

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***NOSEMA LYMANTRİAE* ENFEKSİYONUNUN İZLENMESİ VE SICAKLIĞIN**
***LYMANTRİA DİSPAR*'IN GELİŞİMİNE VE *NOSEMA LYMANTRİAE* İLE**
ENFEKSİYONUNA ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyolog Emine ARAS

TEMMUZ 2011
Trabzon

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***NOSEMA LYMANTRİAE* ENFEKSİYONUNUN İZLENMESİ VE SICAKLIĞIN
LYMANTRİA DİSPAR'IN GELİŞİMİNE VE *NOSEMA LYMANTRİAE* İLE
ENFEKSİYONUNA ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Biyolog Emine ARAS

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
“YÜKSEK LİSANS (BİYOLOJİ)”
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 09.06.2011
Tezin Savunma Tarihi : 05.07.2011**

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Kazım SEZEN

Trabzon 2011

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalında

Emine ARAS tarafından hazırlanan

***NOSEMA LYMANTRIAE* ENFEKSİYONUNUN İZLENMESİ VE SICAKLIĞIN
LYMANTRIA DİSPAR'IN GELİŞİMİNE VE *NOSEMA LYMANTRIA* İLE
ENFEKSİYONUNA ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 14 / 06 / 2011 gün ve 1409 sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından 05 / 07 / 2011 tarihinde yapılan sınavda**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Mahmut EROĞLU

Üye : Doç. Dr. Sabriye ÇANAKÇI

Üye : Doç. Dr. Kazım SEZEN

Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

"*Nosema lymantriae* enfeksiyonunun izlenmesi ve sıcaklığın *Lymantria dispar*'ın gelişimine ve *Nosema lymantriae* ile enfeksiyonuna etkisinin belirlenmesi" başlıklı bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı'nda "Yüksek Lisans Tezi" olarak hazırlanmıştır.

Yüksek Lisans tez danışmanlığımı üstlenerek, gerek konu seçimi gerekse çalışmaların yürütülmesi ve değerlendirilmesi sırasında ilgi ve yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Kazım SEZEN'e, tezin değerlendirilmesi ve geliştirilmesinde yardımcı olan değerli jüri üyeleri hocalarıma, laboratuvarında maddi manevi imkanlarını esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ'a, laboratuvar çalışmalarım sırasında göstermiş oldukları ilgiden ötürü Doç. Dr. İsmail DEMİR'e, Doç. Dr. Remziye NALÇACIOĞLU'na ve Avusturya, BOKU-Natural Resources and Applied Life Sciences Üniversitesinde Orman Patolojisi laboratuvarında tez çalışmamın yürütülmesinde ve değerlendirilmesinde benden yardımlarını esirgemeyen Dr. Gernot Hoch ve Dörte Goertz'e teşekkür ederim. Bu tezin hazırlanması sırasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen başta babam Yahya ARAS'a, fedakâr aileme ve Naim HAMZAOĞLU'na şükranlarımı sunarım.

Ayrıca, tez çalışmam süresince laboratuvar imkânlarından yararlanmamı sağlayan Biyoloji Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Asım KADIOĞLU'na da teşekkür ederim.

Emine ARAS
Trabzon 2011

TEZ BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Nosema lymantriae* enfeksiyonunun izlenmesi ve sıcaklığın *Lymantria dispar*’ın gelişimine ve *Nosema lymantriae* ile enfeksiyonuna etkisinin belirlenmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Doç. Dr. Kazım SEZEN’in sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 09/06/2011

Emine ARAS

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZ BEYANNAMESİ	IV
İÇİNDEKİLER	V
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ	XII
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.1.1 Tanımı, Yaşayışı, Yayılışı ve Zararı	1
1.3. <i>Lymantria dispar</i> ve Mücadele Yöntemleri.....	5
1.3.1 Silvikültürel mücadele.....	5
1.3.2. Mekanik mücadele	5
1.3.3. Kimyasal Mücadele.....	5
1.3.4. Biyoteknik Mücadele	6
1.3.5. Genetik Mücadele	6
1.4. <i>Lymantria dispar</i> 'ın Doğal Düşmanları ve Biyolojik Mücadele	6
1.4.1. Mantarlar	7
1.4.2. Parazitler	7
1.4.3. Predatörler.....	8
1.4.4 Patojenler	8
1.5. Mikrosporidialar.....	9
1.5.1. Taksonomi ve Sınıflama.....	9
1.5.2. Mikrosporidia Türleri.....	10
1.5.3. Mikrosporidiaların Morfolojik Özellikleri	11
1.5.4. Mikrosporidiaların Yaşam Döngüsü ve Enfeksiyonu	12
1.5.4.1. Yaşam Döngüsü	12
1.5.4.2. Mikrosporidiaların Böceklere Giriş Yolları.....	12

1.5.4.3.	Mikrosporidia Enfeksiyonunun Yayılım Yolları.....	13
1.5.5.	Mikrosporidia Türlerinin Ortak Özellikleri.....	16
1.5.6.	Mikrosporların Çevresel Dayanıklıkları.....	17
1.5.6.1.	Nemlilik.....	17
1.5.6.2.	pH'ın Etkisi.....	17
1.5.6.3.	Rüzgâr.....	17
1.5.6.4.	Besin.....	18
1.5.6.5.	Güneş Radyasyonu/Güneş Işımları.....	18
1.5.6.6.	Sıcaklık.....	18
1.6.	Mikrosporidiaların İzolasyonu ve Laboratuvar Tanısı.....	19
1.7.	Mikrosporidiaların Orman Lepidopterleri Arasındaki Yaygınlığı.....	21
1.8.	Mikrosporidiaların Orman Zararlısı Lepidopterlerde Biyolojik Kontrol Ajantı Olarak Kullanılabilme Potansiyeli.....	27
1.9.	<i>Nosema</i> Türlerinin Lepidopterlere Olan Spesifikliğı.....	28
1.10.	Mikrosporidia Enfeksiyonunun Belirtileri.....	28
1.11.	Mikrosporidiaların Diğer Doğal Düşmanlarla Olan İlişkisi.....	29
1.12.	Sıcaklığın Konak ve Model Üzerine Olan Etkisi.....	30
1.13.	Çalışmanın Amacı.....	31
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	32
2.1.	Larvaların Temini ve Yetiştirilmesi.....	32
2.2.	Patojenin Temini.....	33
2.3.	İnokülasyon.....	33
2.4.	Farklı Sıcaklıkların Mikrosporidia Enfeksiyonu Üzerine Olan Etkisinin Belirlenmesi.....	34
2.5.	Farklı Sıcaklıkların ve Enfeksiyonun Larvanın Büyümesine Olan Etkisinin Belirlenmesi.....	34
2.5.1.	Büyüme ve Gelişimin Takibi.....	35
2.6.	<i>L. dispar</i> Larvalarının Cinsiyetinin Belirlenmesi.....	36
2.7.	Kadavralardan Spor Sayımının Yapılması.....	37
2.8.	Bilgi Analizi.....	37
3.	BULGULAR.....	38
3.1.	Farklı Sıcaklıklarda Mikrosporidian Gelişiminin Mikroskopik Olarak Belirlenmesi.....	38

3.2.	Farklı Sıcaklıkların Mikrosporidia Enfeksiyonu Üzerine Olan Etkisinin Belirlenmesi.....	42
3.3.	Sıcaklığın ve Enfeksiyonun Larvanın Gelişim Parametrelerine Olan Etkisi	46
3.3.1.	Sıcaklığın ve Enfeksiyonun Larvanın İnstarlar Arası Geçiş Zamanına Olan Etkisi.....	46
3.3.2.	Sıcaklığın ve Enfeksiyonun Larvanın Pupa Ağırlıklarına ve Pupaya Girme Zamanına Olan Etkisi.....	51
3.3.3.	Sıcaklığın ve Cinsiyetin Kadavraların Ağırlığına Olan Etkisi.....	55
3.4.	Kadavralardan Yapılan Spor Sayısı	56
4.	TARTIŞMA	59
5.	SONUÇLAR.....	67
6.	ÖNERİLER.....	70
7.	KAYNAKLAR	71
	ÖZGEÇMİŞ	

Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

NOSEMA LYMANTRIAE ENFEKSİYONUNUN İZLENMESİ VE SICAKLIĞIN
LYMANTRIA DISPAR'IN GELİŞİMİNE VE *NOSEMA LYMANTRIAE* İLE
ENFEKSİYONUNA ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Emine ARAS

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Kazım SEZEN
2011, 79 (Tez Sayfa)

Kır tırtılı, *Lymantria dispar* Türkiye’de ve dünyada geniş yapraklı orman ağaçları, süs bitkileri, vişne ve erik gibi meyve ağaçları ve fındık üzerinde ekonomik kayıplara sebep olan polifag zararlıdır. *Nosema lymantriae* patojenik bir mikrosporidium olup orman zararlılarına karşı biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptir. Sıcaklık *N. lymantriae* enfeksiyonu üzerinde önemli bir etki oluşturmaktadır. Bu çalışmada sabit ve değişken sıcaklığın enfeksiyon üzerindeki etkisinin belirlenmesi amacı ile $22\pm 1C^{\circ}$ sabit ve $18C^{\circ}/24\pm 1C^{\circ}$ değişken ve yine $22C^{\circ}\pm 1C$ sabit ve $14C^{\circ}/26C^{\circ}\pm 1C$ değişken sıcaklıklardan oluşan 2 deney grubu kuruldu ve larvalar bu sıcaklıklara ayarlanmış inkübatörlerde 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık ışık periyodunda büyütüldü. Larvalar her gün kontrol edilip deri değiştirme, pupa ve ölüm zamanları ile ağırlık ölçümleri kaydedildi. Elde edilen değerler SPSS 11.05 programı ile analiz edilerek sıcaklığın enfeksiyon üzerine ve enfeksiyonun zararlı üzerine olan etkisi tespit edilmeye çalışıldı. Elde edilen analizler sonucunda *N. lymantriae* enfeksiyonunun kır tırtılı üzerinde %83-100 arasında insektisidal etkisinin olduğu, enfeksiyonun larvaların gelişimini yavaşlattığı, $22C^{\circ}$ sabit sıcaklıkta büyüyen dişi larvaların kadavralarından elde edilen spor miktarının $18C^{\circ}/24C^{\circ}$ değişken sıcaklığa göre daha az olduğu ($p=0,021$) ve larvaların ölüm günleri ile kadavra ağırlığı arasında iyi bir korelasyon olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: *Nosema lymantriae*, *Lymantria dispar*, Sıcaklık

Master Thesis

SUMMARY

Monitoring the Infection of *Nosema lymantriae* and Determination the Effect of Temperature on Development of *Lymantria dispar* and Infection with *Nosema lymantriae*

Emine ARAS

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Biology Graduate Program
Supervisor: Assoc. Prof. Kazım SEZEN
2011, 79 Pages

Gypsy moth, *Lymantria dispar* is a polyphagous pest which causes economic losses on broad-leaved forest trees, ornamental plants, like cherry and plum trees and nut. *Nosema lymantriae* is a pathogenic microsporidium and possess the potential for biological control of forest defoliators. Temperature has a significant effect on the course of infection. In the present study, two different group temperature was used for determine the effect of constant fluctuating temperatures on the infection. One of them consist of $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ constant and $18^{\circ}\text{C}/24\pm 1^{\circ}\text{C}$ fluctuating temperatures and the other one consist of again $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ constant and $14^{\circ}\text{C}/26\pm 1^{\circ}\text{C}$ fluctuating temperatures. Larvae were reared incubator that adjusted these constant and fluctuating temperatures at 16h light/8h dark period. Larvae were checked every day and taken note time of molting, pupation, and death. Statistical analyses were carried out with SPSS11.05 As a result of the evaluation is determined that the infection of *N. lymantriae* has 83-100% mortality on gypsy moth, the infection slow down the development of larvae, spore counting from dead infected female larvae which are reared at $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ constant temperature has lower spore number than that of the larvae reared at $18^{\circ}\text{C}/24\pm 1^{\circ}\text{C}$ fluctuating temperature ($p=0,021$) and there are significantly correlation between the death of day and the fresh mass of cadavers for infected larvae.

Key Words: *Nosema lymantriae*, *Lymantria dispar*, Temperature

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. <i>Lymantria dispar</i> 'ın biyolojisi	3
Şekil 2. Kır tırtılının zararına uğramış fındık ağacı	4
Şekil 3. Mikrosporidia sporu	12
Şekil 4. Spor üretimi boyunca sporun ters dönmesi	15
Şekil 5. Nosema tipi mikrosporidia ve onun konakla olan ilişkisinin şematik gösterimi ...	23
Şekil 6. Vairimorpha tipi mikrosporidia ve onun konakla olan ilişkisinin şematik gösterimi	25
Şekil 7. Endoreticulatus tipi mikrosporidia ve onun konakla olan ilişkisinin şematik gösterimi	26
Şekil 8. <i>Lymantria dispar</i> 'da <i>Nosema portugal</i> enfeksiyonu	29
Şekil 9. <i>L. dispar</i> yumurtaları	32
Şekil 10. Yumurtadan yeni çıkan <i>L. dispar</i> larvaları	33
Şekil 11. Değişken sıcaklığın uygulandığı kontrol grubunun görüntüsü	35
Şekil 12. Dişi ve erkek pupaya ait abdomen görüntüsü	36
Şekil 13. Ovaryum	36
Şekil 14. Testis	36
Şekil 15. <i>Nosema lymantria</i> 'nın çeşitli evrelerinin 22C° ve 18C°/24C° de böceğin ipek bezi, yağ doku ve malpigi tüplerindeki varlığı	38
Şekil 16. 18C°/24C° de enfeksiyondan sonra 10. günde ipek bezinde vegetatif evre	39
Şekil 17. 18C°/24C° de enfeksiyondan sonra 12. günde yağ dokuda vegetatif evre	40
Şekil 18. 18C°/24C° de enfeksiyondan sonra 12. günde malpigi tüplerde vegetatif	40
Şekil 19. 18C°/24C° de enfeksiyondan sonra 14. günde ipek bezinde öncü sporlar	41
Şekil 20. 22C° de enfeksiyondan sonra 14. günde yağ dokuda öncü sporlar	41
Şekil 21. 18C°/24C° de enfeksiyondan sonra 14. günde malpigi tüplerde öncü sporlar	42
Şekil 22. Enfeksiyonlu larva	42

Şekil 23. Sağlıklı larva	42
Şekil 24. 22C° ve 18C°/24C°'nin mikropsor enfeksiyonuna etkisi.....	43
Şekil 25. 22C° ve 14C°/26C°'nin mikropsor enfeksiyonuna etkisi.....	45
Şekil 26. Kontrol larvasında pupa öncesi dönem	51
Şekil 27. Kontrol larvasında pupa görünümü.....	52
Şekil 28. Birinci deney grubunda sıcaklığın ve cinsiyetin pupa ağırlığına etkisi.....	54
Şekil 29. İkinci deney grubunda sıcaklığın ve cinsiyetin pupa ağırlığına etkisi	55
Şekil 30. Birinci deney grubunda kadavraların ağırlıkları ile ölüm zamanı arasındaki korelasyon.....	57
Şekil 31. İkinci deney grubunda kadavraların ağırlıkları ile ölüm zamanı arasındaki korelasyon.....	58

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1.	<i>Lymantria dispar</i> larvalarına karşı kullanılan ilaçlar	6
Tablo 2.	Mikrosporidia izole edilen orman böceklerinin listesi	21
Tablo 3.	Kır tırtılı <i>Lymantria dispar</i> 'dan izole edilen mikrosporidialar ve kır tırtılının toplandığı ülkeler	22
Tablo 4.	Birinci deney grubunda enfeksiyonlu larvaların ölüm günleri.....	44
Tablo 5.	İkinci deney grubunda enfeksiyonlu larvaların ölüm günleri	46
Tablo 6.	Birinci deney grubunda yetişen larvaların 3-4. instar değiştirme süreleri.....	47
Tablo 7.	İkinci deney grubunda yetişen larvaların 3-4. instar değiştirme süreleri.....	47
Tablo 8.	Birinci deney grubundaki enfeksiyonlu ve kontrol larvalarının 4-5. instar değiştirme süreleri	48
Tablo 9.	İkinci deney grubundaki enfeksiyonlu ve kontrol larvalarının 4-5. instar değiştirme süreleri.....	49
Tablo 10.	Birinci deney grubunda yetişen larvaların 5. instar değiştirme süreleri	49
Tablo 11.	Birinci deney grubundaki enfeksiyonlu ve kontrol larvalarının 5. instar değiştirme süreleri	50
Tablo 12.	İkinci deney grubunda yetişen larvaların 5. instar değiştirme süreleri.....	50
Tablo 13.	İkinci deney grubundaki enfeksiyonlu ve kontrol larvalarının 5. instar değiştirme süreleri	51
Tablo 14.	Birinci deney grubundaki kontrol larvalarının pupaya girme süreleri.....	52
Tablo 15.	İkinci deney grubundaki kontrol larvalarının pupaya girme süreleri	53
Tablo 16.	Birinci deney grubundaki larvaların pupa ağırlıkları.....	53
Tablo 17.	İkinci deney grubundaki larvaların pupa ağırlıkları	54
Tablo 18.	Birinci deney grubunda kadavra ağırlıkları.....	55

Tablo 19. İkinci deney grubunda kadavra ağırlıkları	56
Tablo 20. Birinci deney grubundaki enfekte kadvralardaki spor sayısı	56
Tablo 21. İkinci deney grubundaki enfekte kadvralardaki spor sayısı	58

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Lymantria dispar yaprak zararlısı bir böcek olup, Amerika birleşik devletlerinde 450, Rusya'da 300, Romanya'da 270 bitki türünde, Türkiye'de ise birçok meyve ve geniş yapraklı orman ağaçları ile süs bitkilerinde zarara neden olmaktadır (Wellenstein ve Schwenke, 1978; URL-1, 2011). *Lymantria dispar* ormancılıkta başta meşe olmak üzere gürgen, kayın ve kestane zararlısı olarak önem taşımaktadır (URL-2, 2011). Karadeniz Bölgesinde ise en çok zararlı olduğu bitki fındıktır (URL-1, 2011). *L. dispar* larvaları genelde 5-7 yılda bir yörede çok fazla çoğalarak ağaçları tamamen yapraksız hale getirebilmekte, yaprak kayıpları iki yıl üst üste tekrarlandığında ağaçların büyük kısmı ölebilmektedir (URL-3, 2011). Ülkemizde genellikle yapraklıları (özellikle meşe) tercih eden böcek yöremizde ibreli plantasyonlarında da zararlı olmaktadır. Bu konudaki ilk kayıt Çenedağı ağaçlandırma sahasında 1981 yılında *Pinus radiata* ve *Pinus nigra*'larda tespit edilmiştir (URL-4, 2011). 2003 yılında Kocaeli Yarımadası'nda çok yaygın olan ve populasyon patlaması yapan zararlı, meşelerde %50-100 arasında yaprak kaybına yol açmıştır. Aynı zamanda yörede yaygın olan ibreli plantasyonlar bu zararlardan da etkilenmişlerdir.

1.1.1. Tanımı, Yaşayışı, Yayılışı ve Zararı

Tanımı: Lepidoptera takımının bir üyesi olan *L. dispar*'ın yaşam evreleri genel çizgileriyle 5 aşamalıdır. Bu aşamalar yumurta, larva, prepupa, pupa ve ergin evrelerdir. Yaşamının en uzun dönemini oluşturan yumurta evresinden sonra gelen larva evresi beslenmek amacıyla yaprakların tüketildiği ve dolayısıyla zararın gerçekleştirildiği dönemdir (URL-3, 2011).

Yumurta: Grimsi yeşil renkli, 1.1 mm çapında, basık küre şeklindedir (Şekil 1a). Toplu halde konulur, üzeri sarımsı tüylerle kaplıdır. Yumurta topluluğu dışından bakıldığında süngere benzediğinden kelebeğe sünger örücüsü de denilmektedir (URL-2, 2011). Bir yumurta kümesinde ortalama 481 (260-721) adet yumurta bulunur. Kışı

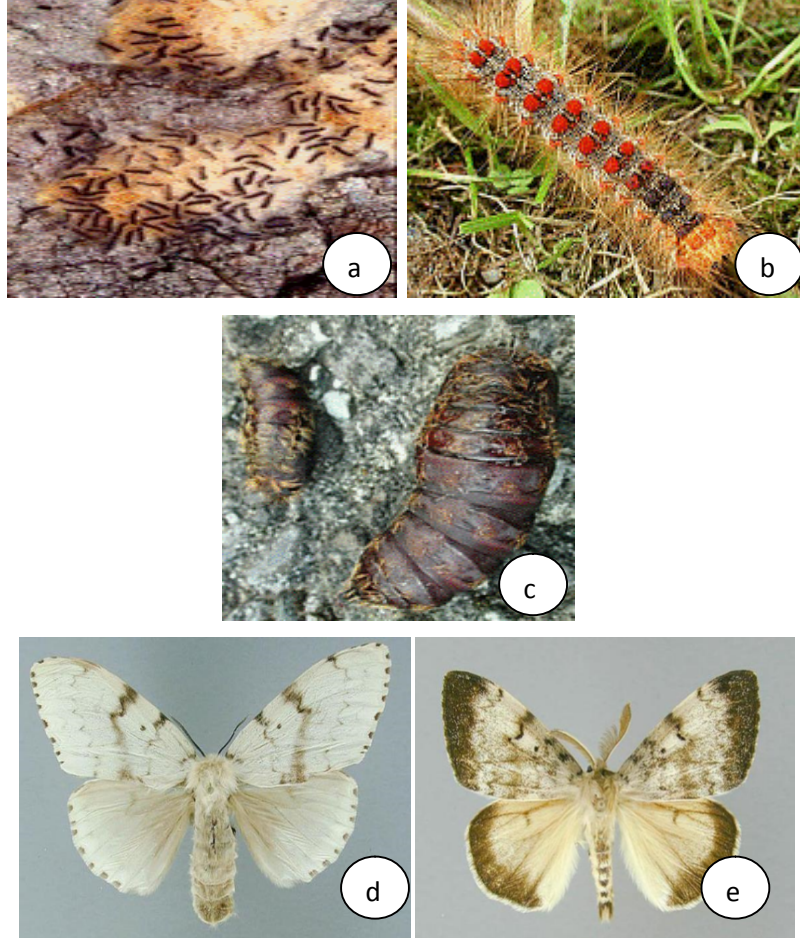
yumurta halinde geçirir (Anonim, 2008). Mart ve Nisan aylarında yumurtadan larva çıkışı başlar, 8-15 günde tamamlanır. Beslenme sıcaklığa bağlı olarak 6-10 hafta kadar sürer (URL-2, 2011).

Larva: Yumurta zarının ilkbaharda asimetrik olarak çatlamasıyla çıkan larvalar erkek fertleri oluşturacak şekilde olanları 5, dişi fertleri oluşturacak olanlar ise 6 kez gömlek değiştirmektedir (Öymen, 1985). Larvalar koyu kahverengi görünümündedir (Şekil 1b). Sırt kısmında boydan boya sarımsı beyaz şerit vardır ve vücudun her segmenti tüylerle kaplıdır. Sırttaki 11 çift siğilden ilk 5 çift mavi, kalan 6 çift ise kırmızı renklidir. Olgun halde boyu 50-70 mm ye ulaşır.

Pupa: Erkek larva 5, dişi larva 6 safhadan sonra prepupa, daha sonra da pupa olurlar. Erkek ve dişilerin pupa öncesi dönemlerinde boy hariç morfolojik olarak bir fark yoktur. Dişi larvalar erkek larvalardan daha büyük oldukları için, dişi prepupalarda erkek prepupalardan biraz büyük olmaktadır. Prepupanın baş kapsülü koyu sarı, göz halkaları siyah ve ağız parçaları kahverengidir. Pupa genel olarak kırmızı kahverengidir (Şekil 1c). Üzerinde daha açık renkli, seyrek, kısmen demetçikler halinde tüyler bulunur. Arka uçları sivridir (Öymen, 1985). Pupa; 20-30 mm boyda ve dolgun yapılıdır. Bölgemizde Haziran başlarından itibaren önce 1-2 gün süreli prepupa döneminden sonra pupalar görülmeye başlar. Pupa dönemi 15-20 gün kadar sürer (URL-2, 2011).

Ergin: Erkek ve dişi kelebekler renk, şekil ve boyutları itibariyle birbirinden farklıdır (Şekil 1d, e). Ergin dişiler sarımsı beyaz renkte olup, kanatları üzerinde açık kahverengi lekeler bulunur ve kanat açıklığı 5 cm'dir Erkekler ise açık kahverengi görünüşündedir. Erkek kelebeklerin kanat açıklığı 3,5 cm'dir (URL-1, 2011). Genel olarak renkleri açık kahverengi olup ön kanatları üzerinde siyahımsı dalgalı 5 bant görülür. Arka kanatlar ön kanatlardan daha açık renkli ve düzdür. Vücutları abdomenin sonuna doğru incelik ve kirli sarı tüylerle kaplıdır. Antenleri iki taraflı tarağımsıdır. Dişi kelebeklerin vücutları daha dolgun yapılıdır, kirli sarı tüylerle kaplıdır ve abdomenin ucunda daha yoğun olan tüyler yumurtaların üzerini örtmede kullanılmaktadır (Anonim, 2008). Erginlerin ömrü 3-4 gün kadardır. Çiftleşen dişi 1-2 saat içinde yumurta koymaya başlar, bu işlem 2-4 gün sürer. Yumurtalarını ağaçların gövde ve dallarına, içi kovuk kütük ve

ağaçların kovuk kısmına, taş aralarına, ölü örtü üzerine, bina duvarlarına bırakabilirler (URL-2, 2011).



Şekil 1. *Lymantria dispar*'ın biyolojisi. A. *L. dispar* yumurtası ve 1. instar larva, B. Larva, C. Pupa (URL-5, 2011), D. Ergin dişi, E. Ergin erkek (URL-6, 2011).

Yayılışı: İsveç'in güneyinden itibaren Avrupa, Kuzey Afrika, Sibiryaya, Japonya, Çin'e kadar olan kuşak içerisinde, Asya'da ve Amerika'da yayılmıştır. Polifag (birçok çeşit besinle beslenen organizmalar) bir zararlıdır, Romanya'da 270, Rusya'da 300, Amerika Birleşik Devletleri'nde 450, Polonya'da 477 bitki türü üzerinde yaşayabilmektedir (URL-7; 8; 9, 2011).

Türkiye'nin hemen hemen her yerinde mevcuttur. Kır tırtılı fındık, vişne, erik ve elmanın yanı sıra geniş yapraklı orman ağaçları ile süs bitkilerinin yeşil kısımlarını yiyerek, zarar vermekte ve ekonomik kayba sebep olmaktadır (URL-10, 2011).

Zararı: *Lymantria dispar* geniş yapraklı ve iğne yapraklılarda en önemli yaprak zararlılarından biridir (Şekil 3). Yapılan bir araştırmada bir erkek larvanın yaprak tüketimi 165,71 cm², dişi larvanın yaprak tüketimi ise 495,97 cm² olarak belirlenmiştir. Erkek ve dişi larvalar arasındaki yaprak tüketim farkı, erkek fertlerin 5, dişi fertlerin 6 larva dönemi geçirmesi ve toplam larva döneminin erkeklerden bir hafta fazla olması sebebiyledir (URL-2, 2011). Yaprak kaybının ağacın ölümüyle sonuçlanması ağaç türleri, çevre baskıları, ağacın sağlığı ve yaprak kaybının derecesi arasındaki ilişkilere bağlıdır. Üst tabakadaki ağaçlarda (Meşe) yaprak kaybından ölüm oranı, %13, çatı kısmı kötü gelişenlerde %35, alt tabakadaki fertlerde ise %67 olarak belirlenmiştir. Tekrarlanan yaprak kaybı durumunda ölüm oranı %84'lere çıkmaktadır (URL-11, 2011). Ağaçlardaki yaprak kaybı sekonder zararlı bazı mantar ve böceklerin zarar vermesini kolaylaştırır.



Şekil 2. Kır tırtılına uğramış fındık ağacı (Ordu Tarım İl Müdürlüğü Bitki Koruma Şube Müdürlüğü, 2003).

Böcek her 5-7 senede birçok fazla üreyerek geniş sahalarda zararlı olmaktadır. İzmit Orman İşletme Müdürlüğü sahalarında 1972 yılında baltalık sahalarda, 1980-1981 yıllarında baltalık ve ibreli ağaçlandırma sahalarında zararlı olmuştur (URL-4, 2011). 1997-1998 yıllarında Demirköy-İğneada civarındaki ormanlarda özellikle meşelerde etkili olmuştur. 2003 yılında çok yoğun üreme yaparak İzmit, Kerpe Araştırma Ormanında 90 ha Radiata meşceresinde %90-100, 60 ha sahada %40-50 oranında ibre kaybına sebep olmuştur. Ayrıca İzmit, Şile ve Kanlıca (Alemdağ) Orman İşletme müdürlükleri baltalık sahalarında özellikle meşelerde %50-100 arasına yaprak kaybına yol açmıştır. Aynı yöredeki orman yakınındaki kavak, söğüt ve elma, armut gibi ağaçlarda da %50-60 yaprak kaybına sebep olmuştur (URL-2, 2011).

1.3. *Lymantria dispar* ve Mücadele Yöntemleri

1.3.1. Silvikültürel Mücadele

Aralama çalışmalarını zamanında yaparak ağacın kuvvetli olmasını, tepe tacının daha serbest hale getirerek yaprak miktarının artmasının sağlanması, aralamada öncelikle tercih ettiği türlerin çıkarılması olmalıdır. Böceğin doğal düşmanlarının artması için doğal düşmanlara uygun habitat oluşturulması sağlanmalıdır (URL-12, 2011).

1.3.2. Mekanik Mücadele

Az sayıda ağaç söz konusu olduğunda kullanılacak en kolay yöntemler yumurta kümelerinin toplanarak tahribi ve larva çıkışından sonra gövdeye geçişi engelleyici bant konulmasıdır. Ayrıca larvanın gündüz gölgeli korunaklı yer almasından faydalanılarak, gövdeye sarılan örtünün altına toplanan larvaların toplanarak yok edilmesi de etkili olur.

1.3.3. Kimyasal Mücadele

Yumurta kümeleri ile mücadelede buldukları yerlerde üzerine mazot, gazyağı, bitkisel yağlar, kışık yağ dökülmesi yöntemiyle yapılabilir. Larva safhasındaki mücadele ancak epidemide hallerinde düşünülmelidir. Mücadelede çeşitli mide ve temas etkili

ilaçlardan yararlanılabilir. Çok fazla sayıdaki parazit ve yırtıcılarına en az zarar veren mide etkili ilaçlar tercih edilmelidir (Tablo 1).

Tablo 1. *L. dispar* larvalarına karşı kullanılan ilaçlar (URL-13, 2011).

Etken Madde	Formülasyon	Miktar
<i>Bacillus thuringiensis</i> 16000 IU/mg	WP	50 g
Carbaryl %5	TOZ	3 kg /da
Carbaryl %85	WP	75 g (150 g/da)
Deltamethrin 25 g/l	EC	30 ml/da
Methiocarb %2	TOZ	3 kg/da
Methiocarb %50	WP	75 g (150 g/da)

1.3.4. Biyoteknik Mücadele

Feromon Kullanımı: Böceğin yakalanmasını sağlayan tuzak ve dişilerin yaydığı cinsel çekici kokuların, erkekleri cezp etmesi özelliğinden yararlanarak elde edilen feromon adı verilen maddeden oluşmaktadır. Feromonlar populasyon seviyesinin gözlenmesi yanında erkekleri yakalayıp çiftleşmenin engellenmesi için de kullanılmaktadır. Bu maksatla ABD’de izole ağaçlandırmalarda populasyon miktarını azaltmaya yönelik olarak 8-25 adet/ha feromon tuzağı kullanılmaktadır (URL-2, 2011).

1.3.5. Genetik Mücadele

Kısır erkekler üreterek doğaya salınmasını öngören bir mücadele biçimidir. Üzerinde araştırma çalışmaları devam etmektedir (URL-2, 2011).

1.4. *Lymantria dispar*’ın Doğal Düşmanları ve Biyolojik Mücadele

Biyolojik mücadele, zararlı, hastalık ve yabancı otların diğer canlıların yardımıyla ekonomik zarar eşiğinin altında tutulmasıdır. Bir başka deyişle, doğada zararlı olan canlıları tamamen yok etmeden doğal dengeyi koruyucu, onarıcı ve destekleyici önlemler almaktır. Biyolojik mücadelede etkili olan doğal düşmanlar predatörler, parazitoidler ve

patojenler olarak üç ana grupta toplanmıştır. Predatörler, zararlılar üzerinde doğrudan beslenerek etkili olan faydalı böceklerdir. Parazitoidler, yumurtalarını diğer bir böceğin ergin ya da ergin öncesi dönemleri dediğimiz yumurta, larva ve pupa gibi gelişme dönemleri içerisine bırakarak etkili olan genellikle arı grubundan faydalılardır. Patojenler ise diğer canlılarda olduğu gibi zararlılarda da hastalık yapan etmenlerdir. Hastalık yapan patojenler funguslar, bakteriler, virüsler nematodlar ve protozoalar gibi canlılardır (URL-14, 2011). Biyolojik mücadelede üç temel yaklaşım vardır: mevcut doğal düşmanların korunması ve etkinliklerinin artırılması, doğal düşman popülasyonunun çoğaltılması ve desteklenmesi, doğal düşmanların ithal edilmesi. Bu üç yöntem, birbirinden bağımsız olarak düşünülmemelidir. Çünkü, bu yöntemler birbirinin tamamlayıcısı durumundadır. Bu yöntemler, aynı zamanda bir zararlıya karşı uygulanacak biyolojik mücadelenin aşamalarını teşkil ederler.

Zararlı böcekler, orman, tarla ve bahçe bitkilerinde, seralarda, süs bitkilerinde, koruma altına alınmış bölgelerde yetişen bitki türleri üzerinde, depolanmış ürünlerde, veterinerlik ve tıbbi alanlarda büyük zararlara yol açarlar (Lacey vd., 2001).

Önemli bir zararlı olan kır tırtılının çok sayıda predatör ve parazitleri olmasına karşın epidemileri önleme kabiliyetleri mevcut değildir. Çok miktarda parazitlerini üreterek mücadele çalışmaları halen başarılı olamamıştır. Bununla birlikte doğal düşmanları da Entegre Mücadele elemanlarından biri olarak kullanılmalıdır (URL-2, 2011). Aşağıda açıklanan biyolojik ajanlar kır tırtılına karşı kullanılmaktadır.

1.4.1. Mantarlar

Mantar bulaşan böcekler hastalanarak ölürler. Ancak mantarların etkin olabilmesi hava şartlarının sıcak ve nemli olmasına bağlıdır. Böcekler de genellikle havanın kuru olduğu zamanlarda epidemiyaparlar. Böceklerde genellikle Zygomycetes, Ascomycetes ve Deuteromycetes sınıfları mensubu türler etkili olmaktadır (URL-2, 2011).

1.4.2. Parazitler

Zararlının popülasyonu azaltıcı unsurlardan birisi de asalaklardır. Bölgemizde etkin önemli türler; *Compsilura coccinnata* Meigen (Diptera, Tachinidae). Dişi erginler

konukçusunun derisini delerek larvalarını içeri bırakmaktadır. Gelişimini tamamlayan larva pupa olmak için konukçusunu terk eder. Pupa dönemini kabuk aralarında, ağaç kovuklarında ve ölü örtü arasında geçirir. Marmara Bölgesinde 3 generasyon verdiği belirlenmiştir. Yapılan laboratuvar gözlemlerinde parazitlenme oranı yörelere göre %5-14 arasında görülmüştür (URL-3, 2011).

1.4.3. Predatörler

En önemli larva yırtıcısı *Calosoma sycophanta* (L.) (Coleoptera, Carabidae)'dır. Bu yırtıcı predatör uzun ömürlü (ergini 6 yıl yaşar), yırtıcı ve hareketli oluşunun yanı sıra larvalarının ve erginlerinin *Lymantria dispar* larvalarını yemesi bakımından da son derece yararlı bir böcektir. Ayrıca bazı kuşlar ve küçük memelilerinde böcek popülasyonunun azalmasında rolleri vardır (URL-2, 2011).

1.4.4. Patojenler

Bakteriler: Tabiatıta doğal olarak mevcut olan *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia* ve *Streptococcus* cinsi bakteriler böceklerde kitle halinde ölümlere sebep olurlar. Epidemik hallerinde bazen popülasyonun %60 kadarının ölümüne sebep olabilmektedir.

Bacillus thuringiensis: Böcekler üzerinde çok etkili olan bu bakterinin rahatça uygulanabilecek şekil değiştirilen toz, ıslanabilir toz ve sulu preparatları yaygın şekilde kullanılmaktadır. Püskürtülen bakteri sporları içindeki zehirli madde böceklerin ölümüne sebep olmaktadır.

Virüsler: Baculovirüs cinsine ait *Nucleopolyhedrosis* virüsünün *Lymantria dispar* popülasyonunu azaltıcı etkisi vardır. Bu hastalığa ölen larvaların solgun bir görünümde olması sebebiyle solgun hastalığı da denir.

Nucleopolyhedrosis virüs (NPIV): Bu virüs böceğin popülasyonunu etkin şekilde azaltıcı etkisi olan solgunluk hastalığını meydana getirir. Bu hastalığın etkeni olan virüs alınan gıda ile vücuda girer ve kan hücreleri ile bazı dokuları öldürür. Larva önce uyuşuk

hale geçer sonra yemeyi bırakarak arka bacaklarından dala veya yaprağa asılı halde ölür. Dokuları ayrıştır ve vücudu sıvı haline geçer. Yapılan araştırmalar sonucu kullanıma hazır preparatlar halinde elde edilerek kullanıma sunulmuştur (URL-2, 2011).

1.5. Mikrosporidialar

Mikrosporidia, spor oluşturan, küçük, tek hücreli, zorunlu hücre içi parazitidir. Konağın hücre dışında metabolik aktivasyon gösteren bir evresi yoktur. Membrana bağlı çekirdeği ve intrasitoplazmik membran sistemine sahip olması gibi bir takım özellikleri nedeniyle ökaryot olarak kabul edilmekle birlikte, 70S ribozomu olması, mitokondri veya peroksizomunun olmaması ve golgi cisimciğinin basit yapıda olması gibi ökaryotlara benzemeyen tarafları da vardır (Garcia, 2002).

1.5.1. Taksonomi ve Sınıflama

Mikrosporların keşfi böcek patolojisinin başlangıcında dönüm noktası olmuştur. Pasteur Avrupa'da pamuk endüstrisini tehdit eden pebrine hastalığını çalışmış ve onu kontrol edebilmek için bir takım önlemler ortaya koymuştur. 1857 yılında ise Nageli pebrine hastalığına neden olan ajanı *Nosema bombycis* olarak tanımlamıştır ve onu çoğunlukla maya ve bakteri karışımı olan ve kendi tarafından kurulan Schizomycetes grubuna yerleştirmiştir (Balbiani, 1882; Sprague ve Becnel, 1998). 1882 yılında Balbiani bu mikroorganizmaları mikrosporidia olarak ayrı bir grup olarak sınıflandırmıştır. Bunu takip eden yıllarda mikrosporidia taksonomisi birçok kez değişikliğe uğramıştır. 1976 yılında Sprague'nin Microspora filumu altında topladığı bu mikroorganizmalar, daha sonra 1980 yılında Levine tarafından Protista "kingdom"unda protozoa "subkingdom"unda sınıflandırılmıştır (Didier, 2005). Daha sonra 1998 yılında Sprague filumun adını "Microsporidia" olarak değiştirmiştir.

2000'li yıllara gelindiğinde değişik genlerin dizi analizinin yapılması sonucunda mikrosporidia sınıflandırılmasında yeni gelişmeler elde edilmiştir. Edlind ve arkadaşları (1996) alfa ve beta tubulin genlerinin dizi analizini yapmışlar ve mikrosporidiaların protozoolardan çok mantarlarla daha yakın ilişkide olduklarını bildirmişlerdir. Translasyonda görev alan "elongation factor" EF-1 ve EF-2 ve RNA polimeraz II gen dizisinin kıyaslanması sonucunda mikrosporidia ve mantarlar arasındaki yakın ilişkiyi

destekler sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca *Varimorpha necatrix* ve *Nosema locustae*, HSP70 (Heat Shock Protein) gen dizi analizleri tanımlanmış ve bu genin protozodan çok mantar HSP70 gen dizisiyle daha yakın ilişkili olduğu bulunmuştur (Hirt vd., 1999; Didier, 2005).

1.5.2. Mikrosporidia Türleri

Mikrosporidialar microspora filumu altında toplanmış ve çoğunlukla balık ve eklembacaklılar olmak üzere çeşitli hayvan takımlarından yaklaşık olarak 150 cins ve 1200'den daha fazla mikrosporidia türü tanımlanmıştır (Wittner, 1999). Hem omurgalı hem omurgasız konakları enfekte eden mikrosporlar konak hücre dışında sporlarıyla enfeksiyon oluşturmaktadır. Boyutları türlere göre farklılık göstermekle birlikte genellikle 1-10 µm arasında değişmektedir. Ancak memelileri enfekte eden mikrosporların boyutları 1,5-3 µm arasında değişmekte, küçük ve oval/yuvarlak şekildedir (Türk ve Doğruman, 2009). Hayat döngüsü, proliferatif merogonik dönemi ve onu takip eden sporogoni dönemini içermektedir. Sporogoni sonucunda dış ortam koşullarına oldukça dayanıklı ve enfeksiyöz olan çevresel sporlar oluşur. Spor duvarı üç tabakadan meydana gelir. Dış tarafı glikoprotein yapısında ekzospore ile çevrilidir. Bunun altında yer alan endospor kitin yapısındadır. En altta ise sitoplazmayı çeviren plazma membranı yer alır. Mikrosporidia çekirdeği, monokaryon ya da diplokaryon şeklinde bulunur (Bigliardi ve Sacchi, 2001). İçerdiği uzun ve kıvrık polar filament, mikrosporidiayı diğer mikroorganizmalardan ayırt etmeyi sağlamaktadır. Polar filamentte yer alan kıvrım sayısı ve oluşumu cins ve türler arasında farklılık göstermektedir. Polar filamentin konağın enfeksiyonunda önemli bir rolü vardır. Uygun koşullarda polar filament, sporun ucundan dışarı atıldıktan sonra enfektif sporoplazmayı konak hücrelerine enjekte eder (Franzen, 1999; Garcia, 2002).

Parazitin tüm evreleri hücre sitoplazmasında gerçekleşir. Erken gelişim evrelerinde dikaryotik çekirdek bulunabilir. Yaklaşık olarak 5-7 kez kıvrılmış polar filamenti mevcuttur (Desportes vd., 1985; Franzen ve Muller, 1999).

Mikrosporidia türleri yaşam döngülerine ve konak-parazit ilişkisine göre birbirinden ayırt edilebilmektedir.

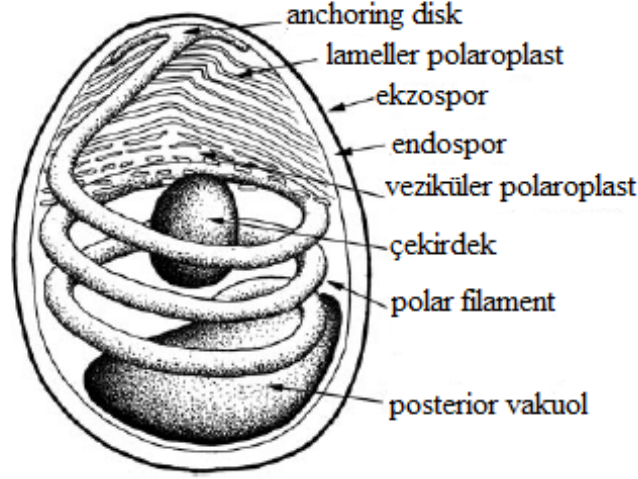
1.5.3. Mikrosporidiaların Morfolojik Özellikleri

Spor: Mikrosporidialar zorunlu hücre içi paraziti olmalarından dolayı konak hücresi dışında metabolik aktivasyon gösterememektedirler (Aksoy ve Usluca, 2007). Ayrıca enfekte sporoplazmasını konak hücre sine enjekte edebilen, tek bir sarmal polar filament içeren, küçük, oval sporları ile özelleşmektedir (Ok ve Limoncu, 2007). Sporların boyutları 1.5-5 x 2-7 µm olmasına rağmen insanı infekte eden türlerde ise genellikle 1.5-3 µm'dir. Sporlar dışta oldukça dirençli olan bir hücre duvarına sahiptirler (Şekil 3). Enfektif formlar tek ya da çift çekirdekli olarak bulunabilmektedir (Canning, 2001). Spor çevre koşullarına oldukça dayanıklı olup, atıldıktan sonra uzun süre enfektif olarak kalabilmektedir. Hayvanlardan atılan sporlar genellikle yiyeceklerle bazen de solunumla alınmaktadır (Elizabeth vd., 2006).

Hücre duvarı: Dışta oldukça dirençli glikoprotein ve kitin yapısındaki ekzospor, içte kitin yapısındaki endospor ve sitoplazmayı çevreleyen plazma membranı olmak üzere üç tabakadan oluşmaktadır. Hücre duvarı sporun dış çevreye olan direncini artırmakta ve içeriğinin enfekte edilen hücre içine boşalması için hidrostatik basıncın artmasını sağlamaktadır (Kahraman vd., 2009).

Polar tüp: Mikrosporidialar polar filamentleriyle karakterizedirler. Polar tüpün helezon sayısı ve düzenlenmesi tür ve cinslere göre değişmekte olup, bu nedenle tür ayırımında kullanılmaktadır. Polar tüp, düz bir kısımla direkt olarak diske (anchoring disc) bağlanır. Polar tüpün kesitsel analizinde 3-20 tabaka açıklanmıştır. Boşaltım sırasında ve sonrasında farklı tabakalara rastlanılmıştır. Polar tüp proteinleri, insan için enfektif olan türler arasında sadece Encephalitozoon türlerinde moleküler yöntemlerle karakterize edilmiş olmakla birlikte fonksiyonları tam olarak saptanamamıştır (Ryan vd., 1993; Pariyakanok ve Jungwutiwes, 2005; Kahraman vd., 2009). Mikrosporidia türlerinin konak hücresi dışında enfektif evreleri bulunmamaktadır. Yaşam döngüsünü tek bir konakta tamamlamakta olduğu ileri sürülmüş, ara konak veya vektör için henüz bir kanıt bulunamamıştır. Uygun konakta ve uygun koşullarda konak hücreye penetre olan parazitin polar tüpü, sporun ön kısmına doğru gelerek konak hücre içerisine sporoplazma boşaltılması ile enfeksiyon oluşturmaktadır (Kahraman vd., 2009). Polar tüpün konak hücreye nasıl penetre olduğu henüz bilinmemekle birlikte bunun için iki görüş ileri

sürülmüştür; ilki, konak hücre membranını delerek, diğeri ise fagositozla içeri girdiği şeklindedir (Aksoy ve Usluca, 2007).



Şekil 1. Mikrosporidia sporu (Patrick vd., 2002).

1.5.4. Mikrosporidiaların Yaşam Döngüsü ve Enfeksiyonu

1.5.4.1. Yaşam Döngüsü

Microsporidia türlerinin yaşam döngüsü üç evreden oluşmaktadır:

1) Merogoni evresi: Proliferatif dönem olup, merontlar ikili veya daha fazla füzyonla çoğalmakta, hücreden diğeri hücreye yayılmakta ve sonuçta sporontlara dönüşmektedir.

2) Sporogoni evresi: Sporontlar gelişmekte ve bazı konak hücrelerinde sporoblastlara dönüşmektedir. Öncü sporlar bu evrede oluşmaktadır.

3) Enfektif evre: Bu fazı oluşturan sporlar konak hücrelerin içinde yer almakta ve çevreye yayılarak yeni konaklara geçişi sağlamaktadırlar (Ok ve Limoncu, 2007). Bu dönemde oluşan sporlar çevresel spor olarak adlandırılmaktadır.

1.5.4.2. Mikrosporidiaların Böceklere Giriş Yolları

Mikrosporidialar çoğu kez böceklere ağız ve sindirim sistemiyle girerler. Sporozoonlar ve özellikle mikrosporlar tarafından oluşturulan enfeksiyonun en muhtemel oluşma durumu böcek yiyeceklerinin sporlarla kirlenmiş olmasıdır. Sporlar yiyeceğin

böcek tarafından yenilmesi ile orta bağırsak cidarından ince bir oyuk oluşturur veya bağırsağın iç kısmını oluşturan hücrelere yerleşirler. Enfeksiyonlu sporoplazma cinsiyeti belli olmayan spor oluşumunun başladığı tüp yoluyla hücre içine doğru ilerler. Spor hasta olmuş böceğin ölümünden hemen önce kusma ya da dışkı yoluyla dışarı atılabilir (Nalçacıoğlu vd., 2008).

1.5.4.3. Mikrosporidia Enfeksiyonunun Yayılım Yolları

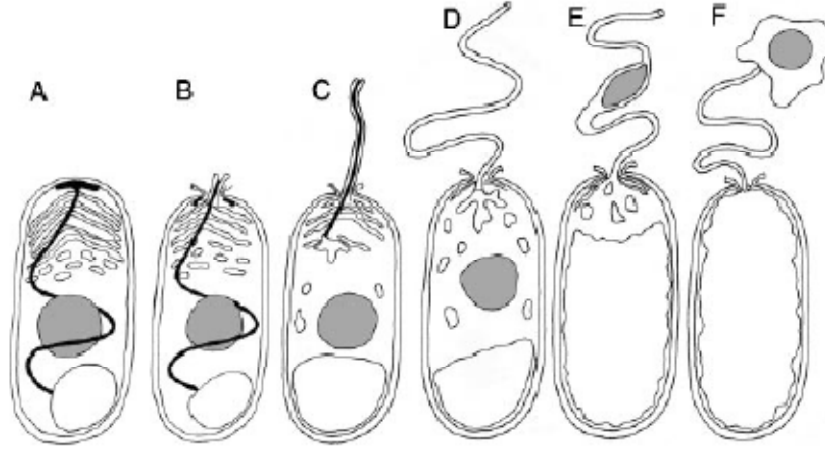
Mikrosporlar iki çeşit yayılım yapabilme özelliğine sahiptirler. Bunlardan biri horizontal (yatay) olarak adlandırdığımız; uçmaya bağlı olarak çiftleşme, dışkı ve beslenme sırasında oluşan yayılımdır. Diğeri vertikal (dikey) olarak adlandırdığımız ki burada esas olan enfekte olmuş embriyonun genellikle ölmüş olmasına rağmen enfekte olmuş yumurta ile oluşan yayılımdır ve nesiller boyu enfeksiyonun iletilmesini, sağlayabilir (Nalçacıoğlu vd., 2008).

Mikrosporidia sporlarının üretimi, spor oluşumu ve kontrollü ardışık olayların son derece hızlı olduğu, membran patolojisinde nadiren rastlanan, yeniden yapılanma içeren olayları ile biyolojinin enteresan ve dikkat çeken olaylarını kapsamaktadır.

Spor üretimi türlerin bulunduğu habitatlara bağlı olarak çevre tarafından tetiklenmesi ile başlamaktadır (Undeen ve Epsky, 1990) fakat bir kısmı çok iyi şekilde anlaşılamamıştır. Dehidrasyon ve onu takip eden rehidrasyon, pH değişimleri, hiperosmotik durumlar, ultraviyole veya peroksitlere maruz kalma gibi fiziksel ve kimyasal teşvik ediciler in vitro koşullarda spor üretimini tetikleyebilirler (Keohane ve Weiss, 1999). Bir spor tomurcuklanma için onarıldığı zaman görülebilen ilk işaret sporun, palaroplastın ve posterior vakuolun şişmesidir (Lom ve Vavra, 1963). Bu durum spor içerisindeki osmotik basıncın artmasının bir sonucudur, fakat bu basıncın nasıl oluştuğu tartışmalı bir konudur. Sporlar suyu sporoplazma membranı boyunca iletebilen porlar ile donatılırlar ki bu durum su girişinin nasıl gerçekleştiğini açıklayabilir. *Nosema algerae*'nin tomurcuklanma sırasında trehaloz damlalarının seviyesinin gözlenmesinden sonra ortaya merak uyandırıcı bir olasılık çıkmıştır (Undeen vd., 1987; Undeen ve Epsky, 1990). Trehaloz doğada yaygın olarak bulunan dissakkarit bir şeker olmakla birlikte mikrosporidiaların önemli bir karbonhidrat deposudur. Mikrosporidiaların spor oluşumu boyunca, glikoz monomerlerini oluşturabilmek için trehaloz seviyesi düşmektedir ve spor içerisinde çözünebilir madde konsantrasyonu artmaktadır. Bu artışın fazla miktarlarda suyun içeriye

alınımını ve tabii sonuç olarak osmotik basıncı artırdığı düşünülmektedir (Undeen vd., 1987; Undeen ve Frixione, 1990; Undeen ve Vander, 1994). Bu açıklanan model etkileyici bir olasılık olmakla birlikte, hücre içinde basıncın oluşturulması içinde yaratıcı bir sistemdir. Ancak spor üretimi boyunca birçok değişen durum oluşmaktadır bu yüzden osmotik basınçtaki artış direkt olarak trehaloz seviyesindeki artış ile ilişkilendirilemez. Örneğin fungus sporları trehalozu öncelikli olarak enerji stoğu olarak kullanmaktan ziyade anti-stres metaboliti olarak kullanmaktadır (Arguelles, 2000). Böyle bir durum mikrosporidialardaki trehaloz seviyesindeki oynayabilir ve tomurcuklanma işleminin yalnızca bir basamağı olabilir. Spor üretimi boyunca membran kırılması hücrenin iç zarından sitoplazmaya iyon geçişine neden olabilir. Bu iyonlarda suyun girişini açıklayabilir. Aynı zamanda bu iyonlar sporoplazmada hipertonic değişimlere sebep olabilecek trehaloz enzimleri gibi enzimlerin aktivasyonunu da sağlayabilirler. Hangi sebeple olursa olsun spordaki osmotik basınç artar ve bu artış tomurcuklanma olayının bir sonraki basamağını harekete geçirir.

Sporun iç basıncı ve sporoplazmik membranlara ayrılması, polar filamentin sabitleyici disk ile ilişkisinin kesilmesi ve ters dönerek çıkması ile sonuçlanmaktadır. Ters dönme işlemi sporun uç noktasında başlar ve polar filament sporun en ince bölgesinden sporu kırar. Filament döndüğü için bir tüp oluşur ve bu tüp sporoplazma içerisinde iken etrafı granüller ve glikoproteinimsi materyaller ile çevrelenir (Keohane ve Weiss, 1999). Dışarıya çıkan polar tüpün uzunluğu 50-500 µm arasında değişmektedir. Bu polar tüp bir filamentin dış kısımdan sporoplazma ile çevrelenmesi ile oluşmaktadır (Şekil 4).



Şekil 4. Spor üretimi boyunca sporun ters dönmesi. A. Hareketsiz sporda polar filament (siyah), nukleus (gri), polaroplast ve posterior vakuol. B. Polaroplast ve posterior vakuolun şişmesi, sabitleyici diskin kopması, polar filamentin ortaya çıkması ve ters dönmesi. C. Polar filamentin ters dönmeye devam etmesi. D. Polar filamentin tam olarak ters dönmesi ve sporoplazmanın ona doğru baskılanması. E. Sporoplazmanın bir membran ile çevrelenerek polar tüpün etrafında oluşması (Patrick vd., 2002).

Polar tüp fırlatılabilir bir yapıdır ve eğer yakınlarında konak hücre bulunursa dışarıya çıkmış olan tüp bu konak hücreye çarpabilir ve hücrenin membranını delebilir. Polar tüp dışarıya çıktığı zaman, hücre içerisinde devam eden basınç sporoplazmayı da polar tüpe doğru zorlar. Polar tüp 0,1-0,25 μm çapında değişen dar bir kanal olmasına rağmen, sporoplazma tüpün yalnızca 15-500 ms'lik gibi bir alanında oluşmaktadır (Frixione vd., 1992). Polar tüp konak hücre içerisine girdiğinde konak hücrenin stoplazması ile birleşir ve böylece konak hücre paraziti yabancı bir cisim gibi algılamaz ve enfeksiyonu gerçekleştirir. Sporoplazma membranı boş bir tüpün içerisine bırakıldığı için, bu olay spor tomurcuklanmasını çevreleyen membran hakkında merak uyandırıcı sorular ortaya çıkarır.

Spor konak hücre içerisine girdiğinde, meront olarak isimlendirilir, büyüme ve bölünme evrelerine başlar. Genellikle parazit direk olarak diğer hücreyi parazitik durumlarda olduğu gibi fagositozik vakuolde değil de konağın sitoplazmasında görülmektedir. Bu aşamada parazit konak ile çok yakın ilişki içerisinde ve bu safhada genellikle konağa çok fazla zararı olmayan değişimlere sebep olmaktadır (Vavra ve

Larsson, 1999). Bazı mikrosporidia örneklerinde konağın çekirdeği ile yapılan fiziksel etkileşimler, konağın çekirdek porlarının büyümesi ile veya konağın çekirdeğinin kendi kendine enfeksiyonu ve işgali ile de sonuçlanabilir (Hendrick vd., 1991). Mikrosporidia enfeksiyonlarında sıklıkla konak hücre genişleyerek şekil ve büyüklüklerinde değişiklikler meydana gelir (Weissenberg, 1976).

Bazı türlerde sporongonynin başlangıcı diplokaryotik çekirdeklerin ayrılması ile dikkat çekmektedir (Cali ve Takvorian, 1999). Endoplazmik retikulum, ribozom oranlarındaki artış ve plazma membranındaki belirgin kalınlaşma sporongony safhasının belirgin değişiklikleridir. Sporongony boyunca endoplazmik retikulum ve ribozom organizasyonları değişir ve poliribozomları oluştururlar (Vavra ve Larsson, 1999). Sporongony konağın sitoplâzması ile direk konak halinde gerçekleşirken, bazı türlerde sporongony için vesiküller oluşturulur. Bölünme işleminden sonra polar filament, polaroplast ve posteriordan oluşan aparat geliştirilir. Daha önce yapılan gözlemlerde golginin polar filamentin oluşumuna neden olduğu düşünülmekteydi ve yapılan histokimyasal analizler sonucunda bu fikir doğrulandı (Takvorian ve Cali, 1994). Enfeksiyon aparatının oluşumunun tamamlanmasına yakın sporoblast olgunlaşmaya başlar, hücreler büyür ve kitinden oluşan endospor tabakası gelişir. Tüm bu işlemler tamamlandığında olgun spor salınır. Sporlar çevreye konağın dışkısı ve ayrışması gibi alternatif yollarla salınabilir ve diğer konakları enfekte edebilirler.

1.5.5. Mikrosporidia Türlerinin Ortak Özellikleri

Mikrospor türlerinin büyük bir bölümü ortak özelliklere sahiptir. Horizontal taşınmadan sorumlu çevre koşullarına dayanıklı sporlar üretirler. Enfekte edilen böcek tarafından üretilen sporlar, böcek dışkısında veya kozada daima mevcuttur, enfekte böcek öldüğü zaman serbest kalırlar. Çevreye salınan dayanıklı sporlar duyarlı konakçı böcek tarafından yenildiği zaman, açılmaya hazır sporlar özel polar tüp olarak adlandırılan bir organa gönderilir, oradan böcek içerisindeki orta bağırsak epitelyumuna iletilirler ve enfeksiyon başlar. Mikrosporlar enfekte edilmiş dişi böcekten döllerine ya da yumurta içerisine veya yumurta yüzeyine transfer edilebilirler. Bunun yanı sıra mikrosporlar enfekte olmuş bir konakçıdan sağlıklı bir ferde eşleşme yolu ile de transfer edilebilirler (Nalçacıoğlu vd., 2008).

1.5.6. Mikrosporların Çevresel Dayanıklılıkları

Mikrosporların varlıkları ve çevredeki adaptasyonları nemlilik, pH, kuraklık, rüzgâr, güneş ışınları, sıcaklık ve besin miktarı gibi fiziksel özelliklere bağlıdır.

1.5.6.1. Nemlilik

Aşırı kuraklık genelde birçok mikrospor türüne zarar verirken aşırı soğukların da bazı mikrosporidia sporlarına benzer şekilde zarar verdiği görülmüştür. *Nosema whitei*'nin sporlarının un içinde kuru spor olarak bir yıldan daha uzun bir süre canlılığını muhafaza ettiği tespit edilmiştir. Bu sporlar su içerisinde çimlenmelerine rağmen, polar filamentleri bozulur ve böylece enfeksiyon özelliğini kaybederler. Su genellikle sporların çimlenmesini uyarıcı bir etki gösterir (Nalçacıoğlu vd., 2008).

1.5.6.2. pH'ın Etkisi

Ortamın pH'sı mikrosporodyum sporlarının çimlenmesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Bununla birlikte sporların çimlenmesi yalnız pH'ın ortaya çıkmasıyla oluşmaz diğer bazı etkilere de ihtiyaç gösterir (Nalçacıoğlu vd., 2008).

1.5.6.3. Rüzgâr

Mikrosporidian sporlarının hayatta kalma süreleri üzerinde rüzgârın etkisi direkt olarak araştırılmamıştır. Fakat rüzgâr dolaylı olarak birçok yönüyle sporları etkileyebilir. Mikrosporidian sporları tarafından enfekte edilen böceğin dışkısında çok miktarda spor mevcuttur. Enfekte olan böceğin dışkısında bulunan sporların yayılması ve çevreye saçılması işleminde rüzgâr rol alabilir (Nalçacıoğlu vd., 2008).

1.5.6.4. Besin

Böceğin konakçısı olan bitki ile etkileşimi muhtemelen mikrosporidiaların konakçısı olduğu böceği enfekte etmesini etkileyebilir. Konakçı bitki ile entomopatojen bakteri ve virüslerle olan etkileşim birçok çalışmaya konu olmakla birlikte, üzerinde konakçı olan böceğin bitkiden beslenmesi ile böceğin konakçısı olan mikrosporidian enfeksiyonunun etkileşimi çoğu zaman ihmal edilmiştir (Nalçacıoğlu vd., 2008).

1.5.6.5. Güneş Radyasyonu/Güneş Işınları

Doğrudan gelen güneş ışınları karşısında birkaç saat içinde tüm mikrosporlar sporlarının koruyamazlar ve ölürlür. Örneğin, *V. necatrix* türü bir lam üzerinde doğrudan güneş ışığına maruz kaldığında iki saat içinde ölmektedir (Nalçacıoğlu vd., 2008).

1.5.6.6. Sıcaklık

Yüksek sıcaklığın mikrosporların böcek kolonilerinde mikrosporidium enfeksiyonunu azalttığını gösteren birçok çalışma vardır. Vücut dışı sporlar genelde kuru sporlar içerdiklerinden yüksek sıcaklık kuru etki gösterir. Genelde yüksek sıcaklığın kuruluk etkisi gösterdiği ve sıcaklığın emilimi arasındaki fark ayırt edilemez. Birçok mikrosporidium türünün yüksek sıcaklığa karşı toleransı zamana bağlı olarak değişmektedir. Örneğin kuru *V. necatrix* sporlarının 3 hafta boyunca 40°C sıcaklıkta canlılığını sürdürdüğü, fakat 50°C'de yalnızca 5 saat ve 60°C'de 30 dakika canlı kaldıkları belirtilmiştir. Bununla beraber 35°C'de 144 saat canlılıklarını koruyabilmektedirler. Bunun sebebi de konakçısının zarar verdiği bitki yapraklarının nemli bir ortam oluşturması sonucunda sıcaklığın etkisinin azaltılmasıdır. Genel olarak farklı türdeki mikrosporidium sporları sıfırın üzerindeki düşük sıcaklıklarda çok farklı cevap vermektedir. Örneğin karasal kökenli böceklerden izole edilen çoğu mikrosporidiumların 2 ile 5°C steril su içerisinde birkaç yıl canlı kalabildiği not edilmiştir. *Nosema bombycis* türünün sporları 10 yıl süreyle canlı kalmakta fakat suyun iyon konsantrasyonunun bozulması durumunda bu süre ancak 3-5 aya inmektedir. Buna karşılık sucul böcek mikrosporidiumları düşük

sıcaklıkta uzun süre depolanamazlar. Bununla birlikte sıfırın altındaki sıcaklıklarda karasal böcek mikrosporidiumları canlılığını korurken sucul böcek mikrosporidiumları koruyamaz.

Bazı durumlarda enfeksiyon sonucunda ölen böcekler, konakçısı olduğu bazı mikrosporidium sporlarını mevsimsel olarak çevrenin olumsuz etkilerinden; radyasyon, sıcaklık, soğuk ve benzeri etkilerden korurlar. Kışı böcek ölüsü içinde geçiren mikrosporlar olumlu koşullar olunca diğer sağlıklı böcekleri enfekte ederler (Nalçacıoğlu vd., 2008).

1.6. Mikrosporidiaların İzolasyonu ve Laboratuvar Tanısı

Mikrosporidiaların sporları, kötü fiziksel koşullara oldukça toleranslı olmalarından dolayı dokulardan kolay saflaştırılırlar. Mikrosporidia sporlarıyla enfekte edilmiş ve sonucunda spor üretiminin gerçekleştiği organizma veya dokular bir el havanı veya blender vasıtasıyla parçalara ayrılarak öğütülür. Ezilmiş dokuların süspansiyon edilmesinde genellikle steril veya deiyonize su kullanılır. İzole edilecek sporların kontaminasyonla karşı karşıya kalmaması için musluk suyunun kullanılması sakıncalıdır. Sporlar da bir *E. coli* hücresi gibi kolayca kırılabilir ve narin olduklarından blender gibi parçalayıcı aletlerin kullanılması onlara zarar verebilir. Bu nedenle, mekaniksel zarar verebilecek durumlarda daha dikkatli muamele edilmelidir. Su içerisinde ezilmiş doku veya organizmalardan çok sayıda spor serbest kalır ve su ile teması, yani suyun varlığını hissettikleri zaman su sporların çimlenmesi için bir uyarı olduğundan birçok spor çimlenir. Bundan dolayı dokuların içinde bulunduğu su seviyesi ve miktarı iyi ayarlanmalıdır. Amonyak *N. algerae* gibi bazı sporların çimlenmesini inhibe eden güçlü bir maddedir. Böylece spor ekstraksiyonu yapılırken istenmeyen spor çimlenmelerini önlemek için pH 9.0 ve molaritesi 0,001-0,05 olan amonyum klörür çözeltisi kullanılır. Bunun yanında spor çimlenmesi soğuk hava tarafından da engellenir. Askorbik asitte sporlara zarar verebilir. Enfekte ölü konaktan spor saflaştırması yapılırken konak bünyesinde özellikle bağırsakta ve diğer kısımlardaki kontaminantlardan sakınarak sporlar hasat edilmeli, bunun için de konağın tümünü değil de sadece sporla enfekte olmuş doku veya organlar konaktan diseksiyon edilmelidir. Böylece sadece sporların yoğun olduğu kısımlar alınır ve daha fazla sayıda spor elde edilir. Bazı sporlar çoğu kez konak canlılığının yağ dokusunda enfeksiyon yapar bu çeşit dokular su ile tam uyum sağlayamadığından doğal olarak spor saflaştırması az olur. Bunun için bu dokular ezilmeden önce yağ çözücü maddelere tabi tutulmalıdır.

Saflaştırma genellikle seri şekilde filtreden geçirme ve santrifüj ile çöktürme ile başarılıdır. Laboratuvar tipi filtre kağıtları, tülbent veya diğer dokuma bezleri sporları konağın istenmeyen doku ve kaba partiküllerinden ayırmaya yarar. Konak organizmanın belirli küçüklükteki parçaları, göz açıklığı ile 2 ile 5 mm olan kumaşlardan geçirilir. Bu dağılmış parçacıklar enjektörle basınç uygulanarak filtreye doğru püskürtülür. Büyük partiküller filtre tarafından tutulur. Bu işlem bazı sporlar için uzun sürebilir. Bu yüzden işlemlerin sabırla yürütülmesi iyi olur. Eğer filtrasyon sıvısından ağır ve büyük partiküller uzaklaşmamış ise düşük bir santrifüj ile bu giderilir. Süpernetant sıvısının temiz su ile iki üç kez yıkanması iyi olur, böylece koloidal ve çözülmüş kontaminantlar atılmış olur. Yıkama sıvıları spor varlığı, mikroskop ile kontrol edildikten sonra atılır.

Mikrosporidian sporlarının spor solüsyonları çok yoğundur, bu yüzden seri yıkama ve santrifügasyon ile çözülmüş ve istenmeyen maddeler çıkarılır. Fakat kontaminasyon kaynağı olan küçük parçacıklar solüsyonda kalır. Süspansiyon içindeki spor yoğunluğu gerçekten diğer maddelerden fazladır. Süspansiyon santrifüj edildikten sonra üstteki süspansiyon alınır ve başka bir kaba boşaltılır, dipteki pellet basınçsız su ile yıkanır. Sporlar süpernetant ve su içindedir. Bu işlem birkaç kez tekrarlanır. Eğer spor kaybı önemli değilse birkaç kere tekrar su ile yıkamaya devam edilebilir. Böylece temiz bir spor süspansiyonu elde edilmiş olur. Çeşitli santrifügasyon metotları kullanarak saf sporlar elde etmek mümkündür (Nalçacıoğlu vd., 2008).

Mikrosporidialar böcek dokularında Giemsa boyasıyla boyanarak görünür, elektron mikroskobu tekniği de mikrosporidiumların kesin ve net olarak tanınmasında kullanılabilir.

Giemsa boyama: Bu boyama yöntemi sporların belirlenmesi açısından yeterli duyarlılığı sağlamamakla birlikte gelişme evrelerini gösterebilmektedir (Ok ve Limoncu, 2009). Giemsa boyama ile sporlar açık mavi renkte görünmektedir (Garcia, 2002).

Elektron mikroskopisi (*TEM*): TEM ile parazitin tüm evreleri görülebilmekte, vücut sıvılarında ve dışkıda ise yalnızca sporlar saptanabilmektedir. Bu yöntem ile parazitin polar filamentinin ince yapısı ortaya konulabilmektedir (Garcia, 2001). Günümüzde TEM, moleküler yöntemlerin uygulanmadığı laboratuvarlarda tür saptamasında altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir (Ok ve Limoncu, 2007).

1.7. Mikrosporidiaların Orman Lepidopterleri Arasındaki Yaygınlığı

Muhtemelen mikrosporidiaların orman lepidopterlerinde bulunma oranı yayınlanan bildirilerden çok daha fazladır. Bunun sebebi ise mikrosporidia enfeksiyonunun çok sayıda bireyin ölmesi ile sonuçlanan fungus ve virüs enfeksiyonundaki gibi dikkat çekici boyutlarda olmamasıdır. Böylece onların populasyon dinamiğindeki rolleri genellikle tanınmamaktadır. Tablo 2’de mikrosporidia bulunduğu yayınlanan böceklerin listesi ve Tablo 3’de ise *Lymantria dispar*’dan izole edilen mikrosporidialar ve kır tırtılıının toplandığı ülkeler verilmiştir.

Nosema grubu: Genellikle omurgasızlarda görülmektedir. Gelişimlerini konak hücre sitoplazması içinde gerçekleştirirler. Çekirdekleri tüm evrelerinde iki parçalıdır. Hem merogonik hem de sporogonik evrelerinde ikiye bölünerek çoğalırlar. Polar tüpünde 10-12 burğu bulunmaktadır. Sporlar oval ve 4 - 4.5 x 2 - 2.5 µm boyutlarındadır (Franzen ve Müller, 1999). Orman lepidopterlerinden izole edilen veya tanımlanan mikrosporidiaların büyük bir kısmı Nosema sınıfında bulunmaktadır (Baker, 1994).

Tablo 2. Mikrosporidia izole edilen orman böceklerinin listesi (Maddox vd., 1998).

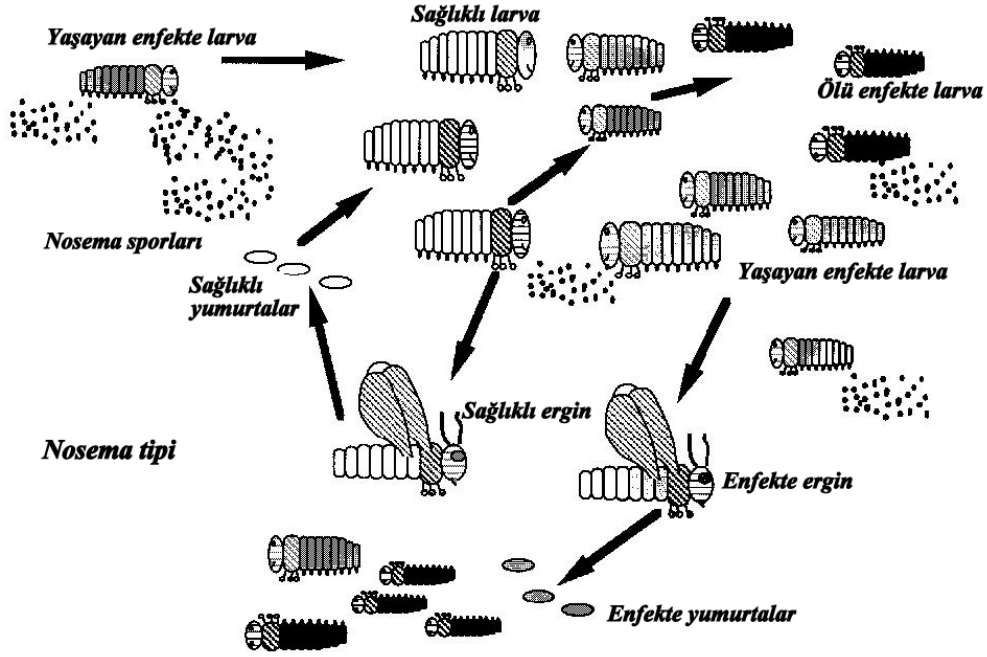
Tür adı	Referans
<i>Euproctis chrysorrhoea</i>	Puruini ve Weiser (1975)
<i>Malacosoma americanum</i>	
<i>Hyphantria cunea</i>	Weiser ve Veber (1975)
<i>Malacosoma disstria</i>	Thomson (1959)
<i>Tortrix viridana</i>	Lipa (1976), Franz ve Huger (1971)
<i>Pristiphora erichsoni</i>	Smirnoff (1966), Quednau (1968)
<i>Choristoneura conflictana</i>	Wilson ve Burke (1971)
<i>Choristoneura fumiferana</i>	Thompson (1958)
<i>Archips cerasivoranus</i>	Wilson ve Burke (1978)
<i>Operophtera brumata</i>	Canning vd. (1983)

Tablo 3. Kır tırtılı *Lymantria dispar*'dan izole edilen mikrosporidialar ve kır tırtılının toplandığı ülkeler (Maddox vd., 1998).

Microsporidia türleri	Ülke	Referans
<i>Nosema lymantriae</i>	Çekoslovakya	Weiser, 1957
<i>Nosema lymantriae</i>	Yugoslavya	Sidor, 1979
<i>Nosema muscularis</i>	Çekoslovakya	Weiser, 1957
<i>Nosema muscularis</i>	İspanya	Romanyk, 1966
<i>Nosema muscularis</i>	Sovyet Sosyalist Cumhuriyetleri Birliği, Ukrayna	Zelinskaya, 1981
<i>Nosema serbica</i>	Yugoslavya	Weiser, 1964
<i>Nosema serbica</i>	Sovyet Sosyalist Cumhuriyetleri Birliği, Ukrayna	Zelinskaya, 1981
<i>Thelohania disparis</i>	-	Timofejeva, 1956
<i>Thelohania similis</i>	Çekoslovakya	Weiser, 1957a
<i>Vavraia schubergi</i>	Çekoslovakya	Weiser, 1964
<i>Vavraia schubergi</i>	USSR, Ukrayna	Zelinskaya, 1981
<i>Nosema sp.</i>	Portekiz	Cabral, 1977

Nosema grubu her bir sporondan iki sporun üretimi ile karakterize edilmektedir. Bu sporlar tekil olarak üretilirler ve bir zar ile çevrelenmezler. Bu sınıfta enfeksiyonun ve çevresel sporun tek şekli vardır ki: bu sporlar 2 çekirdek içerir. Yaşam döngüsü en basit olanlardan biridir ve kolayca anlaşılabilir. Bağırsak, malpigi tüpü, yağ dokusu, gonadlar ve kaslar gibi konağın birçok dokusunu enfekte edebilmektedirler. Şekil 5'de gösterildiği gibi çevresel sporlar yaşayan enfekte konağın ipek bezinden veya dışkısından salınmaktadır. Enfekte olmuş larva öldüğünde ve sporların enfekte olmuş dokulardan yayılmasına izin veren vücut bozulması gerçekleştiğinde de sporlar çevreye salınabilirler.

Nosema türleri kısmen patojeniktir ve göreceli olarak birkaç spor enfeksiyonun başlaması için, yüksek dozlar ise larval ölüm için gereklidir. Şekil 5'de *Nosema* tipi mikrosporidiaların nasıl transfer edildiği ve hangi durumlarda ölümlerin olduğu gösterilmiştir. Enfekte edilmiş larva olgun birey haline gelebilmektedir. Bu şekilde enfekte olmuş dişi larvalar mikrosporularını yavrularına transfer ederler. Transmisyon bir larvadaki diğerine horizontal transmisyon şeklinde ve genellikle enfekte olmuş dışıdan yavrusuna geçmek suretiyle vertikal olmak üzere her iki şekilde de gerçekleşebilmektedir. Yumurtalar yolu ile gerçekleşen enfeksiyon sporların sindirilerek enfekte olduğu durumdan daha fazla ölüm oranı göstermektedir.



Şekil 5. Nosema tipi mikrosporidia ve onun konakla olan ilişkisinin şematik gösterimi (Maddox vd., 1998).

Bulaşıcı sporların salınımı yaşayan larvaların dışkıları ve ipek bezi ile ölü enfekte larvalardan da vücutlarındaki sporların çevreye salınması ile gerçekleşmektedir. Bu bulaşıcı sporlar kışı larval habitatta geçirmektedirler.

Bu mikrosporidiaların öldürücü düzeyin altındaki etkileri de çalışılmıştır fakat şüphesiz ki orman lepidopterlerinin birçok türü üzerinde harika bir etkiye sahiptir (Gaugler ve Brooks, 1975). Zamanla enfekte edilen larvaların sağlıklı larvalara oranla daha yavaş geliştiği gözlenmiştir. Larvaların ve yetişkinlerin hareketleri, ışığa karşı cevap gibi davranışları enfeksiyon tarafından etkilenebilmektedir. Enfeksiyonun çiftleşmeye, davranışlara, feromon üretimine, sperm üretimine ve transferine etkisi olabilmektedir.

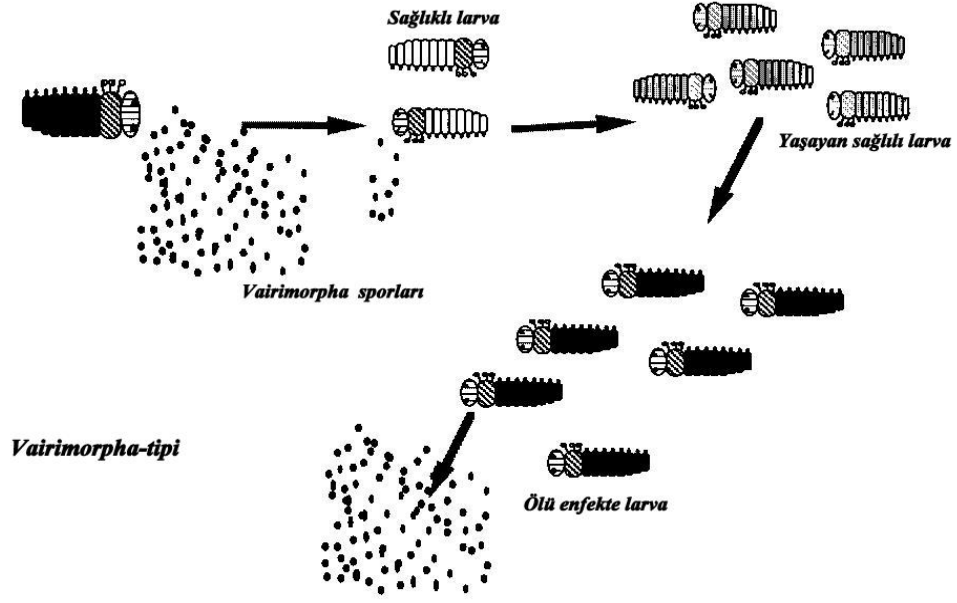
Nosema tipi mikrosporidialar konaklarının tüm gelişim evrelerinde etkili oldukları için, konak popülasyonunun kırılması üzerinde önemli bir etkiye sahiptir, fakat enfeksiyon yaygın olmadığı ve herhangi bir evresinde sıra dışı ölümlere sebep olmadığı için, genellikle doğal düşmanlara karşı üretilen pest komplekslerinin önemli bir parçası olarak tanınmazlar. Diğer birçok patojenin aksine mikrosporidia etkisinin yoğunluğu,

mikrosporidianın generasyon boyu horizontal transmisyon yolu ile gerçekleştirebilir, çünkü en yüksek oranlarda ölüm enfekte olmuş larvaların yavrularında gözlenmektedir.

Vairimorpha grubu: Vairimorpha grubundaki mikrosporlar filogenetik olarak Nosema grubundakilere benzemelerine rağmen, yaşam döngüsü ve konak-patojen ilişkisi Nosema türlerinden farklılık göstermektedir (Baker, 1994). Vairimorpha grubundaki bütün türler 2 tip çevresel spor üretmektedirler. Bu türdeki mikrosporidialar Nosema türlerinin yaşam döngüsüne ek olarak farklı tipte sporlara sahiptirler. Bu sporlardan biri tek çekirdek ihtiva ediyorken, diğeri zarla çevrili 8 spor ihtiva etmektedir. Tek çekirdekli bu sporların haploid oldukları düşünölmekle beraber, horizontal transmisyondaki rolleri tam olarak anlaşılamamıştır.

Vairimorpha grubundaki türler diğeri iki grubun üyelerine göre daha patojeniktir. Bu gruptaki sporlarla enfeksiyonun başlayabilmesi için çok az sayıda spor yeterlidir. Şekil 6'da Vairimorpha tipi mikrosporidiaların nasıl transfer edildiğı ve hangi evrede enfeksiyonun gerçekleştiğı gösterilmiştir. Bu türün sporları enfekte olmuş larvanın silk glandında ya da dışkısında olabilirde olmayabilirde fakat olduğı durumlarda da Nosema tipi sporlara kıyasla daha az sayıda bulunmaktadırlar. Bu türün sebep olduğı enfeksiyonlarda yağ dokusu enfeksiyonun başladığı ilk bölgedir. Enfeksiyonun ilerleyen zamanlarda diğeri konak dokularının enfekte olabilmesine karşılık enfeksiyonun en yoğun olduğı bölge yine yağ dokusudur. Bu nedenle Vairimorpha sporları Nosema tipi enfeksiyonlarda gerçekleştiğı gibi, enfekte edilmiş larvanın gelişim evreleri boyunca çevreye yayılmazlar. Çevresel sporların salınımı yalnızca konak öldüğü zaman gerçekleşmektedir. Sonuç olarak bu türün enfeksiyonunda horizontal transmisyon zayıftır. Bunun sebebi ise, sağlıklı larvanın enfekte olan larva ölene ve sporları etrafa yayılana kadar herhangi bir çevresel sporla karşılaşamamasıdır. Bu sınıfta vertikal transmisyon olmasına rağmen genellikle düşük oranlarda seyretmektedir. Bu sebeple enfekte dişilerin meydana getireceğı enfekte yavru oranı Nosema tipi enfeksiyondan daha yüksek ve önemlidir (Moddox, 1998).

Bu türün öldürücü düzeyin altındaki etkileri tam olarak bilinmemekle beraber, daha patojenik oldukları için Nosema tipi mikrosporidialardan daha düşük olduğı tahmin edilmektedir.



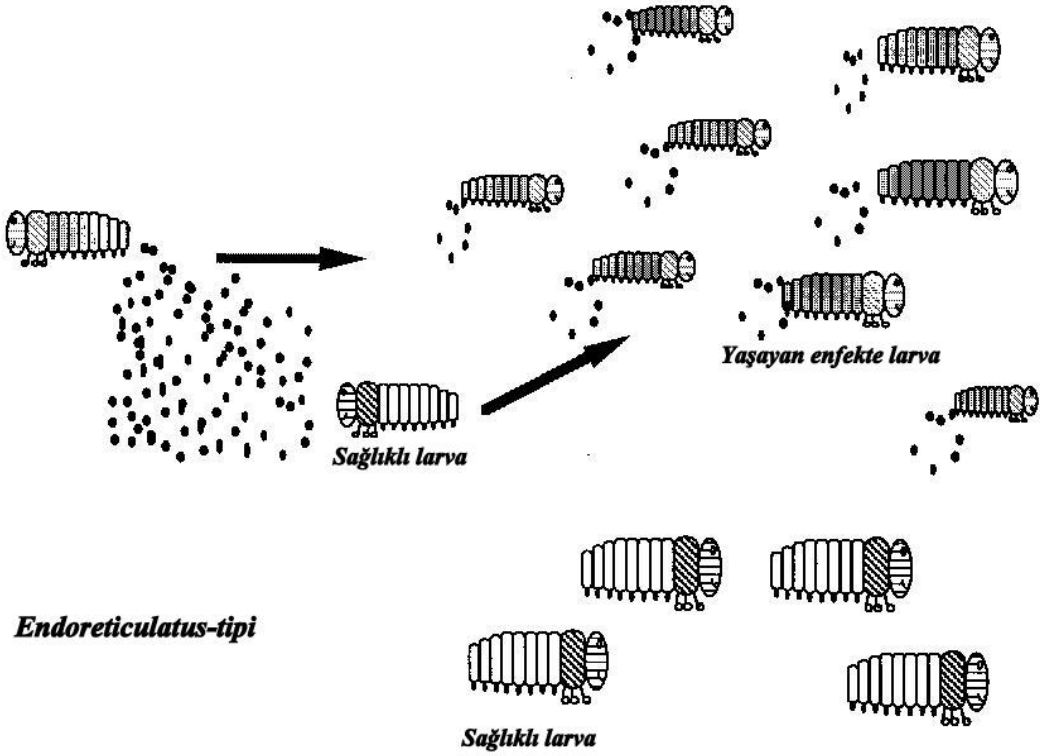
Şekil 6. Vairimorpha tipi mikrosporidia ve onun konakla olan ilişkisinin şematik gösterimi. Sağlıklı larvalar enfekte olan larvalardan salınan sporlarla enfekte olurlar (Maddox vd., 1998).

Vairimorpha türleri *Nosema* türlerine göre daha patojenik olmasına rağmen, nuklear polyhedrosis virüs enfeksiyonu örneğinde olduğu gibi çok fazla göze çarpan salgın durumu ender olarak görülmüştür. Bu durum larva öldükten sonra, larvanın tam olarak ayrışması, sporların yapraklara ve ağacın diğer yapılarına yayıldıktan sonra sağlıklı bireye geçmesi vasıtasıyla enfeksiyonun başlaması ile açıklanabilir. *Vairimorpha* türleri bitkiler üzerinde çok fazla spor bırakabilir fakat bu sporlar ölen larvanın vücut dokularında kaldığı ve tam anlamıyla ayrıştırılmadığı sürece çevresel spor salınımı gerçekleşemez ve durum *Vairimorpha* türlerinin salgın durumunun nadir olarak gözlenmesinin açıklaması olabilir (Moddox vd., 1998).

Sporlar çok nadiren enfekte larvanın dışkısında ve ipek bezinde bulunur. *Vairimorpha* türlerinin birçoğu çok patojeniktir: larval evre boyunca enfekte olan bireyler genellikle ölürlere nadiren enfekte ergine dönüşürler. Enfekte olmuş bu erginler ise genellikle larva olarak ölür.

Endoreticulatus grubu: Endoreticulatus sınıfındaki mikrosporidia türleri *Nosema* ve *Vairimorpha* türlerinden çok farklıdır. Yaşam döngüsü, düşük patojenik özellik, enfeksiyonun bağırsak epitelinde sınırlı olması ile diğer iki gruptan farklı filogenetik özellikler göstermektedir. Şekil 7’de *Endoreticulatus tipi* mikrosporidia transmisyonunun nasıl olduğu ve hangi evrede ölümcül olduğu gösterilmektedir.

Endoreticulatus grubundaki mikrosporidialar yalnızca tek çekirdekli şekilde tek spor tipine sahiptirler. Sporlar bir zarf ile çevrilidir ve 16 spor ihtiva eder. Örnek olarak orman Lepidopterlerinde sıklıkla rastlanan *Endoreticulatus schubergi* yumurta aracılığı ile transfer edilmez ve enfeksiyon yalnızca bağırsak epiteli ile sınırlıdır. Ancak sporlar yumurta yüzeyleri ile transfer edilebilirler.



Şekil 7. *Endoreticulatus* tipi mikrosporidia ve onun konakla olan ilişkisinin şematik gösterimi. Sağlıklı larvalar enfekte larvaların dışkılarında bulunan sporları sindirerek enfekte olurlar. *Endoreticulatus* tipi mikrosporidialar tarafından gerçekleştirilen enfeksiyon çok düşük oranlarda ölüme sonuçlanır. Enfekte olmuş larva sağlıklı larvalara göre daha yavaş gelişir ve larval gelişimi boyunca spor ihtiva eden dışkı üretir (Maddox vd., 1998).

1.8. Mikrosporidiaların Orman Zararlısı Lepidopterlerde Biyolojik Kontrol Ajanı Olarak Kullanılabilme Potansiyeli

Avrupa'da *Ostrinia nubilalis* yani mısır bitinin *Nosema pyrausta* veya *Nosema fumiferanae*'nin lepidoptera üyesi konaklarının yoğunluğunu azaltma yönündeki potansiyelleri, araştırmacılara bu patojenlerin bio-kontrol ajanı olarak araştırılması yönünde esinlendirmiştir. Mikrosporidiaların konak böcekteki in-vivo üretim koşulunda hastalığın yavaş ilerlemesi biyolojik pestisid olarak kullanımını kısıtlamaktadır fakat mikrosporidiaların klasik biyolojik kontrol tipi olan inokülatif salınım şeklindeki kullanımına olanak vermektedir. Kır tırtılına karşı bu yöntem uygulanarak bazı çalışmalar yapılmıştır. Örneğin Orta Avrupa'da Lepidopterler tarafından zarar gören ağaçların yaprakların mikrosporidia spor süspansiyonu püskürtülerek çalışılmıştır (Weiser ve Novotny, 1987). *N. portugal*'da salınan bir mikrosporidianın salınımın yapıldığı ertesini yılki larvalarda var olduğu doğrulanmıştır (Jeffords, 1989).

Mikrosporidia Avrupa'da kır tırtılı popülasyonu üzerinde doğal düşman kompleksinin tamamlayıcı bir parçasıdır ve enfeksiyon genellikle enzootic seviyede gerçekleşir. Mikrosporidianın doğal düşman komplekslerinde oranının artırılması bu ilaçların etkisini artırmak için değerli katkılarda bulunabilir. Ayrıca mikrosporidia ve onun konağı *L. dispar* değerli bir model sistemdir. Konak patojen ilişkileri bu modelden öğrenilerek diğer orman zararlısı Lepidopterlere karşı kullanılabilir. Zararlı böcek gruplarının bazı üyeleri mikrosporidia enfeksiyonunun yayılmasına yardımcı olabilir çünkü larvaları toplu halde gezmeyi severler, dinlenmek ve deri değiştirmek için alana sahip olabilmek adına büyük ipekler örürler ve bu ipekleri ağaç üzerinde yön bulmak için takip ederler. Bu durumda mikrosporidianın horizontal transmisyonunu yardımcı olur (Hoch vd., 2008).

Bugün dünyada *Nosema locustae* çekirge türlerinin malpighi tüplerini ve yağ dokularını enfekte etme yeteneğine sahip tek ticari preparatı bulunan mikrosporidia türüdür (Canning, 1953). *N. locustae* çekirgelerin vücudundaki yağ dokuları enfekte ederek konağın enerji rezervlerini kullanarak zarar vermektedir (Johnson, 1997). Çekirge türlerinin malpighi tüplerini ve yağ dokularını enfekte etme yeteneğine sahip dünyada tek ticari preparatı bulunan mikrosporidia türüdür (Canning, 1962). Çekirge vücudunda yağ dokularını enfekte ederek konağının enerji rezervlerini tüketmektedir. Ayrıca konak yaşamını ve davranışını etkilemektedir (Johnson, 1997). *N. locustae* uygulanan alanlar gözlemlenmiş ve bu alanda uygulamanın başarılı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu

bölgeye zarar veren yakın akraba çekirge türlerinin popülasyonlarında büyük oranda azalmalar meydana geldiği gözlemlenmiş ve bir yıl gibi bir sürede bu pestisitinin etkisinin yüksek olduğunu rapor edilmiştir (Lange ve Lantari, 1999).

1.9. *Nosema* Türlerinin Lepidopterlere Olan Spesifikliğı

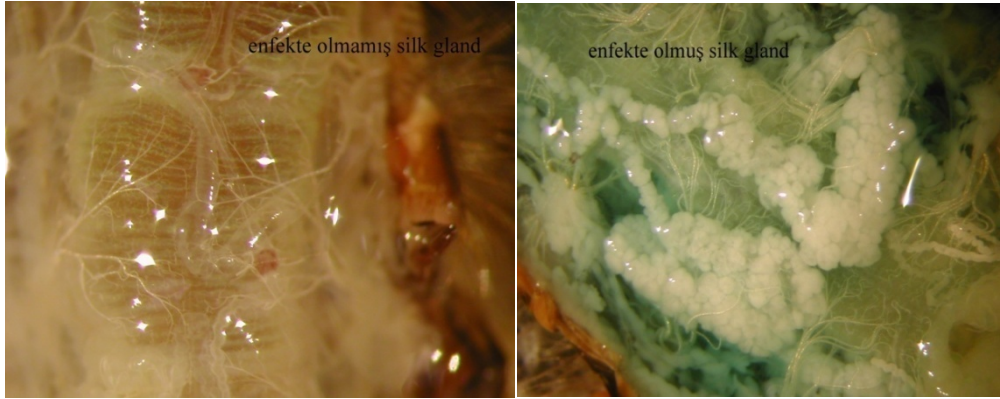
Entomopatojenikler zararlı böcek popülasyonlarının kontrolü için önemli biyolojik kontrol ajanlarıdır (Anderson ve May, 1981; Maddox, 1987). Ancak böcek patojenleri, böcek parazitoid ve predatörlerinin aksine klasik biyolojik kontrol ajanı olarak daha nadir kullanılmaktadırlar. Bunun birkaç sebebi olmasına rağmen en önemli sebep konak spesifikliğıdir (Howarth, 1991; Lockwood, 1993; Miller ve Aplet, 1999). Öncelikle bilinmesi gereken nokta mikrosporidiaların bitkileri enfekte etmemesidir. Yabancı olan patojenlerin kendileri ile aynı ortamda bulunan ve hedeflenmeyen canlıları enfekte edip etmeyeceğı en önemli sorudur. Laboratuvar koşullarında çalışılan ve sonuçlanan konak spesifikliğı çalışmaları doğa koşulları ile aynı sonuçları vermemektedir. Bazı mikrosporidiaların doğaya salınmadan önce gerçek konak spesifikliğinin belirlenmesi için bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada biyolojik kontrol ajanlarının konak spesifikliğı için laboratuvar koşullarında elde edilen sonuçlar ile doğa koşullarındaki sonuçlar arasındaki ilişkiler çalışılmıştır. Bu çalışmada Güney Amerika Lepidopterlerini konak olarak kullanmayan mikrosporidialar kullanılmıştır. Esas yeri Avrupa olan *Lymantria dispar* larvaları yaklaşık olarak 130 yıl önce Güney Amerika'da yayılmış ve yerel Lepidopterlere özgü olan birçok mikrosporidia türüne maruz kalmıştır. Fakat yapılan gözlemlerde *L. dispar*'ın Güney Amerika popülasyonunda mikrosporidia gözlenmemiştir. Bu çalışmaların sonucunda karasal mikrosporidiaların doğa koşullarındaki konak spesifikliğinin laboratuvar koşullarına oranla daha dar olduğu ispatlanmıştır (Solter ve Maddox, 1998).

1.10. Mikrosporidia Enfeksiyonunun Belirtileri

Çoğu entomopatojenik mikrosporlar düşük virülansa sahiptir, kronik bir enfeksiyona sebep olur ve böceğı öldürmezler. Böyle kronik olarak enfekte olmuş böcekte genellikle morfolojik belirti ve belirtiler göstermezler. Bununla birlikte bazı mikrosporlar yüksek derecede virülanttır ve bunların enfeksiyonları saldırdıkları dokulara bağılı olarak akut veya fetal olabilir.

Mikrospor enfeksiyonunun meydana geldiği konak böcekler, böcek populasyonu içerisinde kendisini diğerlerinden farklı kılacak bir dizi belirtiler gösterirler. Böceğin derisinde enfeksiyon bölgelerinde beyaz veya beyaz sarı lekeler ve siyah zemin, enfeksiyon bölgesinin şişmesi bir gözlemci tarafından kolayca fark edilmeye değer işaretlerdir. Böceğin ağır hareket etmesi, iştahının kesilmesi, vücut boylarında küçülme vb. şekillerde etki gösteren larvalar araziden veya tarım alanlarından toplanır ve steril tüplerle laboratuvara getirilirler. Gerekli incelemeler ve boyamalar yapılarak enfeksiyon kesinleştirilir.

Bazı mikrosporidialar doku tropizmi sergilerler ve sadece özel doku ve organları enfekte ederler. Örneğin bazıları konağın sadece bağırsak epiteli veya yağ dokusunu enfekte ederler. Diğerleri ise hemen hemen tüm doku ve organları istila edip sistemik bir enfeksiyona neden olurlar (Nalçacıoğlu vd., 2008). Şekil 8’de *N. portugal* tarafından enfekte olan böceğin ipek bezindeki değişim gösterilmiştir. *N. lymantriae* enfeksiyonunda da aynı etkiyi gözlemek mümkündür.



Şekil 8. *Lymantria dispar*’da *Nosema portugal* enfeksiyonu (Hoch, 2001, yayınlanmadı).

1.11. Mikrosporidiaların Diğer Doğal Düşmanlarla Olan ilişkisi

Mikrosporidialar parazitler, predetörler ve diğer böcek patojenleri gibi doğal düşmanlarla bir arada bulunmaktadır. Brooks (1993) konak/parazitoid/patojen sistemleri ile olabilecek 8 farklı etkileşimleri listelemiştir. Konağın premature ölümü, hastalanan konağın çekici olmaması, konağın beslenme veya fizyolojik olarak değişimi ve parazitoidin direk enfeksiyonu şeklinde bu 8 etkileşimden 5 tanesi orman

Lepidopter'lerindeki mikrospor enfeksiyonları için geçerli olabilir. Parazitoidler de hastalıklı konaktan sağlıklı konağa mikrosporidia enfeksiyonunun geçişini sağlayabilmektedir.

Eğer parazitoid gelişimini tamamlamadan önce, konak böcek mikrosporidia enfeksiyonundan ölürse parazitoidte genellikle ölür. Bu durum mikrosporidia ile enfekte edilen birkaç Lepidopter için belgelenmiştir (Laigo ve Pasche, 1968). Fakat bu durum orman Lepidopter'leri için spesifik değildir.

Mikrosporidia ile enfekte edilmiş konak çeşitli nedenlerden dolayı böcek parazitleri için çekici olmayabilir. Örneğin mikrosporidiaların öldürücü düzeyin altındaki enfeksiyonu, konağın gelişiminde ve davranışlarında birtakım değişiklikler meydana getirmekte ve bu durumda konağın parazitler için tercih edilmemesine neden olmaktadır. Bir başka örnek vermek gerekirse, dişi parazitler spesifik büyüklükteki ve spesifik larval durumdaki konakları tercih etmektedirler. Konak popülasyonundaki herhangi bir değişim tercih edilmeme sebebi olabilmektedir.

Sindirilebilir mikrosporidia sporlarının bulunduğu konak dokularında parazitlerin gelişimlerini tamamlaması mümkün olmayabilir. Bu durum içerisindeki larvada bulunan parazit kendisi için yeterli olan besini absorblayamaz ve ölür (Brooks, 1993). Parazitler direkt olarak onların konaklarındaki mikropsorlar tarafından enfekte edilebilirler ve bu durum yüksek oranda parazit ölümü ile sonuçlanır (Siegel, 1986). Bu etkileşim herhangi bir orman Lepidopterleri için bildirilmemesine rağmen, mükemmel bir etkileşim tipidir.

Parazitler mikrosporidiaların vektörleri gibi davranabilirler. Bu büyük bir olasılıkla mikropsorların böcek popülasyonları arasındaki dağılımı için geçerlidir (Siegel, 1986; Brooks, 1993).

1.12. Sıcaklığın Konak ve Model Üzerine Olan Etkisi

Ekzotermik hayvanlar olan böcekler çevre sıcaklığına bağlıdır bu yüzden sıcaklık onların metabolik işlemleri, büyümeleri ve gelişmeleri üzerinde önemli etkilere sahiptir (Zaslavski, 1988). Böceklerin aktivitesi sıcaklıkla artar ve böylece onların metabolizması da artar. Yüksek sıcaklık gelişim safhasında büyümenin hızlanmasını sağlar (Wigglesworth, 1972). Birçok böcek endoparazitoid mikrosporidia tarafından parazitlenir. Mikrosporidia gelişmek ve çoğalmak için konağa ihtiyaç duyan tek hücreli hücre içi parazittir. Çevresel dirençli spor enfektif fazdır. Bu sporlar ağız yolu ile alınır ve orta

bağırsağın lümeninde ürer ve burada enfeksiyona başlar (Solter ve Becnel, 2000). Ayrıca sporlar ebeveyden döle aktarılabilirler. Sıcakta gelişen ekzotermik konağı enfekte eden mikrosporodiyaların sıcaklığı konağın tipik sıcaklığı aralığındadır (Cali ve Takvorian, 1999). Konak böcek için çevre sıcaklığının entomopatojenik mikrosporidiayı nasıl etkilediğine dair çok az bilgi vardır.

1.13. Çalışmanın Amacı

Lymantria dispar dünyada ve ülkemizde önemli bir polifag zararlı olup halen ülkemizde bu zararlı ile mücadelede kimyasal ilaçlar kullanılmaktadır. Yoğun ve bilinçsiz olarak yürütülen kimyasal pestisit uygulamaları sonucunda, sadece bitki ve hayvan türlerinin yok olmasına sebep olmakla kalmamış, yer altı sularına karışarak hedef alınmayan diğer organizmaların ve hatta insan sağlığını da (karsinojen, mutajen ve teratojen) çok kötü şekilde etkilenmiştir (URL-15, 2011). Bu zararlı üzerinde etkin olarak kullanılan *Bacillus thuringiensis* kaynaklı ilaçlar konak üzerinde direnç geliştirebilmektedir. Tüm bu sebeplerden dolayı bu tez kapsamında bu polifag zararlı ile biyolojik mücadele yapılması amacıyla yeni bir ajan olarak *Nosema lymantriae*'nin insektisidal etkisi ve klasik biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilme potansiyeli araştırılmıştır.

Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde konak ve patojen etkileşimi üzerinde sıcaklığın önemli bir etkisi olduğu tespit edilmiştir. Laboratuvar koşullarında gerçekleştirilen ve sabit sıcaklıklarda devam ettirilen enfeksiyonun başarısının doğal habitat koşullarında da elde edilip edilemeyeceği merak konusudur. Bu nedenle bu çalışmada konak-patojen ikilisi doğal habitat koşullarında olduğu gibi sabit sıcaklıkla kıyaslanmak üzere gece ve gündüz değişen sıcaklık ve ışık periyodunda büyütülmüştür.

Bu çalışmanın diğer bir amacı ise konak-patojen ilişkisi açısından çok iyi bir model olan *N. lymantriae* ve *L. dispar* arasındaki etkileşimin öğrenilmesi ve bu ajanın diğer orman zararlısı Lepidopterlere karşı kullanılabilme potansiyelinin araştırılmasıdır.

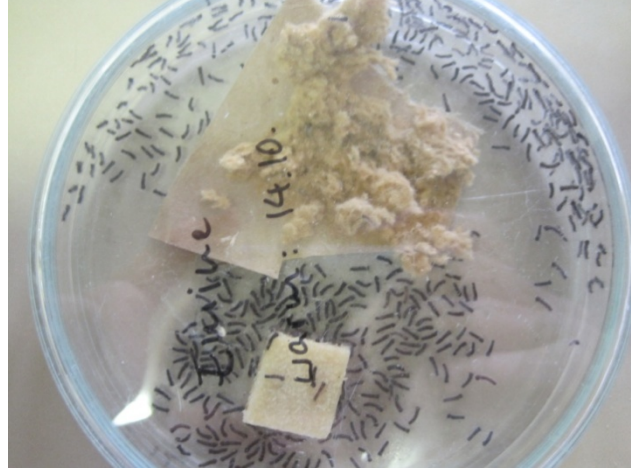
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Larvaların Temini ve Yetiştirilmesi

Bu çalışmada *Lymantria dispar* larvaları konak olarak kullanıldı. Larvalar USDA/APHIS Otis Method Development Center, Cape Cod, Massachusetts, USA tarafından sağlanan yumurtalardan elde edildi (Şekil 9). Larvalar 16 saat aydınlık, 8 karanlık saat ışık periyoduna ayarlanmış inkübatörler de $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de buğday tohumu ile hazırlanmış besinlerle büyütüldü (Bell, 1981) (Şekil 10). İnokülasyondan önce larvalar her birinde 24 larva olmak üzere 250 ml'lik plastik kaplara konuldu. İnokülasyondan sonra ise her bir larva ayrı ayrı üzerinde numarası ve hangi deney grubuna ait olduğuna dair bilgilerin yazılı olduğu petrilere konuldu.



Şekil 9. *L. dispar* yumurtaları



Şekil 10. Yumurtadan yeni çıkan *L. dispar* larvaları

2.2. Patojenin Temini

1996 yılında Bulgaristan, Levisthe yakınlarında toplanan *L. dispar* larvalarının ipek bezinden elde edilen mikrospor *Nosema lymantriae* patojen olarak (izolat No.1996-A) kullanıldı. *N. lymantria*, Illinois Natural History Survey (INHS), Urbana-Champaign, Illinois, USA'nın Microsporidia germ-plasma koleksiyonundan temin edildi ve daha sonraki çalışmalar için BOKU Wien laboratuvarında depolandı. Bu çalışmada kullanılan taze sporlar *L. dispar* larvalarında depo edildi (Hoch vd., 2000). Bunun için 3. instarın ilk gününde olan larvalar 2×10^3 spor/ μl 'lik konsantrasyonundan $1 \mu\text{l}$ spor süspansiyonu ile enfekte edildi. Yaklaşık olarak enfeksiyondan 14 gün sonra enfekte olmuş larvaların 5. instarları süresince ipek bezlerinden doku filtresi ile filtrelendi ve santifirüj edilerek olgun sporlar elde edildi. Süpernetant alındı ve spor içeren pellet kısmı distile su ile çözüldü. Bu spor süspansiyonu 1:1 oranında gliserol ile karıştırıldı ve deney için kullanıma kadar sıvı azotta depo edildi (Maddox ve Solter, 1996). Bu sporların maksimum depolanma süresi yaklaşık dört aydır.

2.3. İnokülasyon

3. instar için deri değiştirme evresinde olan larvalar toplandı ve 250 ml'lik plastik kaplarda yiyeceksiz olarak depo edildi. Ertesi gün yeni deri değiştiren ve aç bırakılan *L.*

dispar larvaları (Bauer vd., 1998; Hoch vd., 2000) inoküle edildi. Spor süspansiyonu Neubauer hemacytometer de sayıldı ve distile su ile konsantrasyonu 1×10^3 spor/ μl 'ye ayarlandı. Yiyecekler yaklaşık olarak 2 mm³'lik küpler şeklinde kesilerek teker teker 24 gözlü doku kültür kaplarına koyuldu ve her küpe 1 μl 'lik spor süspansiyonu eklendi. Daha sonra içerlerinde enfekte olmuş yiyecekleri içeren gözlerde *L. dispar* larvaları yerleştirildi. 24 saat sonra yalnızca tüm yiyeceğini tam olarak bitirmiş larvalar kullanıldı. Kontrol larvaları için ise spor süspansiyonu yerine distil su kullanılarak aynı işlem gerçekleştirildi.

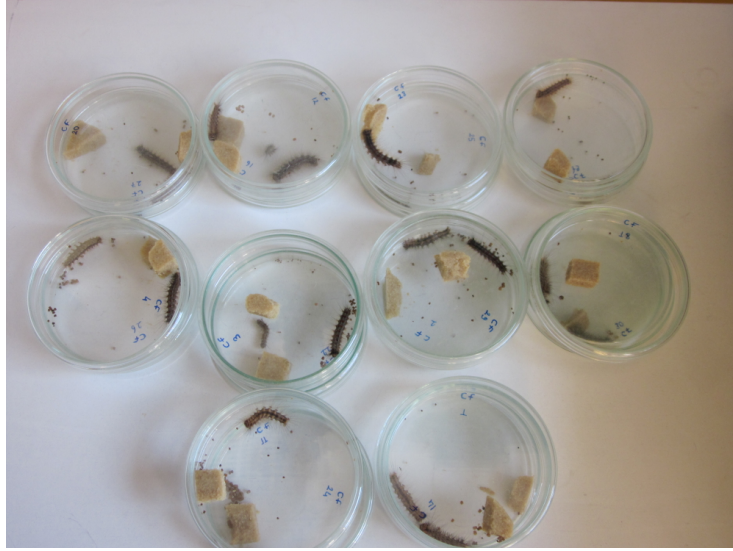
2.4. Farklı Sıcaklıkların Mikrosporidia Enfeksiyonu Üzerine Olan Etkisinin Belirlenmesi

Nosema lymantriae'nin *Lymantria dispar* larvaları üzerindeki enfeksiyonuna sıcaklığın etkisini araştırmak için, yeni inoküle edilen larvalar 22°C±1°C sabit ve 18°C/24°C±1°C değişken olmak üzere 2 farklı sıcaklıktaki inkübatörlere konuldu. Işık periyodu 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık olacak şekilde ayarlandı. Larvalar 9 cm genişliğindeki cam petrilerin içinde büyütüldü. Enfeksiyondan sonra 6. günün başlangıcında, her sıcaklıktan rastgele olarak 3 larva seçildi ve her ikinci günde disekte edildi. Larvalar karın bölgesinden açıldı ve bağırsak, yağ doku, tüm ipek bezi ve 3, 4 tane malpigi tüpü böcek salyesinde hazırlandı. Bağırsak, ipek bezi, yağ doku ve malpigi tüplerin taze preperasyonları faz konstat mikroskobunda 400x'lik büyütmede mikrosporların varlığı için gözlemlendi. Öncü sporun, vegetatif evrenin veya olgun çevresel sporun varlığı kaydedildi ve onların yaklaşık olarak ne kadar çoklukta oldukları tahmin edildi (1. sporlar veya vegetatif evre bazı araştırmalar sonucunda bulunabilir; 2. sporlar veya vegetatif evreler mikroskopta gözlenen bölgelerin çoğunda kolayca belirlenebilir, 3. dokular sporlar ile dolu olabilir). Malpigi tüpleri de dâhil tüm dokular olgun spor ile dolu olduğunda, bu sıcaklık grupları için diseksiyon sonlandırıldı.

2.5. Farklı Sıcaklıkların ve Enfeksiyonun Larvanın Büyümesine Olan Etkisinin Belirlenmesi

Nosema lymantriae ile infekte olmuş *Lymantria dispar* larvaları üzerinde sabit ve değişken sıcaklığın etkisini belirlemek için, inoküle edilen larvalardan 2 farklı değişken ve bir sabit sıcaklık için farklı zamanlarda 2 deney grubu oluşturuldu. Bu deney gruplarından

birinde 22°C sabit ve 18°C/24°C değişken sıcaklıklar kullanıldı ve bu deney tekrarlı olarak yapıldı fakat bu deney grubunun ilk tekrarındaki arzu edilmeyen ölümlerden dolayı istatistiksel analize katılamadı istatistiksel analiz için aynı deneyin 2. tekrarı kullanıldı. Bir diğer deney grubunda ise yine 22°C sabit ve 14°C/26°C değişken sıcaklıklar kullanıldı. Her iki deney grubu için 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık ışık periyodu kullanıldı. Her bir sıcaklık için 30 kontrol ve 30 enfekte edilmiş olmak üzere toplam 90 enfekte ve 90 kontrol larvası kullanıldı. Disekte edilecek olan larvalar gibi tüm larvalar eşit koşullar altında saklandı. Larvalar her biri şekil 11’de olduğu gibi numaralandırılarak enfeksiyon durumu ve büyütüldükleri sıcaklıklara göre etiketlenerek ayrı ayrı petri kaplarında büyütüldü ve büyüme parametreleri günlük olarak belirlendi.



Şekil 11. Değişken sıcaklığın uygulandığı kontrol grubunun görüntüsü

2.5.1. Büyüme ve Gelişimin Takibi

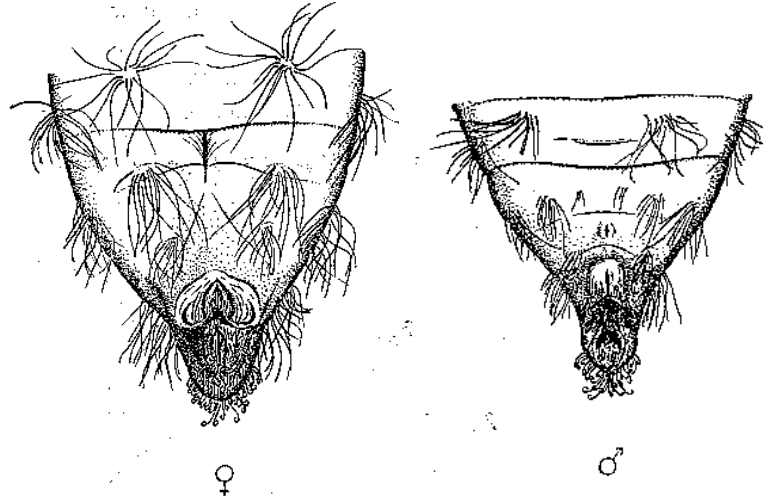
Tüm larvaların 3., 4. ve 5. instar oldukları, enfeksiyonlu larvaların öldükleri ve kontrol larvalarının pupa öncesi dönem ve pupaya girdikleri günler not edildi. Larvaların ağırlıkları inokülasyondan sonraki ilk gün, beşinci instarın ilk günü, pupaya girdikten sonraki gün belirlendi. Enfeksiyona yenik düşen larvalarda kavrular öldükleri gün tartılarak not edildi.

Deney süresince hem enfekte olmuş larvalar hem de pupaya giren kontrol larvaları enfeksiyonun belirlenebilmesi için gözlemlendi. Enfeksiyonun belirlenmesi için larvalar 2.

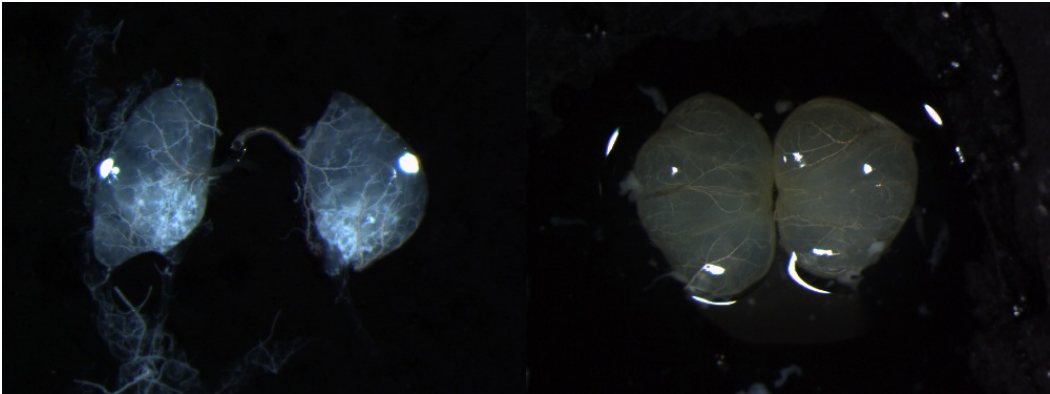
abdominal segmentinden makas yardımı ile enine kesildi. Bağırsak, ipek bezi ve yağ dokusunu içeren bu kısımdan örnekler alınarak faz konstat mikroskobu altında 400x'lik büyütmede incelendi.

2.6. *L. dispar* Larvalarının Cinsiyetinin Belirlenmesi

Deney sonucunda, kontrol böceklerinin cinsiyeti pupa karakterlerine göre belirlendi (Şekil 12). Enfekte olan böceklerde ise cinsiyet disekte edilerek gonadlarının morfolojilerine göre belirlendi (Şekil 13, 14).



Şekil 12. Dişi ve erkek pupaya ait abdomen görüntüsü (Zwölfer, 1934).



Şekil 13. Ovaryum (URL-16, 2011).

Şekil 14. Testis (URL-16, 2011).

2.7. Kadavralardan Spor Sayımının Yapılması

Nosema lymantria ile enfekte olan ve ölen larvalar son larva ölene kadar dondurularak bekletildi. Tüm larvalar öldüğünde, kadavralar gonad şekillerine ve renklerine göre cinsiyetleri belirlendikten sonra her sıcaklıktaki deney grubu için 8 erkek ve 8 dişi enfekte larva seçildi. Daha sonra bu larvalar içerisinde 2 ml su bulunan tüplere konuldu ve Ultra-Turrax T 25 homojenizatörü ile homojenize edildi. Bu homejenat selüloz dokulu filtre kâğıtları ile filtre edildi. Tüpteki miktar 6 ml olana kadar bu filtre kâğıtları durulandı. Bu süspansiyon 3200 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüj edildi ve sonra süpernetant çıkartıldı. Spor süspansiyonunu içeren pellet 1:9 oranında distil su ile seyreltildi. Her bir örnek için numune hazırlandı ve Neubauer hemacytometer'de sayılarak her larvadaki toplam spor miktarı belirlendi (Hoch vd., 2000).

2.8. Bilgi Analizi

İstatiksel analiz için SPSS 11.5 programı kullanıldı. Test böceklerinin cinsiyeti larvaların büyüme parametreleri açısından çok önemli olduğu için dişi ve erkek larvalar ayrı ayrı analiz edildi. İstatistiksel değerleri belirlemek açısından Mann-Whitney U testi uygulandı. Elde edilen değerler %5 güven düzeyinde değerlendirildi ($p < 0.05$). Ölen larvaların ağırlıkları ile onların ölüm günleri ve spor sayısı arasındaki korelasyonu hesaplanırken Spearman's Correlation Coefficient testinden faydalanıldı. Enfeksiyonlu olmayan fakat fiziksel müdahaleden dolayı ölen ve cinsiyeti çeşitli sebeplerden dolayı belirlenemeyen larvalar analiz hesaplarında kullanılmadı.

3. BULGULAR

3.1. Farklı Sıcaklıklarda Mikrosporidian Gelişiminin Mikroskopik Olarak Belirlenmesi

Nosema lymantriae enfeksiyonunun ilerlemesi farklı sıcaklıklarda ve böceğin farklı dokularında değişiklik göstermektedir. Enfeksiyon öncelikle böceğin bağırsak epitelinde ve kas dokusunda öncü sporların üremesi ile başlar ve daha sonra enfeksiyon ipek bezi, yağ dokuya, malpigi tüplere ve gonadlara doğru ilerler. Şekil 15’de mikrosporların zamana ve sıcaklığa bağlı gelişimi gösterilmiştir.

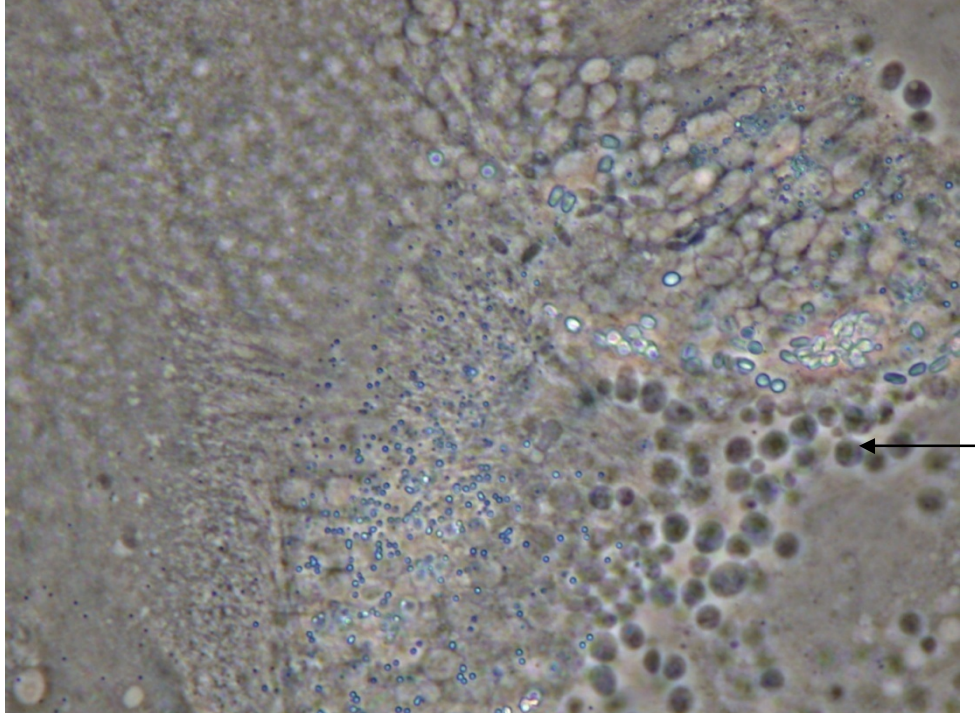
		8	10	12	14	16	
18°C/24°C	SG	v p	v p	v p e	v p e	e	<input type="checkbox"/> Mikrosporlar bazı araştırmalar sonucu bulundu <input type="checkbox"/> Mikrosporlar kolayca belirlendi <input checked="" type="checkbox"/> Dokular mikrosporlar ile dolu
	FB	v p	v p	v p e	v p e	e	
	MT				v p	e	
22°C	SG	v	v p	v p e	v p e	e	
	FB	v	v p	v p e	v p e	e	
	MT				v p	v e	

Şekil 15. *Nosema lymantria*'nın çeşitli evrelerinin 22°C ve 18°C/24°C’ de böceğin ipek bezi(SG), yağ doku (FB) ve malpigi tüplerindeki (MT) varlığı. Her bir harf mikrosporidianın belirlenen evresini göstermektedir: v=vegetativeevre (meront ve/veya sporont), p=öncü spor, e=enfektif çevresel spor

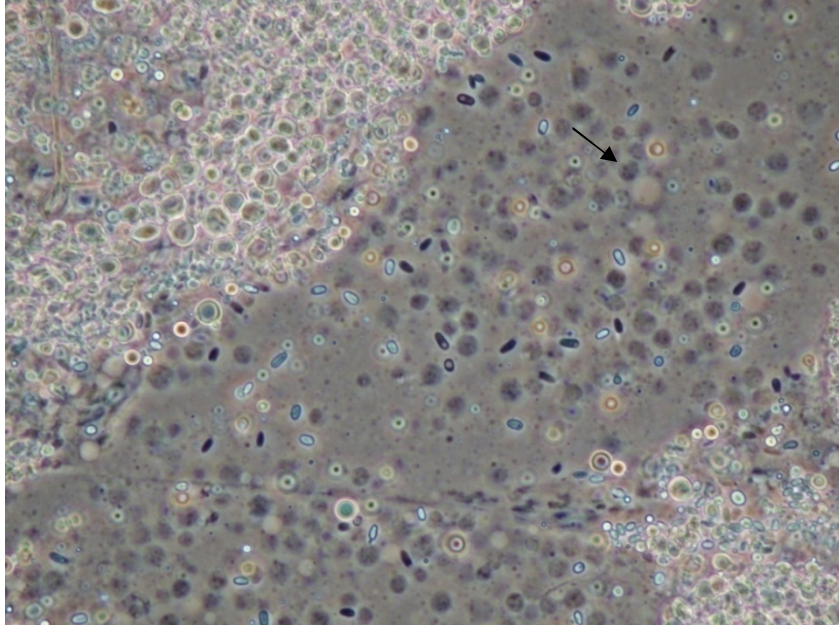
Bağırsak dokularında tam anlamıyla öncü spor 18°C/24°C’de enfeksiyondan sonra 6. günde gözlenirken 22°C’de ise 8.günde gözlemlendi. İpek bezinde vegetatif ve öncü sporun gözlenmesi 18°C/24°C’de yetişen larvalarda enfeksiyondan sonra 8.günde, 22°Cde ise 10.günde gerçekleştiği tespit edildi. Enfeksiyondan sonra 12.günden itibaren ipek bezi ve yağ dokunun spor ile dolduğu belirlendi.

Elde edilen gözlemlere bakıldığında arada istatistiksel olarak fark olmamakla birlikte, öncü sporların oluşumunun $18^{\circ}\text{C}/24^{\circ}\text{C}$ de daha önce başladığı gözlemlendi.

Malpigi tüplerde enfeksiyonun ilerlemesine bakıldığında ise en son olarak burada gerçekleştiği belirlendi. Yani enfeksiyonun malpigi tüplerde ilerlemesi diğer dokulara göre daha fazla zaman almaktadır. Malpigi tüplerde ilk vegetatif evrenin görülmesi enfeksiyondan sonra 14.günde gözlenmiştir. Enfeksiyondan sonra 16.günde ise her iki sıcaklıktada larvaların malpigi tüpleri tamamen enfektif çevresel spor ile dolmuştur. Şekil 16-21'de mikrosporların gelişiminin ışık mikroskobu ile çekilmiş fotoğrafları verilmiştir.



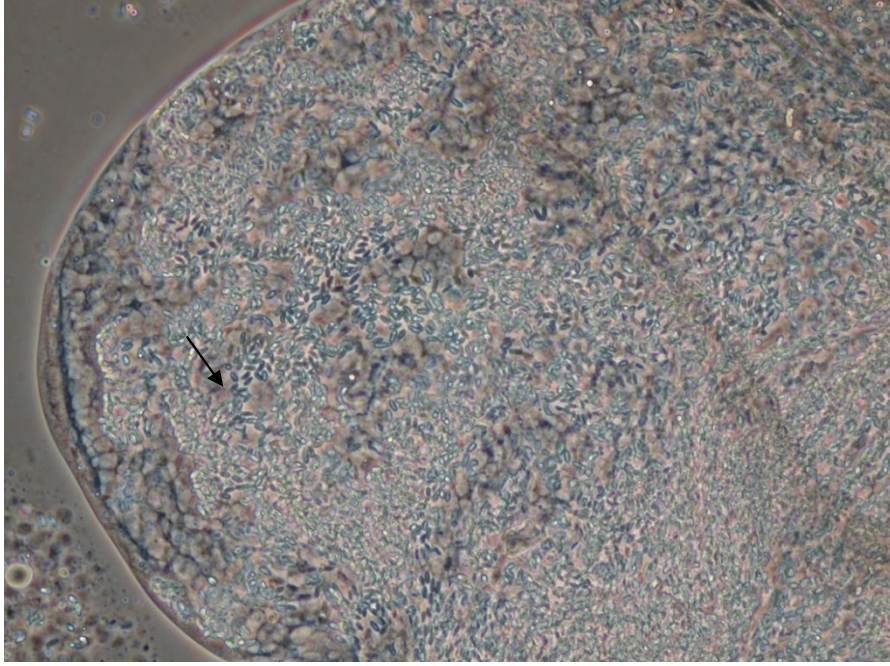
Şekil 16. $18^{\circ}\text{C}/24^{\circ}\text{C}$ 'de enfeksiyondan sonra 10.günde ipek bezinde vegetatif evre (400x)



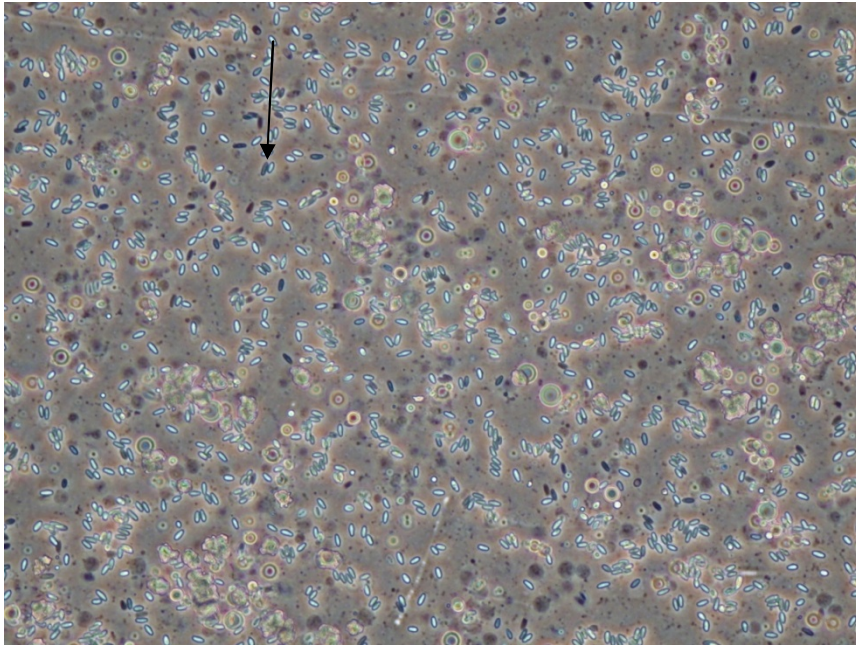
Şekil 17. 18°C/24°C’de enfeksiyondan sonra 12. günde yağ dokuda vegetatif evre (400x)



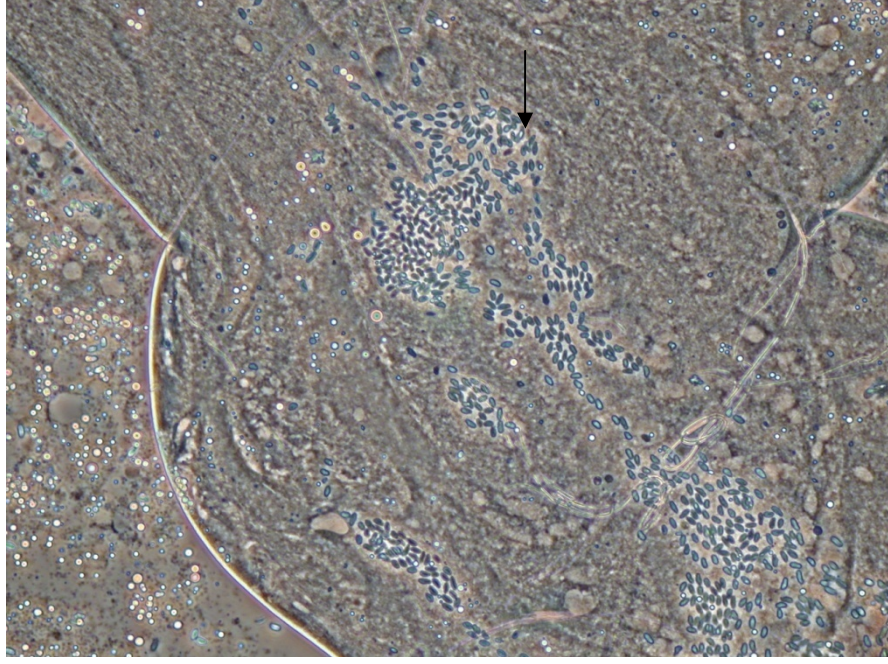
Şekil 18. 18°C/24°C’de enfeksiyondan sonra 12.günde malpigi tüplerde vegetatif evre (400x)



Şekil 19. 18°C/24°C'de enfeksiyondan sonra 14.günde ipek bezinde öncü sporlar (400x)



Şekil 20. 22°Cde enfeksiyondan sonra 14. günde yağ dokuda öncü sporlar (400x)



Şekil 21. 18°C/24°C de enfeksiyondan sonra 14. günde malpigi tüplerde öncü sporlar (400x)

3.2. Farklı Sıcaklıkların Mikrosporidia Enfeksiyonu Üzerine Olan Etkisinin Belirlenmesi

Nosema lymantria enfeksiyonunun farklı sıcaklık denemelerinde *Lymantria dispar* larvalarında yüksek oranda ölümlere sebep olduğu belirlendi. Şekil 22 ve 23'de enfeksiyonlu ve sağlıklı *L.dispar* larval bireyleri görülmektedir.

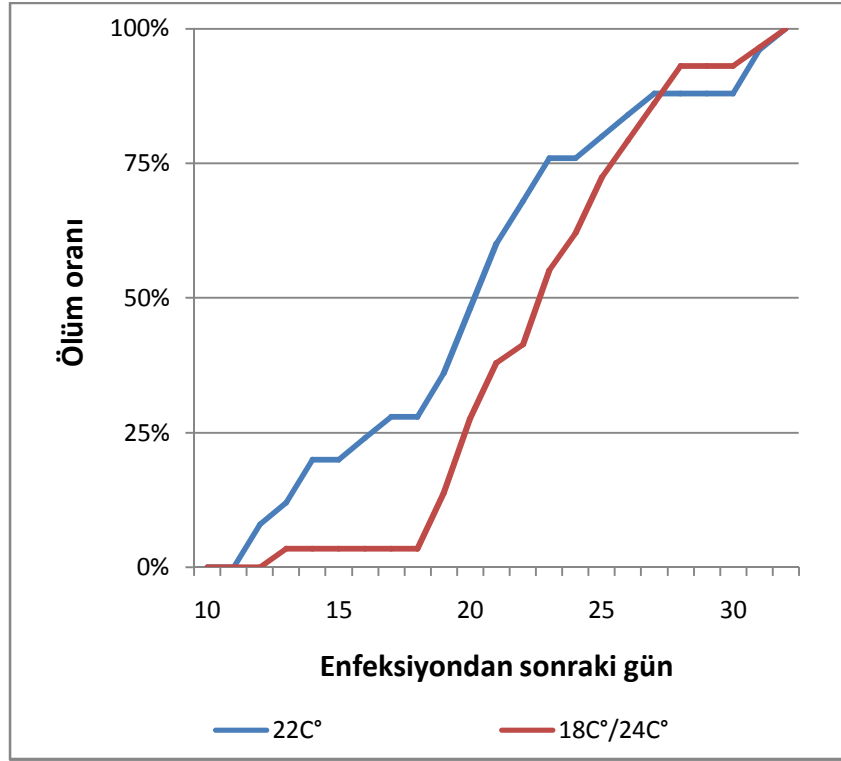


Şekil 22. Enfeksiyonlu larva



Şekil 23. Sağlıklı larva

Birinci deney grubunda 22°C’de 30 enfekte larvadan 25 tanesi ölürken 5 tanesinin pupaya girdiği gözlemlendi. Pupaya giren larvalar enfeksiyon varlığı için kontrol edildi ve enfeksiyonun var olduğu belirlendi. Bu anlamda enfeksiyonun %100 oranında başarılı olduğu tespit edildi. 22°C’de ki ölüm oranına bakıldığında ise oran %83,3 olarak belirlendi. 18°C/24°C’lik değişken sıcaklıkta ise enfekte larvalar incelendiğinde, 29 larvanın larval evrede öldüğü ve sadece bir tanesinin pupaya girdiği gözlemlendi. Bu pupahda enfeksiyon için kontrol edildi ve enfekte olduğu görüldü. Böylece 18°C/24°C’de ölüm oranının % 96,67 olduğu hesaplandı. Şekil 24’de 22°C ile 18°C/24°C’de ölen enfekte larvaların zamana bağlı olarak ölüm oranları gösterilmektedir.



Şekil 24. 22°C ve 18°C/24°C’nin mikrospor enfeksiyonuna etkisi

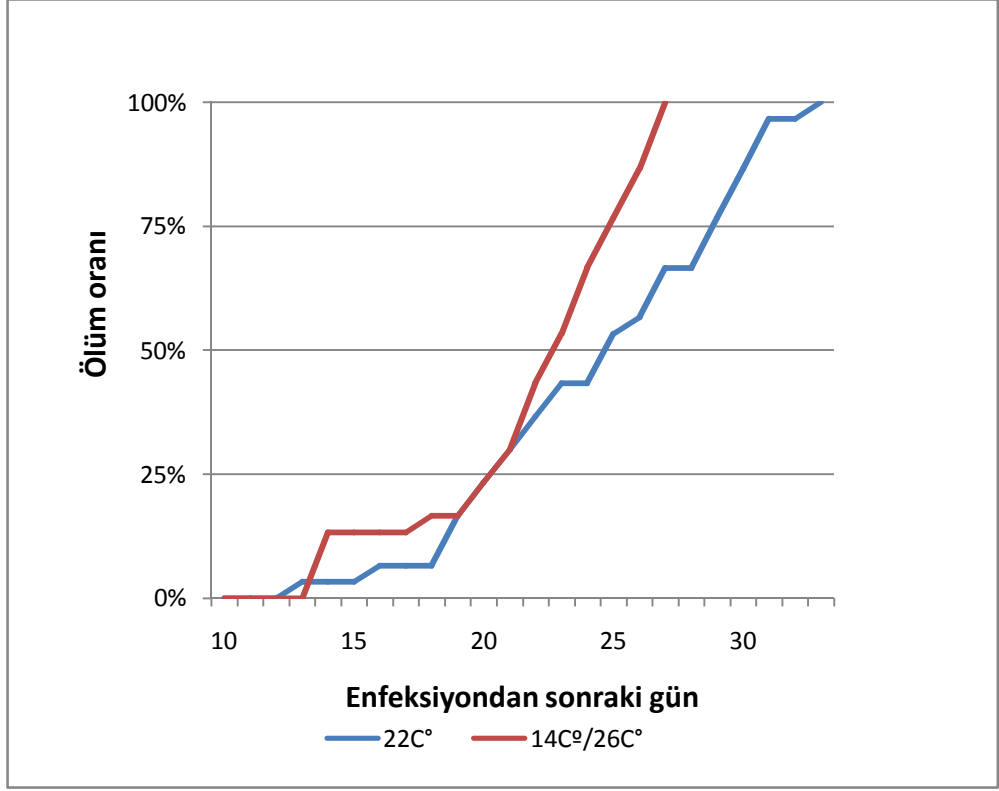
22°C’de yetişen larvalarda ilk ölümün enfeksiyondan sonra 12.günde, 18°C/24°C’de yetiştirilenlerde ise enfeksiyondan sonra 13.günde gerçekleştiği gözlemlendi. Bazı durumlarda enfeksiyondan dolayı deri değiştiremeyen larvaların 4.instardan, 5. instara geçişlerinin başarıyla tamamlanamadığı ve öldükleri tespit edildi.

Şekil 24’de görüldüğü gibi her iki sıcaklıkta ki son ölümün enfeksiyondan sonra 32. günde olduğu gözlemlendi. Aşağıdaki tabloda ise larvaların sıcaklığa göre ortalama ölüm günleri verilmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. Birinci deney grubunda enfeksiyonlu larvaların ölüm günleri

Sıcaklık	Cinsiyet	Larva Sayısı	Zaman(Gün)
22°C Sabit	Erkek	15	20,13±6,8
18°C/24°Cdeğişken	Erkek	13	23,31±3,9
Toplam		28	21,61±5,8
22°C Sabit	Dişi	10	21,90±3,5
18°C/24°Cdeğişken	Dişi	16	23,25±4,2
Toplam		26	22,73±3,9

Diğer bir değişken sıcaklık için kurduğumuz 2. grup deneyimize baktığımızda ise 22°C ve 14°C/26°C’de yetişen enfekte olmuş tüm larvaların öldüğü gözlemlendi. Bu deney grubunda ölüm oranının her iki sıcaklık içinde %100 olduğu tespit edildi. Şekil 25’de 22°C ve 14°C/26°C’de yetiştirilen enfekte larvaların zamana bağlı ölüm grafiği gösterilmektedir.



Şekil 25. 22°C ve 14°C/26°C'nin mikrospor enfeksiyonuna etkisi

Bu grupta 22°C'deki ilk ölüm enfeksiyondan sonra bir larvanın ölümü ile 13.günde gerçekleşirken 14°C/26°C'de ise 4 larvanın ölümü ile 14. günde gerçekleştiği belirlendi. Grafikten anlaşılacağı üzere 14°C/26°C değişken sıcaklıkta enfekte larvaların ölmesinin ortalama olarak daha kısa sürdüğü, 22°C'de ise daha çok zaman aldığı gözlemlendi. İstatistiksel olarak bakıldığında ise arada anlamlı bir fark gözlenmemiştir. 22°C sabit sıcaklıkta son larva enfeksiyondan sonra 33. günde ölürken, 14°C/26°C değişken sıcaklıkta son larva 27.günde öldüğü tespit edildi. Bu deney grubunda bazı larvaların erken ölümlerinden dolayı cinsiyetleri belirlenemedi. Tablo 5'de larvaların sıcaklığa göre ortalama ölüm günleri verilmiştir.

Tablo 5. İkinci deney grubunda enfeksiyonlu larvaların ölüm günleri

Sıcaklık	Cinsiyet	Larva Sayısı	Zaman (Gün)
22°C Sabit	Erkek	16	24,63±5,0
14°C/26°Cdeğişken	Erkek	12	22,00±3,1
Toplam		28	23,50±4,4
22°C Sabit	Dişi	11	25,45±4,3
14°C/26°Cdeğişken	Dişi	15	24,27±2,6
Toplam		26	24,77±3,4

Nosema lymantriae ile enfekte olan *Lymantria dispar* larvalarında yüksek oranlarda ölüm gözlenirken, kontrol grubunu oluşturan sağlıklı larvalar larval evrelerini başarı ile tamamlamışlardır. Kontrol larvalarından sadece bir kaçı fiziksel müdahaleden dolayı ölmüştür, bu larvalar analiz hesaplarına katılmamıştır.

3.3. Sıcaklığın ve Enfeksiyonun Larvanın Gelişim Parametrelerine Olan Etkisi

3.3.1. Sıcaklığın ve Enfeksiyonun Larvanın İnstarlar Arası Geçiş Zamanına Olan Etkisi

Birinci grup olan 22°C sabit ve 18°C/24°C değişken sıcaklıklarda büyümeye bırakılan larvalar günlük olarak kontrol edildi. Bu kontroller sırasında larvaların instar değiştirme günleri not edilerek, sıcaklığın ve enfeksiyonun larvaların instar değiştirme zamanlarına ne yönde etkide bulunduğu analiz edildi.

Birinci deney grubunda, larvaların 3.instardan 4.instara geçiş süresinin dişi larvalar için sabit ve değişken sıcaklıklarda farklı olduğu gözlemlendi. 18°C/24°C değişken sıcaklıkta yetişen larvaların instar değiştirme sürelerinin daha uzun zaman aldığı belirlendi (Tablo 6).

Tablo 6. Birinci deney grubunda yetişen larvaların 3-4. instar değiştirme süreleri

Sıcaklık	Cinsiyet	Larva Sayısı	Süre (Gün)
22°C Sabit	Erkek	31	3,84±0,7
18°C/24°Cdeğişken	Erkek	28	4,07±0,5
Toplam		59	3,95±0,6
22°C Sabit	Dişi	29	3,79±0,4
18°C/24°Cdeğişken	Dişi	30	4,00±0,2
Toplam		59	3,90±0,3

İkinci grup olarak çalıştığımız 22°C sabit ve 14°C/26°C' değişken sıcaklıkta yetişen larvarında birinci deney grubunda olduğu gibi tüm büyüme parametreleri izlendi. İkinci deney grubumuzda ki larvaların 3. instardan 4. instara geçiş sürelerinin sıcaklığa göre ortalama günleri tablo 7'de verilmektedir.

Tablo 7. İkinci deney grubunda yetiştirilen larvaların 3-4. instar değiştirme süreleri

Sıcaklık	Cinsiyet	Larva Sayısı	Süre(Gün)
22°C Sabit	Erkek	32	3,91±0,5
14°C/26°Cdeğişken	Erkek	27	4,00±0,5
Toplam		59	3,95±0,5
22°C Sabit	Dişi	25	3,88±0,3
14°C/26°Cdeğişken	Dişi	28	3,96±0,3
Toplam		53	3,92±0,3

Birinci ve ikinci deney gruplarında enfeksiyonun 3-4.instar süreleri üzerine etkisinin istatistiksel anlamda önemli olmadığı gözlemlendi. Benzer şekilde yine birinci ve ikinci deney gruplarında enfeksiyonun 4.instar olma süresi üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı belirlendi.

Sıcaklığın 1. deney grubunda 4-5. instarlar arası geçişi süresine etkisine bakıldığında 4-5. instarlar arası geçen süre 22°C sabit sıcaklıkta 8,60±07 iken

18°C/24°C’de $8,76\pm 0,5$ olarak belirlendi ve bu sonuç istatistiksel olarak sabit ve değişken sıcaklığın 4-5. instarlar arası geçiş süreleri arasında fark olmadığını gösterdi. Enfeksiyonun 4-5. instarlar arası geçişi süresine etkisine baktığımızda ise erkek larvalar üzerinde önemli olduğu belirlendi. Bazı kontrol larvaları fiziksel incinmeden dolayı 4-5. instar sürelerini tamamlayamadı ve bu larvaların ölüm günleri enfeksiyonun ortalama ölüm günü hesaplamasına dahil edilmedi. Tablo 8’de birinci deney grubundaki larvaların enfeksiyon durumlarına göre ortalama 4-5. instarlar süreleri verildi.

Tablo 8. Birinci deney grubundaki enfeksiyonlu ve kontrol larvalarının 4-5. instar değiştirme süreleri

Enfeksiyon Durumu	Cinsiyet	Larva Sayısı	Süre (Gün)
Kontrol	Erkek	24	$8,17\pm 0,7$
Enfekte	Erkek	20	$8,75\pm 0,7$
Toplam		44	$8,43\pm 0,7$
Kontrol	Dişi	31	$8,77\pm 0,5$
Enfekte	Dişi	27	$8,96\pm 0,4$
Toplam		58	$8,86\pm 0,5$

İkinci deney grubunda sıcaklığın larvaların 4-5. instarlar arası geçiş süresine bakıldığında dişi kontrol larvaları üzerinde etkili olduğu belirlendi. Kontrol dişi larvalar için 4-5. instarlar arası günlere bakıldığında 22°C’de $9,00\pm 0,9$ iken 14°C/26°C’de $9,69\pm 0,7$ ’dir. 2. deney grubunda enfeksiyonun 4-5. instarlar arası geçişi süresine etkisine baktığımızda dişi larvalar ve 1. deney grubunda olduğu gibi erkek larvalar üzerinde etkili olduğu belirlendi. Bu deney grubunda da bazı kontrol larvaları fiziksel incinmeden dolayı 4-5. instar sürelerini tamamlayamadı ve bu larvaların ölüm günleri enfeksiyonun ortalama ölüm günü hesaplamasına dahil edilmedi. Tablo 9’da ikinci deney grubundaki larvaların enfeksiyon durumlarına göre ortalama 4-5. instar süreleri verildi.

Tablo 9. İkinci deney grubundaki enfeksiyonlu ve kontrol larvalarının 4-5. instar değiştirme süreleri

Enfeksiyon Durumu	Cinsiyet	Larva Sayısı	Süre (Gün)
Kontrol	Erkek	27	8,85±0,5
Enfekte	Erkek	27	9,59±0,7
Toplam		54	9,22±0,7
Kontrol	Dişi	26	9,35±0,8
Enfekte	Dişi	26	9,81±0,6
Toplam		52	9,58±0,8

22°C sabit ve 18°C/24°C değişken sıcaklıklardan oluşan 1. deney grubumuzda sıcaklığın larvaların 5. instar olma süreleri üzerinde etkisi tablo 10'da verilmektedir. Bu deney grubundaki bazı larvaların 5.instar olma günleri not edilememiş, bazı larvalarda enfeksiyondan dolayı 5.instar olamamıştır. Bu deney grubundaki kontrol olan erkek larvaların dişi larvalara göre daha kısa sürede 5. instarlarını tamamladıkları belirlendi (Tablo 11).

Tablo 10. Birinci deney grubunda yetişen larvaların 5. instar değiştirme süreleri

Sıcaklık	Cinsiyet	Larva Sayısı	Süre (Gün)
22°C Sabit	Erkek	22	9,86±0,9
18°C/24°Cdeğişken	Erkek	20	9,70±0,6
Toplam		42	9,79±0,8
22°C Sabit	Dişi	27	10,37±0,6
18°C/24°Cdeğişken	Dişi	29	10,31±0,6
Toplam		56	10,34±0,6

Tablo 11. Birinci deney grubundaki enfeksiyonlu ve kontrol larvalarının 5. instar değiştirme süreleri

Enfeksiyon Durumu	Cinsiyet	Larva Sayısı	Süre (Gün)
Kontrol	Erkek	24	9,54±0,6
Enfekte	Erkek	18	10,11±0,9
Toplam		42	9,79±0,8
Kontrol	Dişi	31	10,39±0,6
Enfekte	Dişi	25	10,28±0,6
Toplam		56	10,34±0,6

İkinci deney grubunda yetişen larvaların 5. instar olma süreleri üzerinde sıcaklığın istatistiksel bir etkisi gözlenmezken (Tablo 12), enfeksiyonun etkili olduğu tespit edildi. Enfeksiyonlu ve kontrol larvaları 5. instar olma süreleri ile ilgili analiz edildiğinde, kontrol grubundaki erkek larvaların dişi larvalara göre 5. instarlarını daha kısa sürede tamamladıkları belirlendi (Tablo 13). 1. deney grubunda olduğu gibi bu grupta bazı larvaların 5. instar olma süreleri not edilememiş, bazı larvalarda enfeksiyon nedeni ile 5. instar evresine geçememiştir.

Tablo 12. İkinci deney grubunda yetiştirilen larvaların 5. instar değiştirme süreleri

Sıcaklık	Cinsiyet	Larva Sayısı	Süre (Gün)
22°C Sabit	Erkek	29	10,24±0,9
14°C/26°C değişken	Erkek	23	10,26±0,5
Toplam		52	10,25±0,7
22°C Sabit	Dişi	24	10,63±1,0
14°C/26°C değişken	Dişi	28	10,89±0,6
Toplam		52	10,77±0,8

Tablo 13. İkinci deney grubundaki enfeksiyonlu ve kontrol larvalarının 5. instar değiştirme süreleri

Enfeksiyon Durumu	Cinsiyet	Larva Sayısı	Süre (Gün)
Kontrol	Erkek	27	9,93±0,5
Enfekte	Erkek	25	10,60±0,8
Toplam		52	10,25±0,7
Kontrol	Dişi	26	10,58±0,8
Enfekte	Dişi	26	10,96±0,8
Toplam		52	10,77±0,8

3.3.2. Sıcaklığın ve Enfeksiyonun Larvanın Pupa Ağırlıklarına ve Pupaya Girme Zamanına Olan Etkisi

Daha öncede bahsettiğimiz gibi fiziksel incinmeler dışında enfeksiyonlu larvalar ölürlen, enfekte olmayan kontrol larvaları pupaya girdi. Tüm kontrol larvalarının pupa öncesi zamanı (Şekil 26) ve pupaya girdiği günler deney süresince not edildi (Şekil 27). Pupaya giren tüm larvaların pupaya girdikten bir gün sonra pupa ağırlıkları ölçüldü.



Şekil 26. Kontrol larvasında pupa öncesi dönem



Şekil 27. Kontrol larvasında pupa görünümü

22°C ve 18°C/24°C'den oluşan 1. grup ve 22°C ve 14°C/26°C'den oluşan 2. grupta sıcaklığın larvaların pupaya girme süreleri üzerine olan etkileri tablo 14 ve 15'de verildi. Yine her iki deney grubu için cinsiyetin pupaya girme süresi üzerinde çok önemli olduğu belirlendi. Her iki gruptaki kontrol larvalarının pupa öncesi dönemden sonra pupaya girmesi en az 2 gün sonunda gerçekleşirken, bu sürecin en fazla olarak 8 günde tamamlandığı belirlendi.

Tablo 14. Birinci deney grubundaki kontrol larvalarının pupaya girme süreleri

Sıcaklık	Cinsiyet	Larva Sayısı	Süre (Gün)
22°C Sabit	Erkek	12	21,08±1,7
18°C/24°Cdeğişken	Erkek	14	21,57±1,8
Toplam		26	21,35±1,7
22°C Sabit	Dişi	18	23,33±1,5
18°C/24°Cdeğişken	Dişi	14	24,29±0,8
Toplam		32	23,75±1,3

Tablo 15. İkinci deney grubundaki kontrol larvalarının pupaya girme süreleri

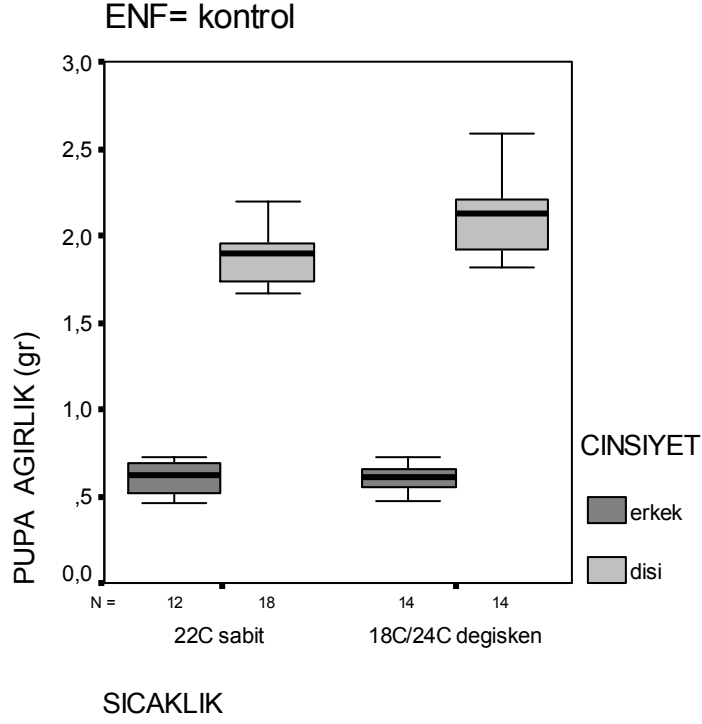
Sıcaklık	Cinsiyet	Larva Sayısı	Süre (Gün)
22°C Sabit	Erkek	16	21,13±1,2
14°C/26°Cdeğişken	Erkek	15	21,67±1,4
Toplam		31	21,39±1,3
22°C Sabit	Dişi	14	25,64±2,6
14°C/26°Cdeğişken	Dişi	13	25,46±1,4
Toplam		27	25,56±2,1

Sıcaklığın larvaların pupa ağırlıkları üzerindeki etkisine bakıldığında ise, 1. deney grubunda erkek larvalar üzerinde etkili değilken dişi larvalar üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu tespit edildi. Cinsiyetin pupa ağırlığı üzerindeki etkisine bakıldığında ise çok önemli olduğu belirlendi (Tablo 16 ve Şekil 28).

Tablo 16. Birinci deney grubundaki larvaların pupa ağırlıkları

Sıcaklık	Cinsiyet	Larva Sayısı	Ağırlık (gr)
22°C Sabit	Erkek	12	0,607±0,09
18°C/24°Cdeğişken	Erkek	14	0,604±0,07
Toplam		26	0,606±0,08
22°C Sabit	Dişi	18	1,830±0,3
18°C/24°Cdeğişken	Dişi	14	2,108±0,2
Toplam		32	1,952±0,3

Şekil 28’de dişi ve erkek kontrol larvalarının pupa ağırlıkları farkının görsel olarak daha iyi anlaşılabilmesi için grafik şeklinde verilmiştir.

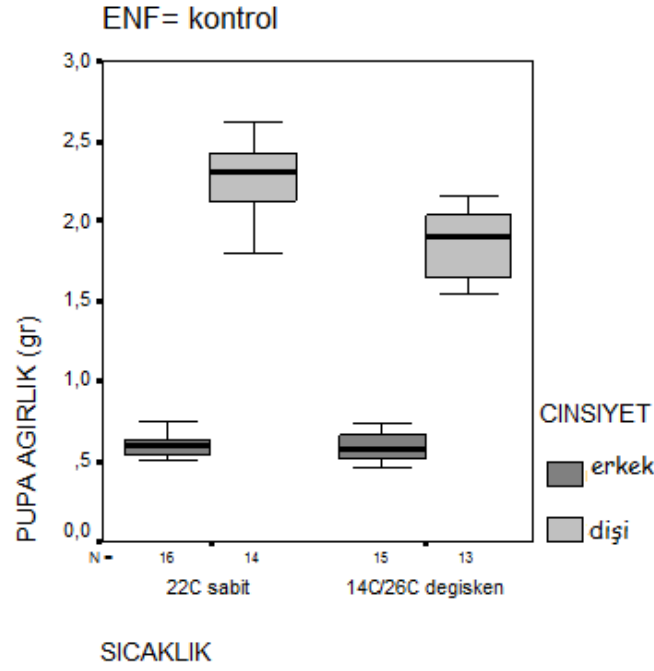


Şekil 28. Birinci deney grubunda sıcaklığın ve cinsiyetin pupa ağırlığına etkisi

Sıcaklığın 2.deney grubunda pupa ağırlığı üzerinde olan etkisine bakıldığında yine erkek larvalar üzerinde önemli olmadığı, dişi larvalar üzerinde ise 1. deney grubuna benzer şekilde oldukça önemli olduğu görüldü. Cinsiyetin pupa ağırlığı üzerindeki etkisinin ise çok önemli olduğu gözlemlendi. Dişi larvalarda ortalama pupa ağırlığı $2,072 \pm 0,3$ gr iken, erkek larvalarda ise $0,589 \pm 0,7$ gr olarak belirlendi (Tablo 17 ve Şekil 29).

Tablo 17. İkinci deney grubundaki kontrol larvalarının pupa ağırlıkları

Sıcaklık	Cinsiyet	Larva Sayısı	Ağırlık (gr)
22°C Sabit	Erkek	16	$0,597 \pm 0,06$
14°C/26°Cdeğişken	Erkek	15	$0,580 \pm 0,08$
Toplam		31	$0,589 \pm 0,07$
22°C Sabit	Dişi	14	$2,225 \pm 0,2$
14°C/26°Cdeğişken	Dişi	13	$1,874 \pm 0,2$
Toplam		27	$2,072 \pm 0,3$



Şekil 29. İkinci deney grubunda sıcaklığın ve cinsiyetin pupa ağırlığına etkisi

3.3.3. Sıcaklığın ve Cinsiyetin Kadavraların Ağırlığına Olan Etkisi

Ölen enfektelarvaların ölüm zamanları ve kadavra ağırlıkları not edildi. 22°C sabit ve 18°C/24°C değişken sıcaklıklarda, sıcaklığın etkisinin dişi kadavralar üzerinde önemli olduğu bulundu. Cinsiyetin ise kadavraların ağırlığı üzerine etkisine bakıldığında istatistiksel açıdan çok önemli olduğu tespit edildi (Tablo 18).

Tablo 18. Birinci deney grubunda kadavra ağırlıkları

Sıcaklık	Cinsiyet	Larva Sayısı	Ağırlık (gr)
22°C Sabit	Erkek	15	0,538±0,1
18°C/24°Cdeğişken	Erkek	13	0,603±0,8
Toplam		28	0,568±0,1
22°C Sabit	Dişi	10	1,168±0,3
18°C/24°Cdeğişken	Dişi	16	1,604±0,6
Toplam		26	1,436±0,5

İkinci deney grubunda ise 22°C sabit ve 14°C/26°C değişken sıcaklıklarda, kadavraların ağırlığı üzerinde sıcaklığın etkisi önemli bulunmazken, cinsiyetin etkisinin ise büyük ölçüde önemli olduğu tespit edildi (Tablo 19).

Tablo 19. İkinci deney grubunda kadavra ağırlıkları

Sıcaklık	Cinsiyet	Larva Sayısı	Ağırlık (gr)
22°C Sabit	Erkek	16	0,785±0,3
14°C/26°Cdeğişken	Erkek	12	0,623±0,1
Toplam		28	0,715±0,2
22°C Sabit	Dişi	11	1,367±0,4
14°C/26°Cdeğişken	Dişi	15	1,390±0,4
Toplam		26	1,380±0,4

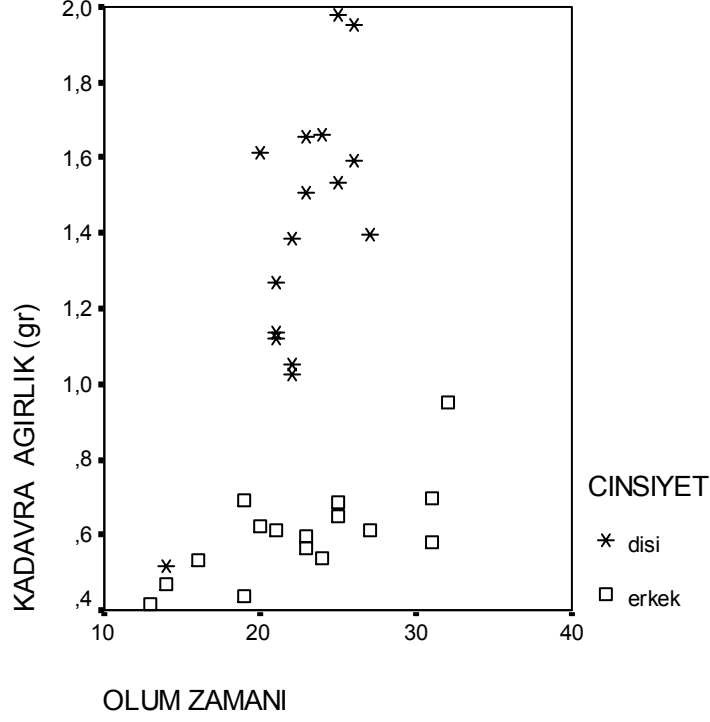
3.4. Kadavralardan Yapılan Spor Sayımı

22°C sabit ve 18°C/24°C değişken sıcaklıkta ölen larvalar için yapılan spor sayımında sıcaklığın etkisi dişi larvaların spor üretimi üzerinde önemli bulundu. Kadavralardan sayılan spor miktarı cinsiyetten önemli derecede etkilenmiştir (Tablo 20).

Tablo 20. Birinci deney grubundaki enfekte kadavralardaki spor sayısı

Sıcaklık	Cinsiyet	Larva Sayısı	Spor Sayısı /Larva	Standart Sapma
22°C Sabit	Erkek	8	7,5E+09	5,0E+09
18°C/24°Cdeğişken	Erkek	8	9,2E+09	3,0E+09
Toplam		16	8,4E+09	4,1E+09
22°C Sabit	Dişi	8	1,3E+10	6,0E+09
18°C/24°Cdeğişken	Dişi	8	1,9E+10	3,1E+09
Toplam		16	1,6E+10	5,7E+09

Birinci deney grubu için kadavra ağırlıkları ile ölüm zamanı arasında bir ilişki olabileceği düşünüldü. Bu iki parametrenin değerleri spearman korelasyon metodu ile değerlendirildi ve aralarında korelasyon olduğu belirlendi (Şekil 30).



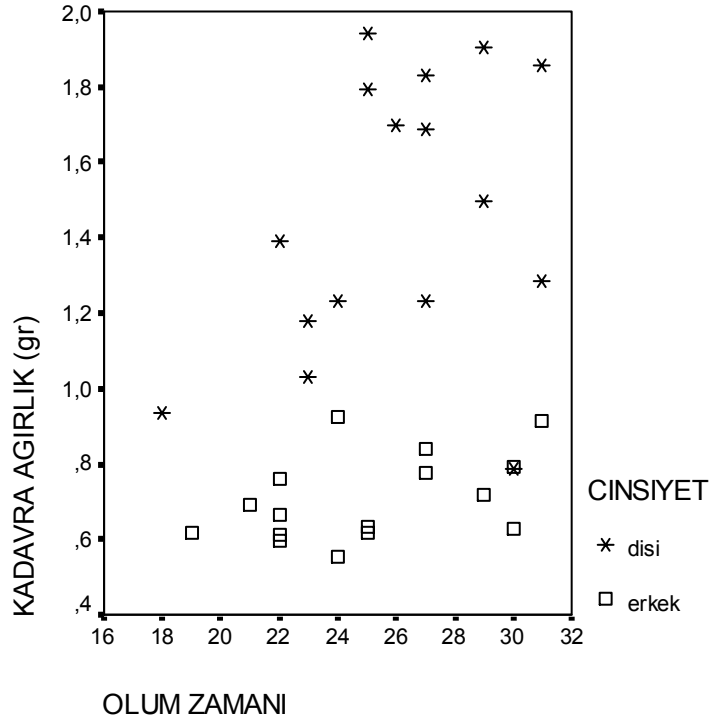
Şekil 30. Birinci deney grubundaki kadavraların ağırlıkları ile ölüm zamanı arasındaki korelasyon

22°C sabit ve 14°C/26°C değişken sıcaklıktan oluşan 2.deney grubunda sıcaklığın enfeksiyonlu ve ölen her larvadan yapılan spor sayısı üzerinde istatistiksel anlamda önemli olmadığı görüldü. Fakat tablo 21'de verildiği gibi her iki sıcaklıkta sayılan ortalama spor miktarlarının birbirinden oldukça farklı olduğu belirlendi (Tablo 21).

Tablo 21. İkinci deney grubunda enfekte kadavralardaki spor sayısı

Sıcaklık	Cinsiyet	Larva Sayısı	Spor Sayısı /Larva	Standart Sapma
22°C Sabit	Erkek	8	1,4E+10	4,3E+09
14°C/26°Cdeğişken	Erkek	8	1,2E+10	3,0E+09
Toplam		16	1,3E+10	3,7E+09
22°C Sabit	Dişi	8	2,5E+10	8,7E+09
14°C/26°Cdeğişken	Dişi	8	2,2E+10	8,7E+09
Toplam		16	2,4E+10	8,6E+09

2. deney grubunda da birinci deney grubundaki gibi kadavra ağırlıkları ile ölüm zamanı arasında korelasyonun var olup olmadığı araştırıldı. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda kadavra ağırlığı ile ölüm zamanı arasında korelasyonun varlığı tespit edildi (Şekil 31).



Şekil 31. İkinci deney grubunda kadavra ağırlıkları ve ölüm zamanı arasındaki korelasyon

4. TARTIŞMA

Kır tırtılı, *Lymantria dispar* ülkemizde ve dünyada birçok orman, park ve süs bitkileri ile özellikle orman alanlarına yakın olan meyve bahçelerinde yaprakları yiyerek zararlı olan ve ağaçları kısmen veya tamamen yapraksız bırakan önemli bir zararlıdır (URL-17, 2011). Bu anlamda *L. dispar* salgın olduğu dönemlerde önemli ekonomik zararlara yol açmaktadır.

Entomopatojenik mikrosporidialar hücre içi parazitleridir ve tamamen konakları tarafından sağlanan kaynaklara bağımlıdır. Entomopatojenik mikrosporidialar larvalarda büyüme ve gelişimin yavaşlaması, ergin bireylerde de doğurganlığın azalması gibi ciddi hasarlara neden olurlar. Mikrosporidiaların *L. dispar* larvalarının yoğunluğunun düzenlenmesi için biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılma potansiyelleri ile ilgili bazı çalışmalar yapılmıştır (Jeffords vd., 1988; Maddox vd., 1998). Merkez Avrupa ve Doğu Avrupa'da ki *L. dispar* populasyonlarında mikrosporidialar düzenli olarak tespit edilebilmiştir. Bu patojenler *Endoreticulatus*, *Nosema* ve *Vairimorpha* türlerine ait olup, konakta enfekte ettikleri dokular bakımında farklılık göstermektedirler (Mcmanus ve Solter, 2003). Bu türlerden biri olan *Nosema lymantria* bu çalışmaya konu olarak alınmıştır.

N. lymantria enfeksiyonu sporların konak tarafından yenilmesiyle başlar. Bu sporlar bağırsak lümeninde ürerler ve öncü sporların ürediği yer olan bağırsak dokularını enfekte ederler. Daha sonra enfeksiyon yağ doku, ipek bezi, malpigi tüpü ve gonadlar gibi diğer dokulara yayılmaya başlar. Hedeflenen dokular enfekte edilir ve sonuç olarak enfekte çevresel sporlar ürerler ve konaktan yeni enfeksiyon kaynağı olarak salınmaya başlarlar (Weiser, 1957; McManus ve Solter, 2003; Goertz ve Hoch, 2008).

Bu çalışmada konak ve patojen ilişkisi için çok iyi bir model organizma olan *L. dispar* ve *N. lymantriae* ilişkisi üzerine sabit ve değişken sıcaklığın etkisi araştırılmıştır. İlk olarak sıcaklığın *N. lymantriae* enfeksiyonunun gelişimi üzerindeki etkisi ile başlanmıştır ve bu patojenle enfekte edilen larvalar belirli zaman aralıklarında enfeksiyonun varlığı için mikroskopik olarak gözlemlenmiştir. Yapılan gözlemlerde enfeksiyonun ilk olarak bağırsak dokularında başladığı, daha sonra ipek bezi ve yağ dokuya, son olarak ta malpigi tüplere doğru ilerlediği gözlenmiştir. Goertz ve Hoch (2008)'un elde ettiği sonuçlar da bizim bulgularımızla birebir örtüşmektedir.

Literatürde sıcaklığın mikrosporidia enfeksiyonu üzerindeki etkisi araştırılırken hem düşük hem de yüksek sıcaklıklar kullanılmıştır. Undeen vd. (1993) bir mikrosporidia türü olan *Edhazardia aedis* üzerinde yaptıkları sıcaklık çalışmalarında sporların 0,5 ve 40°C'de saklandıklarında 24 saat süresince etkinliklerini kayb ettiklerini fakat 10°C, 15°C ve 20°C'de enfeksiyon seviyesinin yüksek kaldığını tespit etmişlerdir. Yine benzer bir çalışmada konak olarak kullanılan *Galleria mellonella* ve *Vairimorpha ephestiae* enfeksiyonu üzerinde yapılmıştır. Sonuçta larvalar 21°C ve 25°C'de kültür edildiklerinde *V. ephestiae* % 62 ve % 91 oranında ölüm gösterirken, 30°C'de bir etki göstermemiştir (Vorontsova vd., 2004). Yine mikrosporidia üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise sıcaklığın bal arılarındaki mikrosporidialar üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada *Nosema ceranae* ve *N. apis* türlerinin sporlarının 33°C'de 25°C ve 37°C ye kıyasla daha erken oluştuğu belirlenmiştir. Ayrıca 37°C'nin böcek mikrosporidiaları için yüksek bir sıcaklık olduğu belirtilmiştir (Becnel ve Andreadis, 1999).

Bizim çalışmamızda ise sıcaklığın mikrosporidia gelişimi üzerindeki etkisinin mikroskopik olarak incelenmesi için 22°C sabit ve 18°C/24°C değişken olmak üzere iki farklı sıcaklık kullanılmıştır. Yapılan mikroskopik çalışmalar sonucunda 18°C/24°C'değişken sıcaklıkta yetişen larvaların bağırsak epitelinde öncü sporların gözükmesi enfeksiyondan sonra 6. günde gerçekleşirken 22°C'de sabit sıcaklıkta enfeksiyondan sonra 8. günde gözlenmiştir. İpek bezinde vegetatif ve öncü sporun gözlenmesi 18°C/24°C'de yetişen larvalarda enfeksiyondan sonra 8. günde, 22°C'de ise 10. günde gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bu mikroskopik gözleme dayalı sonuçlara bakıldığında çok büyük bir fark olmamakla birlikte öncü sporların oluşumunun 18°C/24°C'de daha önce başladığını söyleyebiliriz.

Sıcaklığın ve enfeksiyonun larvaların ölüm oranlarına ve gelişim parametrelerine olan etkisinin belirlenmesi amacıyla ise iki farklı deney grubu kurulmuştur. Bu deney gruplarından birincisinde 22°C sabit ve 18°C/24°C değişken sıcaklık, ikinci deney grubunda ise tekrar 22°C sabit ve 14°C/26°C değişken sıcaklıklar kullanılmıştır. Her iki deney grubu için sıcaklığın enfeksiyonlu larvaların ölüm oranları üzerindeki etkisine bakılmıştır. Her iki deney grubunda enfeksiyon % 83.3 ile % 100 oranları arasında başarılı olmuştur.

Sıcaklığın ölüm zamanı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara bakıldığında ise birinci deney grubunda ki 22°C'de larvaların ortalama ölüm günü 20,84±5,7 gün iken 18°C/24°C ise 23,28±4,0 gün olarak belirlenmiştir. Sonuçlar

incelendiğinde enfeksiyonlu larvaların ölüm günleri 18°C/24°C daha uzun sürmektedir fakat bu fark istatistiksel anlamda önemli bulunmamıştır ($p=0,064$).

İkinci deney grubumuzda ise 22°C'deki larvaların ortalama ölüm günü $24,77\pm 5,0$ iken 14°C /26°C'de $22,33\pm 4,0$ gündür. Bu gruptaki sonuçlarımıza baktığımızda sıcaklık istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte ($p=0,073$), 22°C'de sabit sıcaklıkta ölüm günü daha uzunken, 14°C /26°C değişken sıcaklıkta da kısadır. Birinci deney grubundaki sonuçla paralel olmayan bu durum 14°C'nin larvanın yaşaması için gerekli olan minimum sıcaklığa yakın olması ve enfeksiyonun da etkisi ile larvanın gelişimi için olumsuz etki yaratmış olabileceği fikri ile açıklanabilir.

Her iki deney grubu için sıcaklığın larvanın 3. instardan 4. instara geçiş süresi üzerindeki etkisine bakıldığında ise; birinci deney için sıcaklığın dişi larvaların 3. instardan 4. instara geçiş süresine etki ettiğini ($p=0,026$), 22°C'deki dişi larvaların 3-4. instalar arası geçiş süresinin daha kısa sürdüğü görüldü. İkinci deney grubunda ise sıcaklığın 3-4. instalar arasındaki süreye etki etmediği belirlendi ($p=0,435$). Birinci deney grubunda larvalar ortalama olarak $3,93\pm 0,5$ gün, ikinci deney grubunda ise $3,95\pm 0,4$ günde 3-4. instar dönemini tamamlamıştır. Enfeksiyonun 3-4. instalar arası geçiş süresi üzerinde etkisine baktığımızda birinci deney grubunda ($p=0,100$) ve ikinci deney grubunda ($p=0,672$) istatistiksel olarak önemli olmadığı görüldü. Enfeksiyonun 4. instar olma süresi üzerindeki etkisine bakıldığında ise birinci deney grubunda ($p=0,293$) ve ikinci deney grubundaki farkın ($p=0,832$) istatistiksel olarak önemli olmadığı, kontrol ve enfeksiyonlu larvaların 4. instar süreleri arasında fark olmadığı belirlendi. *N. lymantriae* enfeksiyonunun yağ dokuda sebep olduğu hasar 4. instarda çok yoğun değildir. Larvaların 4. instar dönemlerinde yapılan diseksiyon çalışmalarında ipek bezinde ve yağ dokuda sadece vegetatif evre belirlenmiştir yani enfeksiyonun tam anlamıyla başlamadığı döneme denk gelmiştir ve bu durum 3-4. ve 4. instarda ki kontrol ve enfeksiyonlu larvaların instar sürelerinin neden farklı olmadığını açıklayabilir (Pollan, 2009).

Birinci deney grubu için sıcaklığın 4-5. instalar arası geçiş dönemi üzerine etkisine bakıldığında etkili olmadığı görüldü ($p=0,165$). Bu süreç üzerinde enfeksiyonun etkisi araştırıldığında ise erkek larvalar üzerinde etkili olduğu ($p=0,017$) tespit edildi. Kontrol erkek larvaları $8,17\pm 0,7$ günde 4-5. instalar arası süreyi tamamlarken enfeksiyonlu erkek larvalar ise $8,75\pm 0,7$ günde tamamlamıştır. Ortalama günlere bakıldığında kontrol larvalarının enfekte larvalara göre daha hızlı geliştiği, enfeksiyonlu larvalarda enfeksiyonun gelişimi yavaşlattığı belirlendi. İkinci deney grubunda ise sabit ve değişken

sıcaklıkta dişi kontrol larvalarının 4-5. instarlar arası geçiş dönemi süresinin farklı olduğu ($p=0,044$) belirlenmiştir. 22°C sabit sıcaklıkta dişi larvaların 4. instardan 5. instara geçiş süresi $9,00\pm 0,9$ gün iken 14°C/26°C değişken sıcaklıkta $9,69\pm 0,7$ gündür. Sonuç olarak kontrol grubunda olan dişi larvaların 22°C sabit sıcaklıkta 4-5. instarlar arası geçiş süresinin daha kısa sürdüğü belirlenmiştir. Enfeksiyonun 4. instardan 5. instara geçiş süresi üzerindeki etkisine baktığımızda ise dişi ($p=0,046$) ve erkek ($p=0,000$) larvalar üzerinde etkili olduğu belirlendi. İkinci deney grubunda kontrol larvalarının 4-5. instarlar arası geçiş süresi $9,15\pm 0,9$ gün olarak belirlenirken, enfeksiyonlu larvalarda bu sürenin $9,79\pm 0,8$ gün olduğu tespit edildi. Sonuç olarak enfeksiyonlu larvaların kontrol larvalarına göre 4-5. instarlar arasında daha uzun süre kaldığı tespit edildi.

Birinci deney grubunda sıcaklığın 5. instar olma süresi üzerinde etkili olmadığı ($p=0,507$), enfeksiyonun ise dişilerde bir etkisi belirlenemezken 5. instar erkek larvalar üzerinde etkili olduğu tespit edildi ($p=0,019$). Kontrol grubundaki erkek larvalar $9,54\pm 0,6$ günde 5. instar olurken, enfeksiyonlu larvalar ise $10,11\pm 0,9$ günde bu süreci tamamlamışlardır.

İkinci deney grubunda ise sıcaklığın larvaların 5. instar olma sürelerine baktığımızda ise istatistiksel olarak önemli olmadığını ($p=0,201$), enfeksiyonun ise birinci deney grubunda olduğu gibi erkek larvalar üzerinde etkili olduğu belirlendi ($p=0,001$). Kontrol grubundaki erkek larvalar $9,93\pm 0,5$ günde, enfeksiyonlu larvalar ise $10,60\pm 0,8$ günde 5. instar olmuşlardır. Birinci deney grubunda da olduğu gibi enfeksiyonlu larvaların 5. instar olma süreleri daha uzun sürmüştür.

Yapılan çalışmalara bakıldığında mikrosporidia enfeksiyonu konağın önemli dokularına zarar verdiği için konak üzerinde olumsuz etkilere sahip olduğu görülmektedir. Enfeksiyonun larvalar üzerindeki negatif etkisinin en önemli sonucu ise enfeksiyonun ölümle sonuçlanmasıdır. Enfeksiyonlu *L. dispar* larvaları daha az büyümekte ve daha az besin tüketmektedir (Pollan, 2009). Enfekte edilmiş larvaların gelişim süresi mikrosporidia enfeksiyonu yüzünden uzamaktadır. Henn ve Solter'in yaptığı bir çalışmada *Vairimorpha* sp. ile enfeksiyonlu larvada, mikrosporidinin larvanın yeme aktivitesini düşürdüğü ve larvanın gelişim süresini uzattığı belirlenmiştir (Henn ve Solter, 2000). Dişi larvalar yumurta üretimi için protein stoğuna ihtiyaç duyma sebebiyle proteini yağ dokularında depolamaktadırlar (Gaugler ve Brooks, 1975). Mikrosporidia enfeksiyonu ile enfekte olmuş dişi larvalarda enfeksiyon sebebi ile hasar görmüş yağ dokusu nedeniyle, üretkenlik ve yaşam süresi azalmaktadır (Boohene, 2003).

22°C ve 18°C/24°C'den oluşan birinci deney grubunda sıcaklığın kontrol larvalarının pupaya girme süreleri üzerine olan etkilerine bakıldığında dişi larvalar üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir ($p=0,030$). 22°C'de dişi kontrol larvaları $23,33\pm 1,5$ günde, 18°C/24°C'de ise $24,29\pm 0,8$ günde pupaya girmiştir. İki sıcaklık arasında pupaya girme süresi üzerinde etkiye baktığımızda sabit sıcaklıkta dişi larvaların daha kısa sürede pupaya girdiği tespit edilmiştir.

Sıcaklığın kontrol grubundaki larvaların pupa ağırlığı üzerinde olan etkisine baktığımızda ise dişi larvalar üzerinde etkili olduğu tespit edildi ($0,008$). 22°C sabit sıcaklıkta dişi larvalar $1,830\pm 0,3$ gr ile 18°C/24°C değişken sıcaklıkta $2,108\pm 0,2$ gr'dır. Dişi pupaların ağırlıklardan da görüldüğü gibi 18°C/24°C değişken sıcaklıktaki dişi larvalar daha ağırdır bunun sebebi olarak dişi larvaların pupaya girme sürelerinin 18°C/24°C değişken sıcaklıkta daha uzun olması ve böylece larvanın beslenmek için daha fazla süreye sahip olması ile açıklanabilir. Birinci deney grubumuzda cinsiyetin pupa ağırlığı ve pupaya girme günü üzerindeki etkisine baktığımızda, cinsiyetin her iki parametre içinde istatistiksel olarak oldukça önemli olduğu belirlenmiştir ($p=0,000$). Dişi kontrol larvaları $23,75\pm 1,3$ günde $1,952\pm 0,3$ gr ağırlıkta pupaya girerken, erkek larvalar ise $21,35\pm 1,7$ günde $0,606\pm 0,08$ gr ağırlıkta pupaya girdiği gözlemlendi. Dişi kontrol larvaları erkek kontrol larvalarına oranla hem daha uzun sürede hem de daha ağır olarak pupaya girmektedir. Dişi larvalar erkek larvalardan daha sonra pupaya girdikleri için daha çok beslenmiş ve böylece daha ağır olmuşlardır.

İkinci deney grubunda ise sabit ve değişken sıcaklık kıyaslandığında pupaya girme süresi üzerinde fark olmadığı ($p=0,362$) ve yine bu sıcaklık değerlerinin pupa ağırlığı üzerindeki etkisine bakıldığında dişi larvalar üzerinde oldukça önemli olduğu 22°C sabit ve 14°C/26°C değişken sıcaklıklarda pupa ağırlıklarının farklı olduğu tespit edildi ($p=0,001$). 22°C'de yetişen kontrol dişi larvalarının pupa ağırlığı $2,255\pm 0,2$ gr iken 14°C/26°C'de ise $1,874\pm 0,2$ gr olarak belirlendi. Ortalama ağırlıklardan da anlaşılacağı üzere 22°C sabit sıcaklıkta yetişen larvaların pupa ağırlıkları daha fazladır. İkinci deney grubumuzda cinsiyetin pupa ağırlığı ve pupaya girme günü üzerindeki etkisine baktığımızda birinci deney grubunda olduğu gibi cinsiyetin her iki parametre içinde istatistiksel olarak oldukça önemli olduğu belirlendi ($p=0,000$). Dişi larvalar $25,56\pm 2,1$ günde $2,072\pm 0,3$ gr ağırlıkta pupaya girerken, erkek larvalar ise $21,39\pm 1,3$ günde $0,589\pm 0,7$ gr ağırlıkta pupaya girmektedir. Dişi larvalar birinci deney grubunda olduğu gibi hem daha uzun sürede hem de daha ağır olarak pupaya girmektedirler.

Sıcaklığın pupaya girme ve pupa ağırlığı üzerindeki etkisi hakkında literatürde iki farklı fikir vardır. Dişi ve erkek larvaların pupa ağırlıkları artan sıcaklıkla birlikte artmaktadır. 18C° ve 21C°'ye kıyasla 24C°'de larvaların pupa ağırlıklarının daha fazla olduğu belirlenmiştir (Pollan, 2009). Diğer görüşe göre ise düşük sıcaklıklarda yetiştirilen larvaların gelişim parametrelerinin uzadığı fakat pupa ağırlığının sıcaklıktan önemli derecede etkilenmediği tespit edilmiştir (Richard vd., 1997). Stamp'ın (1990) yaptığı bir çalışmada Lepidopter olan *Manduca sexta*'nin düşük sıcaklıklarda azalan tüketim oranı sebebiyle büyüme oranının düştüğü sonuçlandırılmıştır. Williams vd. (2003) tarafından yapılan çalışmada dişi ve erkek *L. dispar* larvalarının gelişim süresinin artan sıcaklıkla azaldığı tespit edilmiştir. CO₂ oranı göz ardı edildiğinde artan sıcaklıkla erkek larvaların ortalama olarak 7,5 gün, dişi larvaların ise 8 gün daha erken olarak pupaya girdikleri belirlenmiştir. Bir böceğin gelişim oranı hayatta kalma süresinden ve başarılı bir üreme döneminden önemli derecede etkilenmektedir. Örneğin ağaçlarla beslenen bazı böceklerde konak bitkinin kalitesinin düşmesi böceğin gelişim sürecinin uzamasına ve bu durumda böceğin predatörler ve parazitler tarafından zarar görme olasılığını artırmaktadır. Yüksek sıcaklıkla gelişim süresi kısalan böcek, bu gibi olumsuz etkilere daha az maruz kalmaktadır. Buse vd. (1998) tarafından yapılan çalışmada kış güvesi tırtılının yüksek sıcaklıkta meşe yaprakları üzerinde daha hızlı geliştiği tespit edilmiştir. Linde ve arkadaşları (1998) tarafın yapılan başka bir çalışmada ise 7 farklı mikosporidia kullanılmış ve enfeksiyonunun *L. dispar*'ın pupa ağırlığına ve gelişim parametrelerine etki ettiği belirlenmiştir. Bu çalışmada *Endoreticulatus* sp. ile enfekte olan larvaların pupa ağırlıklarının kontrol larvalarına göre daha ağır olduğu belirlenmiştir. Bu fark enfekte larvanın gelişim süresinin uzaması ve enfekte hücrelerde sporların yaptığı ağırlık ile açıklanmıştır. Yine bu çalışmada lokal mikosporidia izolatu ile enfekte edilen larvaların pupaya girme sürelerinin daha uzun olduğu belirtilmiştir.

N. lymantriae enfeksiyonunun etkisini belirlemek için yapılan bioassay sonuçları incelendiğinde enfekte olan ve ölen larvaların kadavra ağırlıkları ve ölüm günleri ölçülmüştür. Birinci deney grubu için sıcaklığın kadavra ağırlığı üzerindeki etkisine baktığımızda dişi larvalarda etkili olduğu görüldü (0,036). Dişi larvaların 22°C'de kadavra ağırlıkları 1,168±0,3 gr iken 18°C/24°C'deki larvaların ağırlıkları 1,604±0,6 gün olarak belirlenmiştir. Yani 22°C sabit sıcaklıkta ölen larvaların 18°C/24°C'ye göre daha ağır oldukları tespit edildi. İkinci deney grubunda ise 22°C sabit ve 14°C/26°C değişken sıcaklıktaki kadavra ağırlıklarının istatistiksel olarak farklı olmadığı (p=0,191) belirlendi

(Pollan, 2009). Her iki deney grubunda da cinsiyetin kadavra ağırlığı üzerine çok önemli ($p=0,000$) olduğu gözlemlendi. Birinci deney grubunda dişi kadvraların ağırlıkları $1,952\pm 0,3$ gr iken erkek larvaların ise $0,606\pm 0,8$ gr, ikinci deney grubunda ise dişi larvaların ağırlıkları $1,380\pm 0,4$ gr, erkek larvaların ağırlıkları ise $0,715\pm 0,2$ gr olarak tartıldı. Her iki deney grubunda da dişi kadvraların ağırlıklarının erkek kadvralardan daha fazla olduğu belirlendi.

Larvaların tüm büyüme parametrelerine bakıldığında istatistiksel olarak desteklenmemekle birlikte genel olarak larvaların 22°C sabit sıcaklıkta daha hızlı ve iyi geliştiğini söylenebilir. Bu sonuç ise larvaların karanlık ve aydınlık ışık periyodunda sürekli olarak değişen sıcaklığa adaptasyonda zorluk çekmesi ve gelişimini olumsuz yönde etkilemesiyle ilişkilendirilebilir.

Her iki deney grubu için yapılan korelasyon analizlerinde kadavra ağırlığı ile ölüm zamanı arasında korelasyonun mevcut olduğu görülmüştür (Pollan, 2009). Larvaların ölüm zamanı uzadıkça dokularda biriken spor ağırlığından dolayı kadvraların daha ağır olduğu düşünülmektedir. Aynı şekilde birinci deney ($p=0,024$) ve ikinci deney ($p=0,049$) grubunda kadavra ağırlığı ile ölüm zamanı arasında korelasyon olduğu tespit edilmiştir.

Enfeksiyon sonucunda ölen larvalardaki spor miktarını belirleyebilmek için her iki deney grubundan da 8 erkek ve 8 dişi olmak üzere 16 larvanın kadvralarından spor sayımı yapılmıştır. Birinci deney grubundaki dişi larvalardaki spor miktarının sıcaklığa göre değiştiği tespit edilmiştir ($p=0,021$). 22°C sabit sıcaklıktaki dişi kadvralarda $1,3\text{E}+10\pm 6,0\text{E}+09$, $18^{\circ}\text{C}/24^{\circ}\text{C}$ değişken sıcaklıkta $1,9\text{E}+10\pm 5,7\text{E}+09$ spor sayılmıştır. Değişken sıcaklıkta yetişen dişi larvaların daha fazla spor ürettiği görülmektedir. Cinsiyetin spor üretimi üzerindeki etkisine baktığımızda ise çok önemli olduğu ($p=0,000$), dişi larvalarda $1,6\text{E}+10\pm 5,7\text{E}+09$, erkek larvalarda $8,4\text{E}+09\pm 4,1\text{E}+09$ spor sayılarak dişi kadvralarda erkek kadvralara göre daha çok spor olduğu tespit edilmiştir. İkinci deney grubumuzda sıcaklığın spor miktarı üzerinde etkili olmadığı bulunmuştur ($p=0,361$). Bu deney grubunda da cinsiyetin spor üretimi üzerindeki etkisine baktığımızda ise önemli olduğu ($p=0,000$) olduğu belirlenmiştir. Dişi larvalarda $2,4\text{E}+10\pm 8,6\text{E}+09$ spor, erkek larvalarda ise $1,3\text{E}+10\pm 3,7\text{E}+09$ spor sayılmıştır. Bu deney grubunda da birinci deney grubunda olduğu gibi dişi larvaların daha çok spor ihtiva ettiği tespit edilmiştir.

Mikrosporidiaların horizontal transmisyonu enfekte olan larvaların dışkıları ya da kadvraların dekompozisyonu ile gerçekleşmektedir. Sporların dışkı yoluyla salınımında artan sıcaklıkla spor salınımının başlangıcında etkili olduğu belirtilmiştir (Pollan, 2009).

Goertz ve Hoch (2008) tarafından yapılan bir çalışmada *Nosema lymantriae* ile enfekte olmuş bir larvadan dışkı yolu ile ilk spor salımının enfeksiyondan sonra 12-19 günlerde gerçekleştiği bildirilmiştir. Sıcaklığın artması ile larvaların ölüm günleri kısalmıştır ve bu durumda kadavralardan çevreye spor salınımı hızlandırır. Alan çalışmalarında enfeksiyonun gerçekleşebilmesi için larvaların daha çok spora ihtiyacı vardır (Hoch et al. 2008). Bu yüzden yüksek sıcaklık enfeksiyonun başlaması için oldukça önemlidir (Pollan, 2009).

5. SONUÇLAR

1. Mikrosporidia enfeksiyonu ilk olarak konak hücre bağırsak dokularında başladığı, buradan ipek bezine, yağ dokuya ve malpigi tüplere doğru ilerlediği belirlendi.

2. Mikrosporidiaların silk glanda tam anlamıyla vegetatif ve öncü sporların oluşturması 22°C sabit sıcaklıkta enfeksiyondan sonra 10. günde gerçekleşirken, 18°C/24°C değişken sıcaklıkta enfeksiyondan sonra 8. günde gerçekleştiği gözlemlendi.

3. Birinci deney grubunda 22°C sabit sıcaklıkta mikrosporidialar tarafından sebep olunan ölüm oranı %83 iken 18°C/24°C değişken sıcaklıkta % 96,67'dir. Bu deney grubunda her iki sıcaklıkta da ölüm enfeksiyondan sonra 32.günde tamamlandığı belirlendi.

4. İkinci deney grubunda 22°C sabit sıcaklıkta ve 14°C/26°C değişken sıcaklıkta ölüm oranı %100'dür ve 22°C sabit sıcaklıkta son ölüm enfeksiyondan sonra 33. gün iken 18°C/24°C değişken sıcaklıkta 27. gün olduğu tespit edildi.

5. Birinci deney grubundaki dişi larvaların 3-4.instar geçiş süresinin sıcaklıktan etkilenmiş olduğu ($p=0,026$), 22°C'deki dişi larvaların 3-4. instarlar arası geçiş süresinin daha kısa sürdüğü belirlendi. İkinci deney grubunda ise sıcaklığın 3-4. instar geçiş süresini etkilemediği test edildi ($p=0,435$).

6. Enfeksiyonun birinci deney grubunda ($p=0,100$) ve ikinci deney grubunda ($p=0,672$) 3-4. instar geçiş süresine etkide bulunmadığı gibi 4.instar olma süresi üzerinde birinci deney grubunda ($p=0,293$) ve ikinci deney grubunda ($p=0,832$) etkili olmadığı belirlendi.

7. Birinci deney grubu için sıcaklığın 4-5. instarlar arası geçiş dönemi üzerine etkisine bakıldığında etkili olmadığı görüldü ($p=0,165$), enfeksiyonun ise erkek larvalar üzerinde etkili olduğu ($p=0,017$), kontrol erkek larvaları $8,17\pm 0,7$ günde 4-5. instarlar arası süreyi tamamlarken enfeksiyonlu erkek larvaların ise $8,75\pm 0,7$ günde tamamladığı tespit edilmiştir.

8. İkinci deney grubunda ise sabit ve değişken sıcaklıkta dişi kontrol larvalarının 4-5. instarlar arası geçiş dönemi süresinin farklı olduğu ($p=0,044$). 22°C sabit sıcaklıkta dişi larvaların 4. instardan 5. instara geçiş süresi $9,00\pm 0,9$ gün iken 14°C/26°C değişken sıcaklıkta $9,69\pm 0,7$ gün olduğu tespit edilmiştir. Enfeksiyonun 4. instardan 5. instara geçiş süresi üzerinde dişi ($p=0,046$) ve erkek ($p=0,000$) larvalar için etkili olduğu kontrol

larvalarının 4-5. instarlar arası geçiş süresi $9,15\pm 0,9$ gün, enfeksiyonlu larvalarda ise bu sürenin $9,79\pm 0,8$ gün olduğu tespit edildi.

9. Birinci deney grubunda sıcaklığın 5. instar olma süresi üzerinde etkili olmadığı ($p=0,507$), enfeksiyonun ise erkek larvalar üzerinde etkili olduğu tespit edildi ($p=0,019$). Kontrol grubundaki erkek larvaların $9,54\pm 0,6$ günde, enfeksiyonlu larvaların ise $10,11\pm 0,9$ günde 5. instar oldukları belirlendi.

10. İkinci deney grubunda ise sıcaklığın larvaların 5. instar olma sürelerine baktığımızda ise önemli olmadığını ($p=0,201$), enfeksiyonun ise birinci deney grubunda olduğu gibi erkek larvalar üzerinde etkili olduğu belirlendi ($p=0,001$). Kontrol grubundaki erkek larvaların $9,93\pm 0,5$ günde, enfeksiyonlu larvaların ise $10,60\pm 0,8$ günde 5. instar oldukları tespit edildi.

11. Birinci deney grubunda 22°C sabit $23,33\pm 1,5$ gün ve $18^{\circ}\text{C}/24^{\circ}\text{C}$ değişken sıcaklıkta $24,29\pm 0,8$ gün ile dişi larvaların pupa süresinin farklı olduğu ($p=0,030$), aynı şekilde 22°C sabit sıcaklıkta $1,830\pm 0,3$ gr, $18^{\circ}\text{C}/24^{\circ}\text{C}$ değişken sıcaklıkta $2,108\pm 0,2$ gr olarak ağırlıklarında sıcaklığa göre değiştiği belirlendi ($0,008$). Bu deney grubunda cinsiyetin hem pupaya girme günü hem de pupa ağırlığı üzerinde etkili olduğu dişi larvaların erkek larvalara oran daha geç pupaya girdikleri ve daha ağır oldukları tespit edildi.

12. İkinci deney grubunda sıcaklığın pupaya girme süresi üzerine etki etmediği ($p=0,362$), fakat dişilerin pupa ağırlığı üzerinde etkili olduğu ($p=0,001$), 22°C 'sabit sıcaklıkta $2,255\pm 0,2$ gr iken $14^{\circ}\text{C}/26^{\circ}\text{C}$ değişken sıcaklıkta ise $1,874\pm 0,2$ gr olarak belirlendi. Bu deney grubu içinde cinsiyetin pupaya girme süresi ve pupa ağırlığı üzerinde etkili olduğu ($p=0,000$), birinci deney grubunda olduğu gibi dişi larvaların daha uzun zamanda ve daha ağır olarak pupaya girdikleri tespit edildi.

13. Birinci deney grubunda sıcaklığın dişi larvaların kadavra ağırlığı üzerinde etkili olduğu ($0,036$), 22°C sabit sıcaklıkta $1,168\pm 0,3$ gr, $18^{\circ}\text{C}/24^{\circ}\text{C}$ değişken sıcaklıkta $1,604\pm 0,6$ gr olduğu belirlendi.

14. İkinci deney grubunda 22°C sabit ve $14^{\circ}\text{C}/26^{\circ}\text{C}$ değişken sıcaklıktaki larvaların kadavra ağırlıkları arasında fark olmadığı tespit edildi ($p=0,191$).

15. Her iki deney grubu için cinsiyetin kadavra ağırlığı üzerinde etkili olduğu ($p=0,000$), dişi larvaların erkek larvalara göre daha ağır olduğu belirlendi.

16. Sıcaklığın kadavralardan yapılan spor sayımı üzerindeki etkisine baktığımızda birinci deney grubunda dişi larvalarda farklılıklar tespit edilmiş ($p=0,021$), $22C^{\circ}$ sabit sıcaklıktaki dişi kadavralarda $1,3E+10\pm 6,0E+09$, $18C^{\circ}/24C^{\circ}$ değişken sıcaklıkta $1,9E+10\pm 5,7E+09$ spor tespit edildi. İkinci deney grubumuza baktığımızda ise sıcaklığın spor sayısı üzerinde etkili olmadığı belirlendi ($p=0,361$).

17. Her iki deney grubu için cinsiyetin kadavralardan elde edilen spor miktarı üzerinde etkili olduğu ($p=0,000$), dişi kadvaralarda erkek kadavralara oranla daha çok spor olduğu tespit edilmiştir.

6. ÖNERİLER

10^3 spor/ μ l *Nosema lymantriae* sporu kullanılarak enfekte edilen larvaların 22°C sabit, 18°C/24°C ve 14°C/26°C değişken sıcaklıklarda büyütülerek, enfeksiyonun larvaların gelişim parametrelerine olan etkisinin, sıcaklığın, enfeksiyonun ve larva üzerinde etkisi izlenmiştir. Bu deney sonuçları ışığında ileriye yönelik olarak aşağıdaki çalışmalar yapılabilir.

1. *Nosema lymantriae* sporlarının miktarını ölüm zamanını kısaltabilmek için artırılarak yeni enfeksiyon çalışmaları yapılabilir.
2. Sıcaklığın enfeksiyon üzerindeki etkisini belirlemek amacı ile başka sıcaklık dereceleri kullanılabilir.
3. Enfeksiyonun hızı üzerinde etkili olan başka abiyotik faktörler araştırılabilir.
4. *Nosema lymantriae*'nin insektisidal etkisi başka tarım zararlısı Lepidopterler üzerinde denenebilir.
5. *N. lymantriae*'nin insektisidal etkisi diğer biyolojik ajanlarla birlikte kullanılarak, daha hızlı ölüm günleri elde edilebilmek adına denenebilir.

7. KAYNAKLAR

- Aksoy, Ü. ve Usluca S., 2007. Microsporidiosis ve immunolojisi, Özcel M.A., İnci A., Tugay N., Köroğlu E., Tıbbi ve Veteriner İmmunoparazitoloji, 102-120.
- Anderson, R. M., ve May, R. M., 1981. The population dynamics of microparasites and their invertebrate hosts, Phil. Trans. R. Soc. London, 291, 451–524.
- Anonim, 2008. Ziraî Mücadele Teknik Talimatları Cilt 4, T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Arguelles J.C., 2000. Physiological roles of trehalose in bacteria and yeasts: a comparative analysis, Arch. Microbiol., 174, 217–224.
- Baker, M.D., Vossbrinck C.R., Maddox J.V. ve Undeen A.H., 1994. Phylogenetic relationships among *Vairimorpha* and *Nosema* species (Microspora) based on ribosomal RNA sequence data., J. Invertebr. Pathol., 64, 100-106.
- Balbani, 1882. When ranked as a phylum., J. Invertebr. Pathol., 71, 91-94.
- Bauer, L.S., Miller, D.L., Maddox, J.V. ve McManus, M.L., 1998. Interactions between a *Nosema* sp. (Microspora: Nosematidae) and nuclear polyhedrosis virus infecting the gypsy moth, *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae), J. Invertebr. Pathol., 74, 147-153.
- Becnel, J.J. ve Andreadis, T.G., 1999. Microsporidia in insects, Wittner, M., Weiss, L.M. The Microsporidia and Microsporidiosis, 447-501, ASM Press, Washington.
- Bell, R.A., Owens, C.D., Shapiro, M. ve Tardi, V.J.R., 1981. Mass rearing and virus production. Doane, C.C.ve McManus, M.L., The Gypsy Moth: Research toward Integrated Pest Management, 599-633, USDA Washington (U.S. Dept. Agric. For. Serv. Tech. Bull. 1584).
- Bigliardi E. ve Sacchi L., 2001. Cell biology and invasion of the microsporidia. Microbes Infect 3, 373-379.
- Boohene, C.K., Geden, C.J. ve Becnel, J.J., 2003. Development of microsporidia-infected *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera: Pteromalidae) at different temperatures, Biol. Contr., 26, 1-7.
- Brooks, W.M., 1993. Host-parasitoid-pathogen interactions, Beckage N. ve Federici B. Parasites and Pathogens of Insects., 231-272, Academic Press.
- Buse A., Good J.E.D., Dury S., Perrins C.M., 1998. Effects of elevated temperature and carbon dioxide on the nutritional quality of leaves of oak (*Quercus robur* L.) as food for the winter moth (*Operophtera brumata* L.), Funct. Ecol., 12, 742-749.

- Cabral, Maria Teresa, E.C., 1977. Papel das doencas na limitacao natural das populacoes de *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae), An. do Inst. Super. de Agron. da Univ. Tec. de Lisb., 37, 153-177.
- Cali, A. ve Takvorian, P.M., 1999. Developmental Morphology and Life Cycles of the Microsporidia, Wittner, M. ve Weiss, L.M., The Microsporidia and Microsporidiosis, 85-128, ASM Press, Washington.
- Canning EU., 2001. *Microsporidia*, Gillespie S.H., Pearson R.D., Principles and Practice of Clinical Parasitology, 171-91., Wiley.
- Canning, E. U., 1962. The life cycle of *Nosema locustae* Canning in *Locusta migratoria migratorioides* Reiche and Fairmaire), and it's infectivity to other hosts., J. Insect Pathol., 4, 237-247.
- Canning, E.U., P.J., Wigley ve R. J., Barker, 1983. The taxonomy of 3 species of microsporidia (Protozoa, Microspora) from an oakwood population of winter moths, *Operophtera brumata* (L) (Lepidoptera, Geometridae). Systematic Parasit., 5.
- Canning, E.U., 1962. The life cycle of *Nosema Locustae* Canning in *Locusta migratoria migratorioides* Reiche and Fairmaire, and it's infectivity to other hosts, J. Insect Pathol., 4, 237-247.
- Desportes I., Le Charpentier Y., Galian A., vd., 1985. Occurrence of a new microsporidan: *Enterocytozoon bieneusi* n.g., n. sp., in the enterocytes of a human patient with AIDS, J. Protozoo., 32, 250-254.
- Didier ES, 2005. Microsporidiosis: an emerging and opportunistic infection in humans and animals, Acta Trop., 94, 61-76.
- Edlind T.D., Li J., Visvesvara G.S., Vodkin M.H., Mc Laughlin G.L. ve Katiyar S.K., 1996. Phylogenetic analysis of beta-tubulin sequences from amitochondrial protozoa, Mol. Phylogenet. Evol., 96, 359-367.
- Elizabeth S., Didier ve Louis M.W., 2006. Microsporidiosis: current status, Curr. Opin. Infect. Dis., 19, 485-92.
- Franz ve Huger, 1971. Microsporidia causing the collapse of an outbreak of the green tortrix *Tortrix viridana* L. in Germany., Proc. Int. Colloq. Insect Pathol. 4. College, MD, 48-53.
- Franzen C. ve Muller A., 1999. Molecular techniques for detection, species differentiation, and phylogenetic analysis of microsporidia, Clin. Microbiol. Rev., 12, 243-285.
- Frixione, E., Ruiz, L., Santillan, M., de Vargas, LV., Tejero, JM. Ve Undeen, AH., 1992. Dynamics of polar filament discharge and sporoplasm expulsion by microsporidian spores, Cell Motil. Cytoskelet., 22, 38-50.

- Garcia L.S., 2001. Intestinal Protozoa (Coccidia and Microsporidia) and Algae, 60-97, ASM Pres, Washington.
- Garcia L.S., 2002. Laboratory identification of the microsporidia, J. Clin. Microbiol., 40, 1892-901.
- Gaugler, R.R. ve W.M. Brooks., 1975. Sublethal effects of infection by *Nosema heliothidis* in the corn earworm, *Heliothis zea.*, J. Invertebr. Pathol., 26, 57-63.
- Goertz, D. ve Hoch, G., 2008. Horizontal transmission pathways of terrestrial microsporidia: A quantitative comparison of three pathogens infecting different organs in *Lymantria dispar* L. (Lep.: Lymantriidae) larvae, Biol. Control, 44, 196-206.
- Hendrick, R.P., Groff J.M. ve Baxa, D.V., 1991. Experimental infections with *Nucleospora salmonis* n. g., n. s.: an intranuclear microsporidium from chinook salmon (*Oncorhynchus tshawitscha*), Am. Fish.Soc. Newsl.
- Henn, M.W. ve Solter, L.F., 2000. Food Utilization Values of Gypsy Moth *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) Larvae Infected with the Microsporidium *Vairimorpha* sp. (Microsporidia: Burenellidae), J. Invertebr. Pathol., 76, 263-269.
- Hirt, R.P., Logsdon, J. M., Jr, Healy, B., Dorey, M.W., Doolittle, W.F. ve Embley, T.M., 1999. Microsporidia are related to fungi: evidence from the largest subunit of RNA polymerase II and other proteins, Proc Natl Acad Sci (USA), 46, 580-585.
- Hoch, G., D'Amico, V., Solter, L.F., Zubrik, M. ve McManus, L.M., 2008. Quantifying horizontal transmission of *Nosema lymantriae*, a microsporidian pathogen of the gypsy moth, *Lymantria dispar* (Lep., Lymantriidae) in field cage studies, J. Invertebr. Pathol., 99, 146-150.
- Hoch, G., Schopf, A. ve Maddox, J.V., 2000. Interactions between an entomopathogenic microsporidium and the endoparasitoid *Glyptapanteles liparidis* within their host, the gypsy moth larva, J. Invertebr. Pathol., 75, 59-68.
- Hoch, G., Verucchi, S. ve Schopf, A., 2008. Microsporidian pathogens of the oak processionary moth, *Thaumetopoea processionea* (L.) (Lep., Thaumetopoeidae), in eastern Austria's oak forests, Mitt. dtsh. Ges. Allg. Angew. Ent., 16, 225-228.
- Howarth, F. G., 1991. Environmental impacts of classical biological control, Annu. Rev. Entomol., 36, 485-509.
- Jeffords M. R., Maddox J. V., McManus M. L., Webb R. E., ve Wieber A., 1988. Egg Contamination As A Method For the Inoculative Release of Exotic Microsporidia of The Gypsy Moth, J. Invetebr. Pathol., 51, 190-196.
- Jeffords, M.R., Maddox, J.V., McManus, M.L., Webb, R.E. ve Wieber, A., 1989. Evaluation of the overwintering success of two European microsporidia

- inoculatively released into gypsy moth Populations in Maryland, J. Invertebr. Pathol., 53, 253-240.
- Johnson, D. L., 1997. Nosematidae and other Protozoa as agents for control of grasshoppers and locusts: current status and prospects, Memoirs Ent. Soc. Can., 171, 375-389.
- Kahraman, Ü., Daldal, N., Atambay, M. ve Çolak C., 2009. The epidemiology of microsporidiasis in humans (Malatya sample), Turk J. Med. Sci., 39, 281-288.
- Keohane, E.M. ve Weiss, L.M., 1999. The structure, function, and composition of the microsporidian polar tube, Wittner, M., Weiss, L.M., The Microsporidia and Microsporidiosis, ASM Press, Washington, 105, 196–224.
- Lacey, L. A., Frutos, R., Kaya, H. K. ve Vail, P., 2001. Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future?, Biol. Control, 21, 230-248.
- Laigo, F.M. ve J.D. 1968. Paschke., *Pteromalus puparum* L. parasites reared from granulosis and microsporidiosis infected.
- Lange, C.E. ve Lanteri, A.A., 1999. Usefulness of protozoa for the biological control of acridians (Orthoptera: Acridoidea), Proc. IV Argentine Cong. of Entomol., Rev.Soc. Entomol. Arg. 58: 1-2. 26-33.
- Linde, A., Genthe, C. ve Lacker J., 1998. The Effects of Artificial Infections with Microsporidia on Gypsy Moth (*Lymantria dispar*) and Nun Moth (*Lymantria monacha*) - First Results, Proceedings: Population Dynamics, Impacts, and Integrated Management of Forest defoliating Insects. USDA Forest Service General Technical Report NE-247, 198-205.
- Lipa, J.J., 1976. Microsporidians parasitizing the green tortrix in Poland and their role in the collapse of the tortrix outbreak in Puszeza Niepoilonicka during 1970-1974, Acta Protozool., 15, 529-536.
- Lockwood, J. A., 1993. Environmental issues involved in biological control of rangeland grasshoppers (Orthoptera: Acrididae) with exotic agents, Environ. Entomol., 22, 503–518.
- Lom, J. ve V'avra, J., 1963. The mode of sporoplasm extrusion in microsporidian spores, Acta Protozool., 1, 81–92.
- Maddox, J. M., McManus, M. L., ve Solter L. F., 1998. Microsporidia Affecting forest Lepidoptera., Mcmanus M.L. ve Liebold A.M, Proceedings of Population Dynamics, Impacts and Integrated Management of Forest Defoliating Insects, USDA Forest Service General Technical Report, 247, 198-205.
- Maddox, J. V., Protozoan diseases, Fuxa, J. R. ve Tanada, Y., 1987. Epizootiology of Insect Diseases, Wiley, NY.

- Maddox, J.M. ve Solter, L.F., 1996. Long-term storage of viable microsporidian spores in liquid nitrogen, J. Eukaryot. Microbiol., 43, 211-225.
- McManus, M.L. ve Solter L.F., 2003. Microsporidian Pathogens in European Gypsy Moth Populations, Mcmanus ve A.M. Liebhold, Proceedings: Ecology Survey and Management of Forest Insects, Krakow, Poland, Gen. Tech. Rep. NE-311, USDA Forests Service, Newton Square, Pennsylvania, 44-45.
- Miller, M., ve Aplet, G., 1993. Biological control: A little knowledge is a dangerous thing, Rutgers Law. Rev., 45, 285-335.
- Nalçacıoğlu, R., Katı, H., Demir, İ., Sezen, K. ve Ertürk, Ö., 2008. Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele, Demirbağ, Z., ISBN: 978-975-93278-2-8, Esen Ofset Matbacılık, Trabzon.
- Ok, Ü.Z. ve Limoncu M.E., 2007. Microsporidiosis, Özcel, M.A., 397-409, İzmir.
- Ordu Tarım İl Müdürlüğü Bitki Koruma Şube Müdürlüğü, 2003.
- Öymen, R.T., 1985. *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera, Lymantriidae)'ın Morfolojik Özellikleri.
- Patrick, J., Keeling ve Naomi, M., 2002. Fast, Microsporidia: Biology and Evolution of Highly Reduced Intracellular Parasites, Annu. Rev. Microbiol 56, 93-116.
- Pollan, S., 2009. Effect of temperature on development of the microsporidium *Nosema lymantriae* and disease progress in the host *Lymantria dispar*, *Yüksek Lisans*, BOKU University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna.
- Quednau, F.W., 1968. Natural control of larch sawfly at Carleton Bonaventure County, Quebec Province, Canada. (*Thelohania, Pristophorae*), Can. Dept. Forest Rural Develop. Bi-Mon. Res. Notes ,24.
- Richard, L. L., Karı, A. K., Jocelyn D. C ., 1997. Hemming ve Anita M . Feuker, Variation in temperature and dietary nitrogen affect performance of the gypsy moth (*Lymantria dispar* L.), Physiol. Entomol., 22, 55-64.
- Romanyk, N., 1966. Enemigos naturales de la *Lymantria dispar* L. en Espana., Bol. del. Servi. De Palagas For., 9 (18), 157-163.
- Ryan, N.J., Sutherland, G., Coughlan, K., vd., 1993. A new trichrome-blue stain for detection of microsporidial species in urine, stool, and nasopharyngeal specimens, J. Clin. Microbiol. 31, 3264-9.
- Sidor, C., 1979. The role of insect pathogenic microorganisms in the protection of environment, Mikrobiologija, 16, 173-186.

- Siegel, J.P., Maddox, J.V. ve Ruesink, W.G., 1986. The impact of *Nosema pyrausta* on a brachonid, *Macrocentrus grandis* in central Illinois, J. Invertebr. Pathol., 47, 271-276.
- Solter, L.F. ve Becnel, J.J., Lacey, L.A. ve Kaya, H.K. 2000. Entomopathogenic Microsporidia.
- Solter, L.F. ve Maddox, J.V., 1998. Physiological Host Specificity of Microsporidia as an Indicator of Ecological Host Specificity, J. Invertebr. Pathol., IN974740, 207-216.
- Sprague, V. ve Becnel, J.J., 1998. Note on the name-author-date combination for the taxon.
- Stamp, N.E., 1990. Growth versus molting time of caterpillars as a function of temperature., nutrient concentration and the phenolic rutin, Oecologia, 82, 107-113.
- Takvorian, P.M. ve Cali A., 1994. Enzyme histochemical identification of the Golgi apparatus in the microsporidian, *Glugea stephani.*, J. Eukaryot. Microbiol., 41, 63-64.
- Thomson, H.M., 1959. A microsporidian parasite of the forest tent caterpillar *Malacosoma disstria*, Hbn. Can. J. Zool., 37, 217-221.
- Timofejava, E.R., 1956. Nozematoz neparnogo shelkoprjada. Infekt. i protoz. bol. pol. i vred, nasekoych, 210-219.
- Türk, S. ve Doğruman-Al, F., 2009. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Enfeksiyon Dergisi Turkish Journal of Infection, 23 (2), 89-95.
- Undeen, A.H. ve Frixione, E., 1990. The role of osmotic pressure in the germination of *Nosema algerae* spore., J. Protozool., 37, 561-67.
- Undeen, AH. ve Frixione, E., 1990. The role of osmotic pressure in germination of *Nosema algerae* spores, J. Protozool., 37, 561-567.
- Undeen, AH., ve Vander Meer, RK., 1994. Conversion of intrasporal trehalose into reducing sugars during germination of *Nosema algerae* (Protista: Microspora) spores: a quantitative study., J. Eukaryot. Microbiol., 41, 129-132.
- Undeen, A.H. ve Epsky, N.D., 1990. *In vitro* and *in vivo* germination of *Nosema locustae* (Microsporidia: Nosematidae) spores, Invertebr. Pathol., 56, 371-79.
- Undeen, A.H., Elgazzar, L.M., Vander Meer, R.K. ve Narang S., 1987. Trehalose levels and trehalase activity in germinated and ungerminated spores of *Nosema algerae* (Microspora: Nosematidae), J. Invertebr. Pathol., 50, 230-37.

Undeen, A.H., Johnson, M.A. ve Becnel, J.J., 1993. The Effects of Temperature on the Survival of *Edhazardia aedis* (Microspora: Amblyosporidae), a Pathogen of *Aedes aegypti*, J. Invertebr. Pathol., 61, 303-307.

URL-1. www.istanbultarim.gov.tr. Bitki Koruma. 3 Mayıs 2011.

URL-2. www.angelfire.com. *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera-Lymantridae) Zararı ve Mücadele. 1 Haziran 2011.

URL- 3. Öymen,T., *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera-Lymantridae) Zararı ve Mücadele, www.angelfire.com. 1 Haziran 2011.

URL -4. Yıldız, N., *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera-Lymantridae) Zararı ve Mücadele, www.angelfire.com. 1 Haziran 2011.

URL- 5. www.ormanci.net. *Lymantria dispar*. 4 Haziran 2011.

URL -6. <http://en.wikipedia.org>. Gypsy_moth . 1 Haziran 2011.

URL-7. Della beffa, G., *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera-Lymantridae) Zararı ve Mücadele, www.angelfire.com. 1 Haziran 2011.

URL-8. Chararas, C., *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera-Lymantridae) Zararı ve Mücadele, www.angelfire.com. 1 Haziran 2011.

URL-9. Schwenke, W. ve *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera-Lymantridae) Zararı ve Mücadele, www.angelfire.com. 1 Haziran 2011.

URL- 10. www.haberler.com.Kocaelinde Kırtırtılı Zararlarıyla Mücadele. 28 Mayıs 2011.

URL-11. Kegg, J.D., *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera-Lymantridae) Zararı ve Mücadele, www.angelfire.com. 1 Haziran 2011.

URL-12. Mcmanus, M., Schneeberger, N., Reardon, R. ve Mason, G., *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera-Lymantridae) Zararı ve Mücadele, www.angelfire.com. 1 Haziran 2011.

URL- 13.www.tarimziraat.com. Hastalık ve zararlılar Meyve Zararlıları Kırtırtılı. 25 Mayıs 2011.

URL-14. Weeden, C.R., Shelton, A.M., ve Hoffman, M.P., Biological Control: A Guide to Natural Enemies in North America, www.nysaes.cornell.edu, 5 Şubat 2011.

URL-15.www.tegim.com/egitim/dosyalar/szbolumler/ziraat/715Turkiyedealanlarinin-azalması.html. 10 Mayıs 2011.

URL-16. http://sgp.dna.affrc.go.jp/ETDB/termdef/sample_photo.html, 20 Şubat 2011.

- URL-17. www.sahracevre.com. Orman Zararlıları ile Mücadele Hizmetleri. 3 Haziran 2011.
- V'avra, J. ve Larsson, J. I. R., 1999. Structure of the microsporidia, 105, 7–84.
- Weiser, J. ve J. Veber, 1975. Die mikrosporidie *Thelohania hyphantriae* Weiser des Weissen barens spinner (*Hyphantriae cunea*) und anderer mitghiden seiner luaconose., Z. fur Angew Ent., 40, 55-70.
- Weiser, J. ve Novontny, J., 1987. Field application of *Nosema lymantriae* against the gypsy moth, *Lymantria dispar* L., J. Appl. Ent., 104, 58-62.
- Weiser, J., 1957. Mikrosporidien des Schwammspinners und Goldafters, Z. Angew., Entomol., 40, 509-527.
- Weiser, J., Patterns over place and time, Fuxa, J. R. ve Yoshinori, T., 1987. Epizootiology of Insect Diseases., 215-244, John Wiley ve Sons, New York.
- Weiser, J., 1964. Protozoan diseases of the gypsy moth, Proc. Int. Congr. Protozool, 1, 497-499.
- Weiss, L. M., 2001. Microsporidia: emerging pathogenic protists, Acta Tropica, 78, 89-102.
- Weissenberg, R., 1976. Microsporidian interactions with host cells, Comparative Pathobiology, Vol. 1. Biology of the Microsporidia, Bulla, L. A. ve Cheng, 203–38, New York, Plenum.
- Wellenstein, G. ve Schwenke, W., *Lymantria* Hbn.(=Psilura Spth.) 1978. Die Forstschaldinge Europas. Band III. Schmetterlinge., Paul Parey, 334-49, Hamburg and Berlin.
- Wigglesworth, V.B., 1972. The principles of Insect Physiology. Chapman and Hall, 827, London.
- Williams, R. S. , Lincoln, D. E. ve Norby, R. J., 2003. Development of gypsy moth larvae feeding on red maple saplings at elevated CO2 and temperature, Oecologia 137, 114–122.
- Wilson, G.G. ve J.M. Burke, 1971. *Nosema thomsoni* n. sp., a microsporidian from *Choristoneura conflictana* (Lepidoptera: Tortricidae). Can. , J. Zool., 49, 786-788.
- Wilson, G.G. ve J.M., Burke, 1978. Microsporidian parasites of *Archips cerasivoranus* (Fitch) in the District of Algoma, Ontario. Proc. Entomol. Soc. of Ontario, 109, 84-85.
- Wittner, M., 1999. Historic perspective on the microsporidia: expanding horizons, Wittner, M. ve Weiss, L. M., The Microsporidia and Microsporidiosis, 1-6 ASM Press, Washington.

- Zaslavski, V.A., 1988. Insect development. Photoperiodic and temperature control, 187, Springer, Berlin.
- Zelinskaya, L.M., 1981. Using the index of imago infection by spores of microsporidia for predicting the reproduction of *Lymantria dispar*. Lesn. Khoz., 4, 58-60.
- Zwölfer, W., Studien zur Ökologie, insbesondere zur Bevölkerungslehre der Nonne, *Lymantria Monocha* L., Z. Angew.

ÖZGEÇMİŞ

10.08.1986 tarihinde Trabzonda doğdu. İlk okulu Aşık Veysel İlkokulun'da, Liseyi İstanbul Atatürk Lisesinde tamamladı. 2004-2008 Eğitim-Öğretim yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde lisans öğrenimini tamamladı. 2008 yılında bu bölümden Biyolog ünvanıyla mezun oldu. Mezun olduktan sonra aynı yıl Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Yüksek Lisans eğitimi sırasında 2011 Güz döneminde, Avrupa Birliği ERASMUS Öğrenci Değişimi Programı kapsamında 6 ay süre ile Avusturya'nın BOKU-Natural Resources and Applied Life Sciences Üniversite'sinde Institute of Forest Entomology, Forest Pathology and Forest Protection'da bulunmuş olup, iyi derecede İngilizce bilmektedir.