado Potato Beetle (Col.:Chrysomelidae) on Potatoes in Western Massachusetts, J. Econ. Entomol., 76, 349-356.
- Gauthier, N. L., Hofmaster R. N. ve Semel M., 1981. History of Colorado potato beetle controlling Advances in potato pest management, eds. J.H. Lashomb, and R. Casagrande, 13–33 Stroudsburg: Hutchinson Ross Publishing Co.
- Hazard. E.I., Fukuda, T. ve Becnel, J.J., 1984. Life cycle of *Culicosporella lunata* (Hazard ve Savage, 1970) Weiser, 1977 (Microspora) as revealed in the light microscope with a redescription of the genus and species, J. Protozool., 31, 385-391.
- Hazard, E.I., Fukuda, T. ve Becnel, J.J., 1985. Gametogenesis and plasmogamy in certain species of Microspora, J. Invertebr. Pathol., 46, 63-69.
- Hitchner, L.S. 1952. The Insecticide Industry. Insects, the Yearbook of Agriculture House Doc. 413, Washington, DC, s 450-457.
- Hofmaster, R. N., Waterfield R. L. ve Boyd J. C. 1967. Insecticides applied to the soil for control of eight species of insects on Irish potatoes in Virginia, Journal of Economic Entomology, 60, 1311–1318.

- Hostounsky', Z. ve Weiser, J. 1973. *Nosema gastroidea* sp. n. Nosematidae, Microsporidia, infecting *Gastroidea polygona* and *Leptinotarsa decemlineata* Coleoptera, Chrysomelidae. Acta Entomologica Bohemoslovaca, 70, 345–350.
- Hostounsky', Z. ve Weiser, J. 1975. *Nosema polygrammae* sp. n. and *Plistophora fidelis* sp. n. (Microsporidia, Nosematidae) infecting *Polygramma undecimlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Cuba. Veřst. C's. Spol.zool., 39, 104–110.
- Hostounsky', Z. ve Weiser, J. 1980. A microsporidian infection in *Otiorrhynchus equestris* (Coleoptera, Curculionidae). Věstnik. Československé. Společnosti. Zoologické, 44, 160–165.
- Joudrey, P. ve Bjørnson, S., 2007. Effects of an unidentified microsporidium on the convergent lady beetle, *Hippodamia convergens* Guérin-Ménéville (Coleoptera: Coccinellidae), used for biological control, J. Invertebr. Pathol., 94, 140-143.
- Kedici R., Melan K. ve Kodan M., 1998. Patates Böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say)'nin Doğal Düşmanlarının Tespiti ve *Chrysoperla* sp.'nin Zararının Biyolojik Mücadelesinde Kullanılma İmkanlarının Araştırılması. Bitki Koruma Bülteni. 38 (1-2), 13-22.
- Larsson J.I.R. 1986. Ultrastructure, function, and classification of microsporidia. Progress in Protistology, 1, 325-390.
- Larsson J.I.R. 1988. Identification of microsporidian genera (Protozoa, Microspora) a guide with comments on the taxonomy. Arch. Protistenkd., 136, 1-37.
- Larsson J.I.R. 1999. Identification of microsporidia. Acta Protozool., 38, 161-197.
- Lipa, J. 1968. *Nosema leptinotarsae* sp.n., a microsporidian parasite of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. Journal of Invertebrate Pathology, 10, 11 1-1 15.
- Malone L.A ve McIvor C.A. 1995. DNA probes for two microsporidia, *Nosema bombycis* and *Nosema costelytrae*. J. Invertebr. Pathol., 65, 269-273.
- Martin P. A. W, 2004, A Freeze-dried Diet to Test Pathogens of Colorado Potato Beetle. Biological Control, 29, 109-114.
- Onaran, H., Ünlenen, L. A. ve Dođan, A. 2000. Patates Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Patates Tarımı, Sorunları ve Çözüm Yolları, T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Niğde.
- Quinton, R. J. 1955. DDT-resistant Colorado potato beetles? Proceedings of the North Central Branch of the Entomological Society of America 9, 94–95.
- Radek, R. ve Fabel, P., 2000. A new entomopoxvirus from a Cockroach: Light and electron microscopy, Journal of Invertebrate Pathology, 75, 19-27.

- Sato R., Kobayashi M. ve Watanabe H. 1982. Internal ultrastructure of spores of microsporidians isolated from the silkworm, *Bombyx mori*. J. Invert. Pathol. 40: 260-265.
- Toguebaye B. S. ve Marchand B. 1984. *Nosema couilloudi* n.sp., Microsporidie parasite de *Nisotra* sp. (Coleoptera, Chrysomelidae): Cytopathologie et ultrastructure des stades de developpement, Protistologica 20, 357-365
- Toguebaye B. S. ve Marchand B., 1986. Etude d'une infection microsporidienne due a *Nosema birgii* n.sp. (Microsporida, Nosematidae) chez *Mesoplatys cincta* Olivier, 1790 (Coleoptera, Chrysomelidae). Z. Parasitenkd., 72, 723-737
- 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.
- Toguebaye B. S. ve Bouix G., 1989. *Nosema galerucellae* sp.n., microsporidian (Protozoa, Microspora), parasite of *Galerucella luteola* Müller (Chrysomelidae, Coleoptera): Development cycle and ultrastructure. Europ. J. Protistol., 24, 346-353.
- TUİK, 2009 Bitkisel Üretim, Sayı:50.
- Undeen, A. ve Vavra, J., 1997. Research methods for entomopathogenic protozoa. *Manual of Techniques in Insect Pathology*, Academic Press, San Diego. 117-151.
- Vávra, J., 1976a. Structure of the Microsporidia. In: Bulla, L.A. Jr. ve Cheng, T.C, eds., Comparative Pathobiology. Plenum Press, New York and London, 1, 1-85.
- Vávra, J., 1976b. Development of the microsporidia. In: Bulla, L.A. Jr. ve Cheng, T.C, eds., Comparative Pathobiology. Plenum Press, New York and London, 1, 87-109.
- Weiser, J., 1961. Die mikrosporidien als parasiten der insekten. Monogr. Angew. Entomol., 17, 1-149.
- Whalon, M.E., D. ve Mota-Sanchez, Hollingworth R.M., The MSU arthropod pesticide resistance database. <http://www.pesticideresistance.org>, 7 April 2008.
- Weisz, R., Sounders, M., Smilowitz, Z., Huang, H. and Christ, B. 1994. Knowledge-based reasoning in integrated resistance management: The Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). Journal of Economic Entomology. 87, 1384-1399.
- Wilkerson, J. L., Webb S. ve E., Capinera J.L. 2005. *Vegetable Pests I: Coleoptera - Diptera – Hymenoptera*. UF/IFAS CD-ROM. SW 180.
- Yaman, M. ve Radek, R. 2003. *Nosema chaetocnema* sp. n., a microsporidian (Microspora; Nosematidae) parasite of *Chaetocnema tibialis* (Chrysomelidae, Coleoptera). Acta Protozool. 42, 231 -237.



- Yaman, M., Aslan, I. ve Radek, R., 2005a. *Phyllotreta nigripens* (Coleoptera:Chrysomelidae), a new host of *Nosema phyllotretae* (Microsporida) in Turkey. J Pest Sciences, 78, 239-242.
- Yaman, M., Radek, R., Aslan, I. ve Ertürk Ö. 2005b. Characteristic features of *Nosema phyllotretae* Weiser 1961, a microsporidian parasite of *Phyllotreta atra* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Turkey. Zoological Studies, 44, 368-372.
- Yaman M., Radek R.ve Toguebaye, B. 2008. A new microsporidian of the genus *Nosema*, parasite of *Chaetocnema tibialis* (Coleoptera: Chrysomelidae) from Turkey. Acta Protozoologica, 47, 279-285.
- Yaman M., Radek R., Tosun O.ve Ünal S. 2009, *Nosema raphidia* sp.n. (Microsporida, Nosematidae): A microsporidian pathogen of the predatory snake-fly *Raphidia ophiopsis* (Raphidioptera: Raphidiidae). Acta Protozoologica, 48, 353-358.

URL-1 [http://www.tagem.gov.tr/YAYINLAR/KITAP5/patates\\_bocegi.htm](http://www.tagem.gov.tr/YAYINLAR/KITAP5/patates_bocegi.htm), 2008

## **ÖZGEÇMİŞ**

1985 yılında Sinop'un Ayancık ilçesinde doğdu. İlköğrenimini Ankara, Nurettin Ersin İlköğretim Okulu ve İzmir, Fevzipaşa İlköğretim Okulu'nda, orta öğrenimini İzmir, Şemikler Süper Lisesi'nde tamamladı. 2003-2004 öğretim yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. 2007 yılında mezun oldu. Halen Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine devam etmekte olup, iyi derecede İngilizce bilmektedir.