

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***DENDROCTONUS MICANS* (KUGELANN)'TAN İZOLE EDİLEN *BEAVERIA BASSIANA* (BALSAMO)'NİN BAZI KABUK BÖCEKLERİNİN BİYOLOJİK MÜCADELESİNDE KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Seda KOCAÇEVİK

**EYLÜL 2012
TRABZON**

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***DENDROCTONUS MICANS* (KUGELANN)'TAN İZOLE EDİLEN *BEAUFERIA BASSIANA* (BALSAMO)'NİN BAZI KABUK BÖCEKLERİNİN BİYOLOJİK MÜCADELESİNDE KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Seda KOCAÇEVİK

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nce
“YÜKSEK LİSANS (BİYOLOJİ)”
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 14.08.2012
Tezin Savunma Tarihi : 17.09.2012**

Tez Danışmanı : Doç Dr. İsmail DEMİR

Trabzon 2012

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalında

Seda KOCAÇEVİK tarafından hazırlanan

***DENDROCTONUS MICANS (KUGELANN)'TAN İZOLE EDİLEN BEAUVERIA
BASSIANA (BALSAMO)'NİN BAZI KABUK BÖCEKLERİNİN BİYOLOJİK
MÜCADELESİNDE KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI***

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 14/08/2012 gün ve 1470/01 sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Mahmut EROĞLU

Üye : Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ

Üye : Doç. Dr. İsmail DEMİR

Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

“*Dendroctonus micans* (Kugelann)’tan izole edilen *Beauveria bassiana* (Balsamo)’nın bazı kabuk böceklerinin biyolojik mücadelesinde kullanılabilirliğinin araştırılması ” başlıklı bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda “Yüksek Lisans Tezi” olarak hazırlanmıştır.

Yüksek lisans tez danışmanlığımı üstlenerek gerek konunun seçiminde gerekse çalışmaların planlanıp değerlendirilmesinde maddi manevi yardımlarını ve ilgisini esirgemeyen hocam Sayın Doç. Dr. İsmail DEMİR’e, çalışmam boyunca destek olan hocam Sayın Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ’a ve tezin geliştirilmesinde yardımcı olan tez jüri üyelerimden Sayın Prof. Dr. Mahmut EROĞLU’ a hocama teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Kazım SEZEN, Sayın Doç. Dr. Remziye NALÇACIOĞLU, Sayın Yrd. Doç. Dr. Ali SEVİM’e ve diğer Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımın yürütülmesindeki desteklerinden dolayı Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimine (2009.111.004.2) ve TÜBİTAK (110O165)’a ve böceklerin toplanmasındaki katkılarından dolayı Orman Mühendisi Rasim AKTÜRK’e teşekkürlerimi sunarım.

Benden hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen, varlıklarıyla güç veren anneme, babama, kardeşlerime ve zor zamanlarımı her zaman yanımda olan Gökhan Halil BİRYOL’a yaptıkları için teşekkür ederim.

Seda KOCAÇEVİK

Trabzon 2012

TEZ BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “*Dendroctonus micans* (Kugelann)’tan izole edilen *Beauveria bassiana* (Balsamo)’nın bazı kabuk böceklerinin biyolojik mücadelesinde kullanılabilirliğinin araştırılması ” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Doç. Dr. İsmail DEMİR’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. 14/08/2012

Seda KOCAÇEVİK

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
	<u>No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZBEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER	V
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ.....	XIII
SEMBOLLER DİZİNİ	XIV
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. <i>Dendroctonus micans</i> , Dev Soymuk Böceği (K) (Coleoptera: Scolytidae).....	5
1.2.1. <i>Dendroctonus micans</i> 'ın Yayılışı.....	5
1.2.2. <i>Dendroctonus micans</i> 'ın Zararı.....	6
1.2.3. <i>Dendroctonus micans</i> 'ın Biyolojisi.....	8
1.2.3.1. Yumurta.....	8
1.2.3.2. Larva	8
1.2.3.3. Pupa.....	8
1.2.3.4. Ergin.....	8
1.2.4. <i>Dendroctonus micans</i> 'ın Yaşam Döngüsü.....	9
1.2.5. <i>Dendroctonus micans</i> ile Mücadele	12
1.2.6. Entomopatojenik Funguslar (EPF).....	14
1.2.6.1. Entomopatojenik Fungusların Sınıflandırılması	14
1.2.6.2. Entomopatojenik Fungusların Genel Özellikleri	17
1.2.6.3. Entomopatojenik Fungusların Biyolojileri.....	18
1.2.6.4. <i>Beauveria</i> Cinsinin Taksonomik Özellikleri.....	19
1.3. Fungal Enfeksiyon	20

1.3.1.	Entomopatojenik Fungusların Etki Şekilleri.....	22
1.3.2.	Entomopatojenik Fungusların Özgüllüğü ve Konak Seçiciliği.....	23
1.3.3.	Entomopatojenik Fungusların Dağılımı ve Yayılımı.....	24
1.3.4.	Entomopatojenik Fungusların Avantaj ve Dezavantajları	26
1.4.	Tezin Amacı	27
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR	28
2.1.	Fungal İzolat.....	28
2.2.	Dm-5'in Moleküler Karakterizasyonu	28
2.2.1.	DNA İzolasyonu.....	28
2.2.2.	rRNA ITS1-5.8S-ITS2 Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması	29
2.2.3.	Uzama Faktörü-1-alfa (EF1- α) , <i>RPB1</i> , <i>RPB2</i> , <i>Bloc</i> ve Gen Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması.....	29
2.3.	Böceklerin Toplanması ve Laboratuarda Beslenmesi.....	31
2.4.	Dm-5'in Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması	31
2.5.	Dm-5'in Farklı Dozlarının <i>D. micans</i> Larva ve Erginleri Üzerindeki Etkileri.....	32
2.6.	Dm-5'in <i>D. micans</i> Populasyonundaki Horizontal Yayılımı	33
2.7.	Dm-5 'in Kütük Denemelerinde <i>D. micans</i> Üzerindeki Etkileri.....	34
2.8.	Dm-5'in <i>Ips sexdentatus</i> (Boerner) ve <i>Ips typographus</i> (Linnaeus) Ergin Üzerindeki Etkileri	35
2.9.	Dm-5'in <i>Ips sexdentatus</i> (Boerner) ve <i>Ips typographus</i> (Linnaeus) Populasyonlarında Horizontal Yayılımı.....	36
2.10.	Dm-5'in <i>Rhizophagus grandis</i> (Gyllenhal) (Coleoptera: Rhizophagidae Üzerindeki Etkileri	36
2.10.1.	Direk Etkileri.....	36
2.10.2.	Dolaylı Etkileri.....	37
3.	BULGULAR	38
3.1.	Dm-5 'in Moleküler Karakterizasyonu	38
3.1.1.	Dm-5'in Uzama Faktörü-1-alfa (EF1- α), <i>RPB1</i> , <i>RPB2</i> , <i>Bloc</i> Gen Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması.....	39
3.2.	Dm-5'in Farklı Dozlarının <i>Dendroctonus micans</i> Üzerindeki Etkileri....	45
3.2.1.	<i>D. micans</i> Larvaları Üzerindeki Etkisi.....	45
3.2.2.	<i>D. micans</i> Erginleri Üzerindeki Etkisi	47
3.3.	Dm-5'in <i>Dendroctonus micans</i> Populasyonundaki Horizontal Yayılımı.....	50

3.3.1.	<i>D. micans</i> Larva Populasyonunda Yayılımı.....	50
3.3.2.	<i>D. micans</i> Ergin Populasyonunda Yayılımı	52
3.4.	<i>D. micans</i> 'ın Kütük Denemeleri	54
3.5.	Dm-5 'in Faklı Dozlarının <i>Ips sexdentatus</i> ve <i>Ips typographus</i> Ergin Üzerindeki Etkileri	61
3.5.1.	<i>Ips sexdentatus</i> ve <i>Ips typographus</i> Erginleri Üzerinde Etkileri	61
3.5.2.	Dm-5'in <i>Ips sexdentatus</i> ve <i>Ips typographus</i> Ergin Populasyonundaki Horizontal Yayılım.....	65
3.6.	Dm-5'in (<i>Dendroctonus micans</i>)' ın <i>Rhizophagus grandis</i> Üzerindeki Etkileri.....	68
3.6.1.	Direk Etkileri.....	68
3.6.2.	Dolaylı Etkileri.....	70
4.	TARTIŞMA	72
5.	SONUÇLAR	79
6.	ÖNERİLER	81
7.	KAYNAKLAR	82
8.	EKLER	90
	ÖZGEÇMİŞ	

Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

DENDROCTONUS MICANS (KUGELANN) TAN İZOLE EDİLEN *BEAUVERIA BASSIANA* (BALSAMO)'NIN KABUK BÖCEKLERİNİN BİYOLOJİK MÜCADELESİNDE KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Seda KOCAÇEVİK

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İsmail DEMİR
2012, 89 Sayfa, 3 Sayfa Ek

Bu tezde *Dendroctonus micans*'tan izole edilen *Beauveria bassiana* (Dm-5, ARSEF 9271)'nin moleküler karakterizasyonu gerçekleştirildi. Bu izolatın *D. micans* ve diğer kabuk böcekleri üzerindeki virulansı belirlenerek mikrobiyal mücadelede kullanılabilirliği araştırıldı. Dm-5'in, 1×10^8 spor/ml'lik konsantrasyonun *D. micans* larva ve erginleri üzerinde sırasıyla enfeksiyondan 6 ve 5 gün sonra %100'lük etkiye sahip olduğu tespit edildi. İzolatın *D. micans*'ın larva ve ergin popülasyonlarında etkin bir şekilde horizontal olarak yayıldığı gözlemlendi. İzolatın, 1×10^6 spor/ml'lik konsantrasyonunun % 100, 75, 50 ve 25 oranlarında *D. micans* larvalarına bulaştırılmasıyla gerçekleştirilen kütük denemelerinde, ölüm oranlarının sırasıyla % 100, 97,22, 70,37 ve 62,03 olduğu belirlendi. Dm-5'in, *D. micans*'ın predatörü olan *Rhizophagus grandis* üzerindeki etkileri direk ve dolaylı olarak araştırıldı ve *R. grandis*'in izolata karşı oldukça dayanıklı olduğu tespit edildi. İzolatın, 1×10^8 spor/ml'lik konsantrasyonun *Ips sexdentatus* ve *Ips typographus* erginleri üzerinde sırasıyla enfeksiyondan sonra 5. ve 7. günlerde %100 ölüm sağladığı belirlendi. İzolatın her iki zararlıının ergin popülasyonlarında da etkili bir şekilde horizontal olarak yayıldığı tespit edildi. Bu sonuçlar, Dm-5'in kabuk böceklerine karşı kullanılabilecek umut verici bir biyolojik kontrol ajanı olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Dendroctonus micans*, *Rhizophagus grandis*, *Ips sexdentatus*, *Ips typographus*, *Beauveria bassiana*, entomopatojenik fungus

Master Thesis

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE USAGE OF *BEAUVERIA BASSIANA* (BALSAMO) ISOLATED FROM *DENDROCTONUS MICANS* (KUGELANN) AT BIOLOGICAL CONTROL OF BARK BEETLES

Seda KOCAÇEVİK

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Biology Graduate Program
Supervisor: Assoc. Prof. Ismail DEMİR
2012, 89 Pages, 3 Pages Appendix

In this thesis, molecular characterization of *Beauveria bassiana* (Dm-5, ARSEF 9271), isolated from *Dendroctonus micans*, has been performed. The virulence of this isolate on *D. micans* and other bark beetles was determined and its utility in microbial has been investigated. 1×10^8 spores / ml concentration of Dm-5 caused 100% mortality on larvae and adult of *D. micans* within 5 and 6 days, respectively. It is observed that the isolate was effectively spread horizontally between larvae and adult populations *D. micans*. At wood block (from spruce) experiments, which the isolate was spread on *D. micans* larvae at 100, 75, 50 and 25 percentages, using from 1×10^6 spores/ml concentration stock, gave mortalities at 100, 97.22, 70.37, and 62.03 percentages, respectively. The effects of Dm-5 on *Rhizophagus grandis* which is the predator of *D. micans* has been investigated directly or indirectly and it is determined that *R. grandis* is quite resistant to the isolate. 1×10^8 spores/ml concentration of the isolate showed 100% mortalities on adults of *Ips sexdentatus* and *Ips typographus* within 5 and 7 days for the insects, respectively. It is also observed that the isolate was effectively spread horizontally on adult populations of both pests. These results show that, Dm-5 is a promising biological control agent that can be used against bark beetles.

Key Words: *Dendroctonus micans*, *Rhizophagus grandis*, *Ips sexdentatus*, *Ips typographus*, *Beauveria bassiana*, entomopathogenic fungi

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. <i>Dendroctonus micans</i> 'ın ladin üzerindeki zararı	7
Şekil 2. <i>Dendroctonus micans</i> 'ın hayat evreleri	9
Şekil 3. <i>Beauveria</i> cinsinin morfolojik özellikleri	20
Şekil 4. Böcek kütikulasındaki fungal enfeksiyon basamakları.....	21
Şekil 5. ITS1-5.8S-ITS2 bölgesini çoğaltmak için kullanılan primerlerin pozisyonları..	30
Şekil 6. Çalışmalarda kullanılan <i>D. micans</i> larva ve erginlerinin ladin ağaç gövdelerinden toplanması.	31
Şekil 7. <i>D. micans</i> larvalarının patojenite testlerinde kullanılan biyotest düzenekleri. ...	33
Şekil 8. Kütük denemeleri için hazırlanmış deney düzenekleri.	35
Şekil 9. Dm-5'in ITS dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı	39
Şekil 10. Dm-5'in moleküler karakterizasyonu.	40
Şekil 11. Dm-5'in Rehner vd. (2011)'lerinin çalışmasında kullanılan <i>Beauveria</i> türlerinin EF1- α dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı	41
Şekil 12. Dm-5'in Rehner vd. (2011)'lerinin çalışmasında kullanılan <i>Beauveria</i> türlerinin Bloc dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı.....	42
Şekil 13. Dm-5'in Rehner vd. (2011)'lerinin çalışmasında kullanılan <i>Beauveria</i> türlerinin RPB1 dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı.....	43
Şekil 14. Dm-5'in Rehner vd. (2011)'lerinin çalışmasında kullanılan <i>Beauveria</i> türlerinin RPB2 dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı.....	44
Şekil 15. Dm-5'in <i>Dendroctonus micans</i> larvaları üzerindeki doz denemeleri	45
Şekil 16. Biotest sırasında 1×10^8 ile enfekte olan <i>D. micans</i> larvaları.....	46
Şekil 17. Doz denemesi sonucunda ölen <i>D. micans</i> larvalarının mikozlanması.....	47
Şekil 18. Larvaların doz denemelerinde gerçekleşen ölümlerin mikoz oranları.....	47
Şekil 19. Dm-5'in <i>Dendroctonus micans</i> erginleri üzerindeki doz denemeleri.....	48
Şekil 20. Doz denemelerinde erginlerde gerçekleşen ölümlerin mikozlanması	49
Şekil 21. Doz denemelerinde erginlerde gerçekleşen ölümlerin mikoz oranları.	49
Şekil 22. Dm-5'in <i>Dendroctonus micans</i> larvaları arasında horizontal yayılma etkinliği. 51	

Şekil 23. Horizontal yayılım deneylerinde larvalarda gerçekleşen ölümlerin mikozlanması.....	51
Şekil 24. Larvaların horizontal yayılım deneylerinde gerçekleşen ölümlerin mikoz oranları.....	52
Şekil 25. Dm-5'in <i>Dendroctonus micans</i> erginler arasında horizontal yayılma etkinliği..	53
Şekil 26. Horizontal yayılım deneylerinde erginlerde gerçekleşen ölümlerin mikoz oranları.....	53
Şekil 27. <i>D.micans</i> erginleri üzerinde horizontal dağılım deneyinde mikozlanan ergin böcekler.....	54
Şekil 28. Kütük denemelerinde, kütüklerden çıkış işaretleri.....	55
Şekil 29. Larvaların tamamı enfekte edilerek gerçekleştirilen kütük denemeleri.....	56
Şekil 30. Larvaların %75'i enfekte edilerek gerçekleştirilen kütük denemeleri.....	57
Şekil 31. Larvaların %50'si enfekte edilerek gerçekleştirilen kütük denemeleri.....	58
Şekil 32. Larvaların %25'i enfekte edilerek gerçekleştirilen kütük denemeleri.....	59
Şekil 33. Kontrol grubunda <i>D.micans</i> erginleri.....	60
Şekil 34. Kütük denemeleri sonucunda ölen <i>D. micans</i> larvaların sayısı ve mikoz oranları.....	60
Şekil 35. Kütük denemelerinde canlı kalan ve kütüklerden kaçan böceklerin oranı	61
Şekil 36. Dm-5'in <i>Ips sexdentatus</i> erginleri üzerindeki doz denemeleri.....	62
Şekil 37. <i>Ips sexdentatus</i> doz denemelerinde gerçekleşen ölümlerin mikoz oranları.....	62
Şekil 38. Dm-5'in <i>Ips sexdentatus</i> üzerindeki doz denemeleri.....	63
Şekil 39. Dm-5'in <i>Ips typographus</i> erginleri üzerindeki doz denemeleri.....	64
Şekil 40. <i>Ips typographus</i> doz denemelerinde gerçekleşen ölümlerin mikoz oranları.....	64
Şekil 41. Dm-5'in <i>Ips typographus</i> üzerindeki enfeksiyonu.....	65
Şekil 42. Dm-5'in <i>Ips sexdentatus</i> ergin popülasyonundaki horizontal yayılımı.....	66
Şekil 43. Dm-5'in <i>Ips sexdentatus</i> erginler arasında horizontal yayılma etkinliği mikoz oranı.....	66
Şekil 44. Dm-5'in <i>Ips typographus</i> erginler popülasyonundaki horizontal yayılımı.....	67
Şekil 45. Dm-5'in <i>Ips typographus</i> erginler arasında horizontal yayılma etkinliği mikoz oranı.....	67
Şekil 46. Dm-5'in <i>Rhizophagus grandis</i> larvalar üzerindeki direk etkisi.....	68

Şekil 47. Dm-5'in <i>Rhizophagus grandis</i> erginler üzerindeki direk etkisi % oranları.....	69
Şekil 48. Dm-5 'in <i>Rhizophagus grandis</i> erginleri üzerindeki direk etkisi.....	69
Şekil 49. Dm-5'in <i>Rhizophagus grandis</i> erginler üzerindeki dolaylı etkisi.....	70
Şekil 50. Dm-5'in dolaylı etkisinde fungustan ölen erginlerin mikozları.....	71

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Fungusların sınıflandırılması ve bazı önemli entomopatojenik fungusların fungi alemi içerisindeki taksonomik pozisyonları.....	16
Tablo 2. <i>B. bassiana</i> tarafından üretilen bazı toksinler ve görevleri	22
Tablo 3. Uzama Faktörü-1-alfa (EF1- α), <i>RPB1</i> , <i>RPB2</i> , <i>Bloc</i> ve gen bölgeleri.....	30
Tablo 4. Dm-5'in rRNA ITS1-5.8S-ITS2 dizisine göre benzerlik oranları	48

SEMBOLLER DİZİNİ

ARSEF	: USDA-ARS entomopatojenik fungus koleksiyonu
bp	: Baz çifti
C	: Derece
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EPF	: Entomopatojenik fungus
ha	: Hektar
I:K	: Işık: karanlık
ITS	: Ara transkript bölgesi
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
NCBI	: Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Enformasyon Merkezi
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PDA	: Patates dekstroz agar
PDAY	: Patates dekstroz agar + maya ekstraktı
PDB	: Patates dekstroz sıvı
pol	: Polimeraz
USA	: Amerika Birleşik Devletleri
UV	: Ultraviyole
μ	: Mikro
μ g	: Mikrogram
μ L	: Mikrolitre
μ M	: Mikromolar

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Dünyada tanımı yapılan hayvan türlerinin % 97'sini böcekler oluşturmaktadır. Doğada yaşayan böceklerin % 99,5'inin doğa ve insana faydalı olduğu bilinmektedir. Bilinen yaklaşık 1 milyon 300 bin böcek türünün, sadece % 0,5'i doğa ve insana zarar vermektedir (Serez, 2003). Tarım ve ormancılıkta en zararlı hayvanlar bu böceklerdir. Aşırı üremeleri halinde cüsseleri ile kıyaslanamayacak büyüklükte zararlara sebep olurlar. Boyutlarının küçük olması, yüksek uçuş güçleri, yüksek üreme enerjilerine karşı, kısa kuşak süreleri, çevreye uyum sağlayan yapıları, tam başkalaşımly hayat dönemine sahip bulunmaları, yaşam ortamlarına (Orman, toprak vb.) uyum kabiliyetlerinin çok yüksek olması, bu hayvanların yaşama şanslarını büyük ölçüde artırmaktadır (URL-1).

Ormanlar, ekosistemin bitki, toprak ve su kaynakları dengesinin, kırsal alandaki sosyal istikrarın devamlılığının, barajların uzun ömürlü olmasının ve gıda güvenliğinin temel sigortasıdır. Ormancılık faaliyetlerinin son derece önemli dışsal ekonomileri ve ileri bağlantıları vardır (Konukçu, 2001). Doğu Ladini ise, ülke ekonomisine yüksek değerli odun hammaddesi üreten 5 önemli iğne yapraklı ağaç türünden biridir. Ladin ormanlarımız, Doğu Karadeniz Bölgesinin çok duyarlı doğası içinde su sağlama, toprak koruma ve doğal yıkımları önlemede ormanlardan beklenen en üst düzeyinde bir işlev yüklenmiştir. Bu yüzden, her şeyden önce ormanlarımızın çeşitli çevresel etkenlere, hastalık ve zararlılara karşı korunması gerekmektedir. Ormanlarımızın sağlığını etkileyen çeşitli faktörler arasında böcekler en başta gelen etmenlerdir. Zararlı böceklerin ormanlarda neden olduğu yıkım, birden bire ortaya çıkmadığı için maalesef kamuoyunda orman yangınları kadar göze çarpmamakta ve önemsenmemektedir. Zararlı böceklerin yıkıcı etkileri, olayın ancak salgın halini almasıyla anlaşılmaktadır.

Yapılan çalışmalar, ormanlarda böceklerin verdiği zararların yangınlar ile meydana gelen zararlardan 5-6 kat daha fazla olduğunu ortaya koymaktadır. İşin acı tarafı zararlı böceklerin ormana verdiği zarar bir anda görünmediğinden orman yangınları kadar dramatik ve çarpıcı olmamakta ve kamuoyunun bilgilendirilmesi ve bilinçlendirilmesi de bu oranda güçlük taşımaktadır. Öte yandan ani iklim değişiklikleri, hava kirliliği, orman

yangınları, yasadışı kesimler vb. etmenler böceklerin ve hastalıkların çoğalmasına yol açmaktadır.

Böcekler küçük canlılar olmasına karşın verdikleri zararlar çok büyüktür. Onların bu özelliği ürkütücü boyuttaki üreme yeteneklerinden ileri gelmektedir. Örneğin, zararlı kabuk böceği dişisi 5 kuşak sonra 6-7 milyon böcek oluşmasına sebebiyet vermektedir. Zararlı böceklerin bitkiler üzerinde etkili olduğu kısımlar göz önünde bulundurulduğunda yapılan sınıflandırma; yapraklarda zarar yapan böcekler, tomurcuk, sürgün, ince dallarda zarar yapan böcekler, kozalak ve tohumlarda zarar yapan böcekler, özsu emen böcekler, kabuk ve kambiyum da zarar yapan böcekler, odunda zarar yapan böcekler, köklerde zarar yapan böcekler olmak üzere farklı grupları ortaya çıkartmaktadır (URL-2).

Ülkemizde bugüne kadar çeşitli araştırmacılar tarafından toplam 114 kabuk böceği türü tespit edilmiştir (Selmi, 2011). Kabuk böcekleri içinde ladinde zarar yapan *Dendroctonus micans* (Dev soymuk böceği) ve *Ips typographus* (Sekiz dişli ladin kabuk böceği) ile ladin ve çamlarda zarar yapan *Ips sexdentatus* (On iki dişli çam kabuk böceği) ülkemizdeki çok önemli 8 kabuk böceği türünün en tehlikeli olanlarıdır. Canlı ağaçlarda zarar yapan *D. micans* diğer zararlılardan farklı olarak, bireysel saldırı stratejisiyle sağlıklı ağaçlara saldırmakta ve bu özelliğiyle sekonder karakterli olan diğer kabuk böceklerinden ayrılmaktadır.

D. micans ülkemizde ilk defa 1966 yılında Ardahan Orman İşletmesi, Posof Ormanlarında görülmüştür. Zararlı ile mücadele 1966-1970 yılları arasında yapılan mücadele kesilen ağaçların kabuklarının soyularak yakılması şeklinde olmuştur. Bu mücadele yöntemiyle yeterince başarı sağlanamayınca, 1970 yılında böcekli ağaçların gövdelerinin kimyasal maddelerle ilaçlanması şeklindeki kimyasal mücadele çalışmaları başlatılmıştır. Ancak, bu yöntemde de herhangi bir başarı sağlanamamıştır. Ayrıca, tamamen kimyasal menşeyli ilaçların doğaya verilmesi şeklinde olan bu mücadele yöntemi, hem çok pahalı olmuş hem de ormanlara verilen kimyasallar bu zararlının mücadelesi için yeterince uygun olmadığı gibi pek çok yararlı böcek ve diğer canlıları (parazitoid ve predatör böcekleri, bal arılarını ve kuşları) da öldürmüş ve büyük bir çevre kirliliğine yol açmıştır.

D. micans ile yapılan en etkili mücadele yöntemlerinden biri de *Rhizophagus grandis* adlı kınkanatlı bir predatör böceğin insektaryumlarda üretilerek, zararlı böceğin yoğun olduğu sahalardaki bulaşık ağaçlara verilmesiyle yapılan biyolojik mücadeledir (King vd., 1991). *R. grandis*'in laboratuarda üretilmesi, predatörün ormandaki zararlı yuvalarına

verilmesinin çok zahmetli bir çalışma olması ve büyük ölçüde insan gücü ve maliyet gerektirmesi, bu uygulamanın dezavantajlarını oluşturmaktadır. Üretim esnasında zaman zaman çeşitli sebeplerden dolayı çok sayıda *R. grandis* larva ve erginin ölümü meydana gelmekte, bu da maliyeti arttırmakta ve mücadelenin başarı şansını azaltmaktadır.

D. micans, yukarıda da belirtildiği gibi ülkemiz ladin ormanları açısından büyük bir sorun olarak karşımızda durmaktadır. Bu zararlının ladin ormanlarındaki mevcut zarar durumu ve potansiyel tehdit konumu, uygulanmakta olan değişik önlemlere ve mücadele yöntemlerine rağmen, çok önemli bir problem olarak ortada durmaktadır. Mevcut uygulamaların bu soruna yeterli bir çözüm sağlayamamış olması, ilave yeni çözüm yollarının da ortaya konulmasını gerektirmektedir. Bu noktada, zararlıyla mücadelede yeni yaklaşım ve entegre yöntemlerin geliştirilmesi ve uygulanması artık kaçınılmaz bir hale gelmiştir. Bilindiği gibi dünyada böceklerden izole edilen virüs, bakteri, fungus, nematod ve protozoonları kapsayan çeşitli preparatlar zararlıların mikrobiyal mücadelesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Boucias & Pendland, 1998; Demirbağ vd., 2008).

Biyolojik mücadele, bir zararlı organizmanın popülasyon yoğunluğunu veya etkisini olabileceğinden daha aza indirmek ve daha zararsız hale getirmek için başka organizmaların kullanılmasıdır (Eilenberg vd., 2001). Mikrobiyal mücadele ise biyolojik mücadele etmenleri olarak bakteri, fungus, protozoa, virüs ve nematod gibi mikroorganizmaların kullanılmasıdır (Eilenberg vd., 2001; Lacey ve Goettel., 1995; Demirbağ vd., 2008).

Entomopatojenler olarak adlandırılan bu mikrobiyal mücadele etmenleri zararlı böceklerde, parazit ve predatör böceklerden sonra biyolojik mücadelede en yaygın kullanılan ve gelecekte ümitvar olan bir grubu oluşturmaktadırlar (Daeon, 1983)

Şu ana kadar yapılan tüm mücadele çalışmaları sonucunda kabuk böcekleriyle mücadelede belirli yerlerde bazı başarılar elde edilmiştir. Ancak, yürütülen tüm mücadele çalışmalarına rağmen, zararlı, yayılışını büyük bir hızla devam ettirmektedir. Zararlının küçük bir bölgeden başlayan bulaşmasının tüm Karadeniz Bölgesi Ladin ormanlarına yayılması engellenememiştir. Zararlının ladin ormanlarında doğrudan yaptığı zarardan sonra, zayıf düşen ağaçlar, sekonder zararlı diğer kabuk böceklerinin bu ağaçlara saldırmasına da neden olmaktadır. Kabuk böceklerinin sebep olduğu zararlar nedeniyle her yıl on binlerce metreküp ağaç kurumaktadır. Kuruyan ağaçlar, grup ve kümeler halinde kesildiği için ormanlarda büyük açıklıklar meydana gelmektedir (Eroğlu, 1995). Sonuç

olarak, gerçek ve acı olan durum, bu zararlının halen etkili bir şekilde yayılmaya ve zararını sürdürmeye devam ettiğidir.

Bu yayılışı engellemek için yapılan diğer bir çalışmada, Yılmaz vd. 2006 yılında *D. micans*'ın bakteriyel florasını belirlediler. Ancak, belirlenen bakteriyel izolatların böceğe yedirilmesi bir türlü başarısız oldu. Dolayısıyla, izolatların *D. micans* üzerindeki patojeniteleri tespit edilemedi. Bu durum, etmenin böcek tarafından besinle alınması gerektiğinden, kabuk böceklerinin mücadelesinde diğer mikrobiyal etmenlerin kullanılabilmesi alternatif yöntemlerin geliştirilmesi zorunluluğunu ortaya koymaktadır. *D. micans*'ın biyolojisi ve Doğu Karadeniz Bölgesi'nin iklimsel koşulları dikkate alındığında, bu zararlıyla mücadelede en etkili mikrobiyal yöntemin entomopatojenik funguslara ait bir preparatla yapılabileceği düşüncesini doğurmaktadır. Ayrıca, zararlıyla halen yürütülmekte olan mücadele programlarıyla birlikte, entegre mücadele şeklinde de entomopatojenik fungusların kullanılabilmesi kuvvet kazanmaktadır. Diğer patojenlerin aksine, fungal preparatların böcek tarafından besinle yenilmesine gerek yoktur. Zaten bu, yukarıda da belirtildiği gibi zordur. Çünkü böcek sadece kabuk altında beslenmektedir. Bakteriyel bir etmenin kabuk altına ulaştırılması da oldukça zordur. Fungal etmenlerin böcek galerilerine ulaştırılmasında ergin böceklerin kullanılma potansiyellerinin yüksek olması, bu etmenlerin kabuk zararlılarına karşı kullanılma potansiyellerini arttırmaktadır. Karadeniz Bölgesinin nem ve sıcaklık değerleri fungal sporların çimlenmesi ve fungal preparatların doğada devamlılıklarının sağlanması açısından yeterli görülmektedir. Aynı zamanda, fungal etmenin bu bölgeden izole edilmiş lokal bir preparat olması, bölgeye yabancı olmayan, doğal ve çevrede uzun süre kalabilen etkili bir etmenin kullanılmasını sağlayacaktır. Bu durumlar göz önünde bulundurularak, yapılan çalışmalarda Sevim (2010) ve Sevim vd. (2010) *Beauveria cf. bassiana*'nın *D. micans*'a karşı iyi bir mücadele etmeni olabileceğini belirlemiştir. Entomopatojenik fungusların *D. micans*'a karşı biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılabilmesini ortaya koymuştur.

Belirtilen hususlar doğrultusunda, bugüne kadar yeterince önem verilmemiş olan, ladin ormanlarımızın en büyük zararlısı Dev soymuk böceği ile mücadelede zararlıdan izole edilmiş 12 EPF'dan zararlı üzerinde en yüksek insektisidal etkiye sahip suş belirlendi. Belirlenen izolatın moleküler karakterizasyonu, *D. micans* üzerindeki doz denemeleri, horizontal dağılımı, kütük denemeleri, *Rhizophagus grandis* üzerindeki dolaylı ve direk etkisinin belirlenmesi *Ips sexdentatus* ve *Ips typographus* üzerindeki insektisidal etkileri belirlendi.

1.2. *Dendroctonus micans*, Dev Soymuk Böceği (K) (Coleoptera: Scolytidae)

1.2.1. *Dendroctonus micans*'ın Yayılışı

Dünyada bilinen 50 ladin türünden biri olan Avrasya Ladini, *Picea orientalis* (L.) Link. doğal olarak Doğu Karadeniz ve Kafkas dağlarında yayılmıştır. Toplam alanı 297.396 ha olan ladin ormanlarımız (Konukçu, 2001), sırasıyla 1960 ve 1980'li yıllardan bu yana, Avrasya ladin ormanlarının en tehlikeli kabuk böcekleri olan *Dendroctonus micans* (Kug.) (Dev soymuk böceği), *Ips sexdentatus* (Boern.) (Oniki dişli kabuk böceği) ve *Ips typographus* (L.) (Sekiz dişli kabuk böceği)'un çok ciddi tehdidi altına girmiştir. Kuzey yarım kürede bu böcek türleri gibi kabuk böcekleri periyodik olarak büyük popülasyonlar oluşturarak birkaç yıl içerisinde geniş alanlardaki milyonlarca sağlıklı ağacın ölümüne yol açmıştır (Christiansen ve Bakke, 1997). Dev soymuk böceği, *Dendroctonus micans*, Coleoptera takımına ait Scolytidae (Kabuk Böcekleri) familyasının en büyük böceğidir. *Dendroctonus micans*, dünyada 20 dolayında türle temsil edilen *Dendroctonus* Erichson cinsinin, Avrasya'daki başlıca temsilcisidir (Brown ve Bevan, 1966; Fielding vd., 1991a; Lempérière, 1994). Bu türlerden iki tanesi Asya ve Avrupa konifer ormanlarında yaşar. Bu iki türden biri olan *Dendroctonus armandi* Tsai ve Li Çin'de endemiktir. Avrasya ormanlarında yayılış gösteren diğer bir tür olan *Dendroctonus micans* ise ilk kez 1794 yılında *Picea abies* üzerinde keşfedilmiştir (Brichet ve Severin, 1903). Fakat yıkıcı etkisi ancak 1852 yılında fark edilmiştir (Fielding ve Evans, 1997). Kuzey Avrasya kökenli *D. micans*'ın yayılışı, yaklaşık son 100 yıldır düzenli olarak genişlemektedir. Doğuda Sakhalin Adası ve Kuzey Japonya'dan Kuzey ve Batı Avrupa'ya kadar uzanan alanda varlığını güçlü ve etkili bir şekilde sürdürmektedir. Belirtilen coğrafyada, ladinin yetiştiği tüm alanlarda bulunmaktadır. Almanya, Avusturya, Belçika, Bulgaristan, Çek Cumhuriyeti, Çin, Danimarka, Estonya, Finlandiya, Fransa, Gürcistan, İngiltere, İsveç, İsviçre, İtalya, İzlanda, Hollanda, Japonya, Kafkasya, Kazakistan, Kore, Kuzey Amerika, Litvanya, Lüksembourg, Macaristan, Norveç, Polonya, Romanya, Sibirya, Türkiye ve Yugoslavya'da varlığı tespit edilmiştir. Fransa, Gürcistan, Türkiye ve İngiltere'de yakın tarihlerde ulaştığı bölgelerde halen şiddetli zararını sürdürmektedir (Khobakhidze, 1965; Alkan, 1985; Fielding ve Evans, 1997). Ülkemizde tespit edildiği 1966 yılından (Acatay, 1968) bu yana ladin ormanlarımızın hemen tamamına yayılmıştır. *D. micans*, çeşitli iklim ve orman şartlarına uyum sağlayacak yetenektedir. Ülkemizde ilk

defa 1966 yılında tespit edilen *Dendroctonus micans*'ın (Acatay, 1968), 1972–1985 yıllarından itibaren etkili olmuştur (Keskinalemdar ve Özder, 1995). *D. micans* günümüzde Artvin Orman Bölge Müdürlüğü ladin ormanlarında 170.000 ha, Trabzon Orman Bölge Müdürlüğü ormanlarında yaklaşık 44.000 ha, Giresun Orman Bölge Müdürlüğü ormanlarında 70.000 ha ve Erzurum Orman Bölge Müdürlüğü Ardahan İşletmesi Posof ormanlarında 1000 ha alana yayılmış durumdadır. *D. micans*'a karşı yürütülen biyolojik ve mekanik mücadele çalışmalarına rağmen yayılışını hızla arttırmaktadır (Eroğlu, 1995).

1.2.2. *Dendroctonus micans*'ın Zararı

D. micans'ın Türkiye'deki varlığı ilk olarak 1966 yılında Posof Ormanlarında ortaya çıkmıştır. Ardından 1971 yılında Şavşat Ormanlarında tespit edilmiştir. Artvin'de 1972-1985 yıllarında en az 8.000.000 adet ladin ağacını kuruttuğu hesaplanmıştır. Eroğlu (1995), *D. micans*'ın Artvin ve Giresun ormanlarında ağaçların % 36'sına zarar verdiği ve bunların % 25'inde zararını sürdürdüğünü tespit edilmiştir. Günümüze bu zararlının birikimli olarak ladinlerin % 39'una zarar verdiği belirlenmiştir (Özcan vd., 2006). *D. micans*'ın zararı nedeniyle, 1994-2006 yıllarında Trabzon Orman Bölge Müdürlüğü ladin ormanlarında 101.671 m³, 1999-2008 yıllarında Maçka Orman İşletmesi ladin ormanlarında 85.000 m³, 1986-2001 yıllarında Giresun Orman Bölge Müdürlüğü ladin ormanlarında 210.000 m³ ladin ağacı kurumuştur. Avrasya'daki yayılış alanı içinde *Picea*, *Abies*, *Pinus* cinslerine ait çeşitli türlerinde de zarar yaptığı tespit edilen *D. micans*, ülkemizde Avrasya ladini (*Picea orientalis*)'ni tercih etmektedir. Bulaştığı ağaçların floem ve kambiyum katmanlarını tüketerek öldürmekte; floem ve kambiyum alanlarının zarar görme derecesine göre ağaçlar ya ölmekte ya da diğer kabuk böceklerinin kolaylıkla üreyebileceği uygun kuluçka ortamlarına sahip olmaktadır.

Dendroctonus micans erginleri, konukçu olduğu ağaçların kabukları üzerinde bir giriş deliği açarak kabuk altına girer. Floem tabakası ibrelerde fotosentezle oluşturulan şeker ve aminoasitleri köke ilettiğinden, şeker ve besinler bakımından zengindir (URL-3). Birkaç galerinin bir araya gelmesi sonucu ağaç büyük ölçüde yaralanır ve kurur. *Dendroctonus micans* öncelikle sekonder zararlıdır ve ilk etapta yaralı, budanmış veya zayıf düşmüş ağaçları tercih eder. Fırtına ve taban suyu eksikliği gibi sebeplerden dolayı güçsüz düşen ağaçlarda kitle halinde üreyerek çok ciddi fizyolojik zararlara yol açar. Böcek popülasyonunun yüksek olduğu alanlarda sağlıklı ağaçlara da giderek primer zararlı

konumuna geçer (Selmi, 1998). Yayılış alanında bulunan ince çaplı ağaçları (8 cm), bir *Dendroctonus micans* yuvası bir yılda kurutabildiği gibi kalın çaplı ağaçları (100 cm), yuva sayısına göre zayıf düşürmekte ve üç yıl gibi kısa bir sürede kurutmaktadır (Keskinalemdar, 1986). Bu tarz bir zarara maruz kalan ladin ağaçları endüstrinin birçok dalında kullanılan değerli bir meta iken, ancak yakacak olarak değerlendirilebilir duruma gelmektedir.

Saldırdıkları ağaçların kökün üst kısımlarından başlayarak gövdenin takriben 8 metre yüksekliğine hatta tepe çatısına kadar olan kısımlarında ürerler ve orda galeriler açarlar (Şekil 1) . Kalın dallar hatta taze kalın sürgünlerde bile tahribata yol açabilirler (Selmi, 1998).

Bütün bunlara ek olarak kabuk böceklerine karşı yürütülen mücadele çalışmalarında yapılan harcamalar da önemli bir ekonomik yük getirmektedir. Tüm bu kayıplar nedeniyle kabuk böcekleri ülkemizdeki en önemli orman zararlılarıdır.



Şekil 1. *Dendroctonus micans*'ın ladin üzerindeki zararı

1.2.3. *Dendroctonus micans*'ın Biyolojisi

1.2.3.1. Yumurta

D. micans'ın kirli beyazımsı açık sarı renkli olan yumurtalarının boyları 1095–1125 mikron ve enleri 622–655 mikron arasında değişmektedir (Serez, 1979). Bir tarafı az sivrice olan yumurtaları olgunlaşmamış haşhaş tohumunu andırır (Şekil 2a). Yumurta galerisi, içine yumurtaların konulduğu reçine ve ögüntü ile kaplı geniş bir kanaldır (Bevan, 1987).

1.2.3.2. Larva

Beyaz renkte, ayaksız ve gözsüz olan larvaların boyları 10-13 mm arasındadır (Şekil2b). Vücutları, 3 göğüs ve 9 karın segmenti olmak üzere 12 halkadan ibarettir. Larvaların üzerinde çeşitli bölgelerde görülebilen uzun kıllar vardır. Larvaların ortalama bas kapsül genişliği birinci evrede 0,551 mm, ikinci evrede 0,861 mm, üçüncü evrede 1,159 mm, dördüncü evrede 1,463 mm ve besinci evrede ise 1,767 mm olarak ölçülmüştür (Serez, 1979).

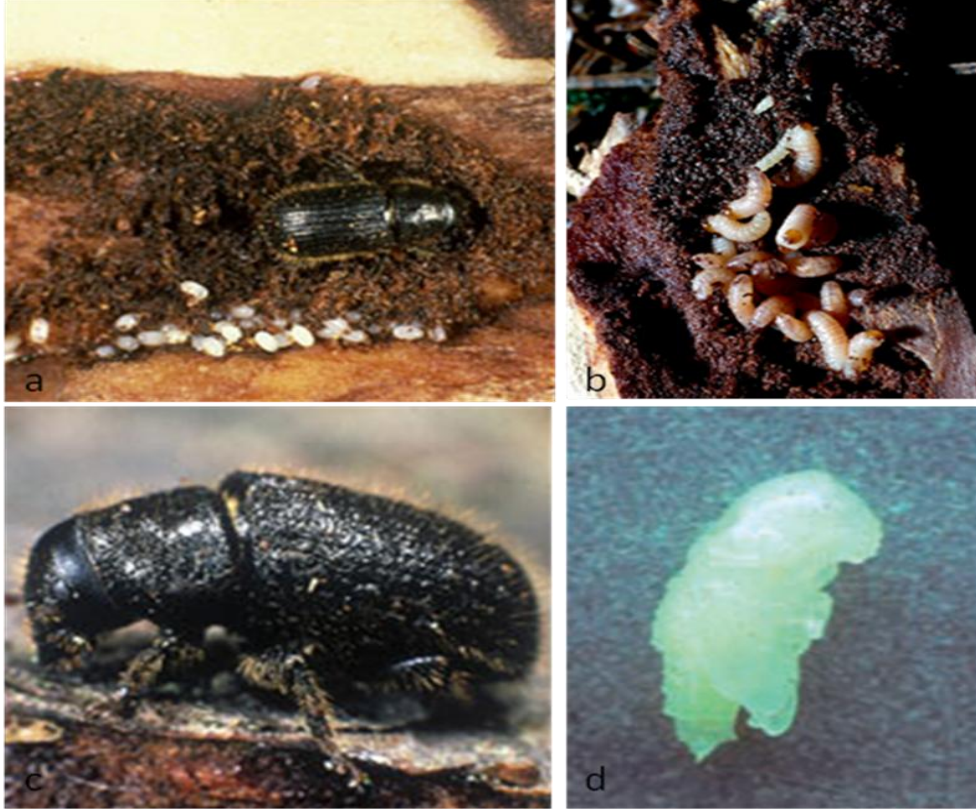
1.2.3.3. Pupa

Larvalar olgunlaştıklarında birbirinden ayrılarak her biri ögüntüler içerisinde uzun bir pupa beşiği hazırlar. Pupa dönemi 2-3 hafta sürer. Pupadan çıkan genç erginler üreme yerini terk etmeden, larva yiyim yerinin bir kenarından başlayarak kabukla odun arasında şeklinde bir yol açarak olgunluk yiyimi yaparlar. Kanat örtüleri siyahlaşan erginler burada çiftleşir ve bir çıkış deliği açarak konukçu ağaç aramak için yalnız dişiler burayı terk eder. Pupalar ergine benzer fakat onlara göre daha açık renklidir (Şekil 2d).

1.2.3.4. Ergin

Türkiye ve Avrupa'da yaşayan Kabuk böceklerinin en irisi olan *D. micans* 5,5-9 mm büyüklüktedir (Erkekler 5,5 – 6,5 mm, dişiler 7-9 mm.). Erginleri silindir şeklinde, koyu

kahverengi ya da siyahımsıdır (Şekil 2c). Genç erginlerin üzerinde grimsi sarı renkte uzun seyrek kıllar vardır. Anten ve bacakları kırmızımtırak kahverengidir. Öne doğru daralan boyun kalkanlarının eni boyundan fazladır. Antenlerin sapı ile topuzu arası beş parça olup, ikinci parça daha uzundur. Anten topuzu yassı ve dört parçadan oluşmuştur. Topuzun birinci parçası diğer üç parçanın uzunluğu kadardır.



Şekil 2. *Dendroctonus micans*'ın hayat evreleri a: Yumurta ; b: Larva ; c: Ergin; d: Pupa (URL-4)

1.2.4. *Dendroctonus micans*'ın Yaşam Döngüsü

Scolytidae familyasına ait türlerin en büyüğü olan *Dendroctonus micans*, çoğu diğer scolytid türlerinden farklı karakteristik bir hayat döngüsüne sahiptir (Fielding ve Evans, 1997). *D. micans*'ın yaşam döngüsü, yaşadığı coğrafyada büyük çeşitlilik gösteren iklim koşullarına büyük oranda uyum sağlamıştır. Yaşam döngüsünün süresi yumurtalarının ne zaman konulduğuna ve ortam sıcaklığına göre büyük değişiklik gösterir. Yaz sonunda ve sonbaharda bırakılan yumurtalar kışlar ve sonraki ilkbaharda gelişimlerini tamamlar.

Yapılan gözlemlere göre, *D. micans*'ın hayat döngüsünün 1- 3 yıl arasında olduğu tahmin edilmektedir (Lempérière, 1994; Fielding ve Evans, 1997). Böceğin tam bir hayat döngüsünü tamamlaması İskandinavya'da 2-3 yıl sürebilirken, Türkiye ve Gürcistan'da 12-15 ay İngiltere'de ise 10 ile 18 ay arasında değişmektedir (Fielding ve Evans, 1997).

Çiftleşme, ergin böcekler tam kitinleşmeden ve kabuktan çıkmadan önce kabuk altında gerçekleşir. Dişiler çoğunlukla aynı nesle ait erkekler tarafından döllenir. Bu durum tür içinde erkeklerin az sayıda olması ile açıklanır. Uygun şartlar sağlanmadığında ergin böcekler kabuk altında uzun süre kalabilirler ve ağaçta açtıkları oyuklar içinde büyük gruplar halinde bulunurlar. Larvarın ortaya çıkardığı ögüntülerini çiğner ve bazen de kuluçka sistemleri içinde kendi boyutlarında sütunlar oluştururlar. Çıkış delikleri kuluçka sistemlerini örten ince kabukta açılır ve bu sırada oldukça fazla miktarda toz halinde ögüntü dışarı atılır. Kabuk altında soymuk tabakasını yiyen *D. micans* genç erginleri 30 gün içinde olgunluk yiyimini tamamlarlar ve çiftleştikten sonra yalnız dişiler buldukları yeri terk ederek yeni kuluçka ağaçları ararlar (Serez, 1979). Çiftlesen dişiler çoğunlukla yerden itibaren 1,5 m'lik kısma yerleşmektedir. Daha sonra ağacın yukarı gövde kısmında zararlı olur. Özellikle biyolojik olarak zayıf düşmüş olan ağaçlarda kolaylıkla üremektedir ve 5-7 günde ancak ağacı delebilir. Saldırıya uğrayan ağaçların oldukça kuvvetli reçine salgılamasına rağmen, böcekler kambiyuma girmede başarılı olur. Ancak genellikle sağlıklı ağaçlarda reçine salgısı içinde boğulurlar. Düşmanların girişini engellemek için giriş deliği çoğu kez ögüntüyle kapatılır. Bu nedenle, böceğin konak ağaca girdiği ilk dönemlerde predatörlerle ilişkisi oldukça azdır (Yüksel, 1997).

Uçuş, birçok böceğin aynı uçuş deliğini kullanmasıyla uzun bir sürede gerçekleşir (Fielding ve Evans, 1997). Genç dişilerin uçuş döneminde belirlediği birkaç yol vardır. Bazı bireyler kabuk altından çıkmadan buldukları kuluçka sisteminin sınırında yeni galeriler açarlar. Bazıları kabuk altından çıkar fakat aynı ağaçta kalarak kendi kuluçka sistemlerinin yakınında yeni galeriler oluştururlar ve bazıları da yeni ağaçları istila etmek üzere uçarlar veya gezinirler (Fielding ve Evans, 1997). Uçuş, Mayıs ve Eylül ayları arasında, coğrafi farklılıklara bağlı olarak 18-23°C arasında gerçekleşir (Vouland vd., 1985; Fielding ve Evans, 1997). Dişi böcek 1,5-10 cm genişliğinde bir veya birkaç ana yol açarak buralara sarımsı beyaz renkteki yumurtalarını 20-60'ar yığınlar halinde olmak üzere, 300'e kadar yumurta bırakabilir (King ve Fielding 1989). Yumurta sayısı 1-200 arasında değişmekte ve galeri başına ortalama yumurta sayısı 51 adet olmaktadır (Alkan-Akinci, 2006). Yumurtalarını çoğunlukla bir oyuğun kenarına bırakmalarıyla dikkati

çekerler. Yumurtalar 10–15 gün sonra açılırlar (Serez, 1979). Birkaç dişi birbirine yakın alanlara yumurta koyduğunda genellikle kuluçka sistemleri birleşir ve ağacı büyük alanda yaralarlar (Grégoire, 1988). *D. micans* larvalarının kabuk böcekleri içerisinde ender olan bir özelliği; larva dönemlerinin neredeyse tamamını kabuk altındaki kuluçka odalarında toplu halde geçirmeleridir. Larvalar bireysel galeriler oluşturmak yerine bazen 50’den fazla bireyden oluşan beslenme hattı oluşturarak floeme doğru yan yana oyuk açarlar (Grégoire vd., 1982; Grégoire, 1988). Bu davranışın larvaların konukçu ağacın reçine savunma mekanizmasının üstesinden gelmesine yardımcı olduğu düşünülmektedir. Kuluçka odasında, larva beslenme hattı, merkezden yukarıya ve dışa doğru ilerler, larvalar bu hattan sadece dışkı boşaltmak ve deri değiştirmek için ayrılırlar. Larvalar reçineli artıkları kafalarıyla bir araya getirerek kuluçka alanı içinde “ada”lar oluştururlar. Öğüntü, doku artıkları ve hatta aynı aileden olan ölü bireyler beslenme hattının gerisindeki bu “ada”larda biriktirilir (Fielding ve Evans, 1997). Ekim ayında bırakılan yumurtalardan çıkan larvalar kışı bu hayat döneminde geçirdikten sonra bir sonraki yıl Haziran ayı ortalarından itibaren pupa olmaya başlarlar. Mart ayı sonlarında bırakılan yumurtalardan çıkan larvalar da Ağustos ayı içerisinde pupa olurlar ve kışı ergin halde geçirirler (Serez, 1979). Yapılan araştırmaya göre, ‘larva familya yeniği’ tipindeki üreme yollarında birlikte tahribat yapan larvalar son V. Dönemlerini tamamladıktan sonra geride bıraktıkları öğüntü ve artıklar arasında diri oduna az dokunmuş vaziyette hazırladıkları pupa beşiklerinde pupalaşırlar (Acatay, 1968; Serez, 1979). Pupa evresi hava halleri durumuna göre 17–23 gün (2–3 hafta) arasında değişmektedir. Pupa evresinden çıkan genç erginler buldukları kuluçka yerlerini derhal terk etmezler. Önceleri kahverengi ve daha sonra madeni siyah rengine dönüşen erginler pupa evresini geçirdikleri yerin hemen kenarından başlamak suretiyle diğer kabuk böceklerinde olduğu gibi olgunluk yiyimine başlarlar (Serez, 1979).

Dişi kambiyuma ulaştınca yukarıya doğru 2 cm’lik bir oyuk açar ve burada içersine 100-150 yumurta bırakacağı yumurta odacığını oluşturur (Fielding ve Evans, 1997). Birkaç dişi aynı ağaç üzerinde birbirine yakın alanlara yumurta koyduğunda, genellikle kuluçka sistemleri birleşir ve ağaç büyük oranda yaralanır. Yumurtadan çıkan *Dendroctonus micans* larvalarının kabuk böcekleri içerisinde ender görülen bir özelliği vardır. Larva dönemlerinin neredeyse tamamını kabuk altında geçirirler. Larvalar bireysel galeriler oluşturmak yerine bazen 50’den fazla bireyden oluşan beslenme hattı oluşturarak floeme doğru yan yana oyuk açarlar. Bu davranışın, larvaların konukçu ağacın reçine savunma

mekanizmasının üstesinden gelmesine yardımcı olduğu düşünülmektedir (Fielding ve Evans, 1997).

Larvalar 5 evre geçirir. Olgunlaşan larvalar birbirlerinden ayrılarak her biri ögütüler içerisinde uzun bir pupa beşiği oluşturur. Pupa dönemi 2-3 hafta sürer. Pupadan çıkan erginler üreme yerini terk etmez ve larva yiyim yerinin bir kenarından başlayarak, kabukla odun arasında bir yol açarak olgunluk yiyimini yaparlar (Yüksel, 1997).

Uçma zamanı, yumurta döneminde kışlaması halinde Eylül, larva döneminde kışlaması halinde ise Temmuz ve Ağustos, pupa döneminde kışlaması halinde de Mayıs ve Haziran başı olarak tespit edilmiştir. Özellikle Mayıs ve Ekim ayları arasında herhangi bir günde, konak ağaçta yumurta, larva, pupa ve ergin evrelerinde görülmeleri mümkündür (Fielding ve Evans, 1997).

1.2.5. *Dendroctonus micans* ile Mücadele

D. micans ülkemizde ilk defa 1966 yılında Ardahan Orman İşletmesi, Posof Ormanlarında görülmüştür. İlk yıllarda (1966-1970 yılları arası) zararlıyla yapılan mücadele kesilen ağaçların kabuklarının soyularak yakılması şeklinde gerçekleştirildi. Bu mücadele yöntemiyle yeterince başarı sağlanamayınca, kabuk böceklerine karşı yürütülen mücadele çalışmalarında, *Dendroctonus micans*'a karşı Artvin Orman Bölge Müdürlüğü ladin ormanlarında 1972–1985 yıllarında, 27.900 ha alanda kimyasal mücadele yapılmıştır. Ancak bu çalışmadan herhangi bir yarar sağlanamamıştır (Alkan, 2000). Ayrıca, tamamen kimyasal kökenli ilaçların doğaya verilmesi pek çok yararlı böcek ve diğer canlıları (da öldürmüş ve büyük bir çevre kirliliğine yol açmıştır. *D. micans* ile yapılan en etkili mücadele yöntemlerinden biri de *Rhizophagus grandis* (Gyll.) (Coleoptera: Rhizophagidae) adlı kınkanatlı bir predatör (yırtıcı = avcı) böceğin insektaryumlarda (laboratuvar) üretilerek, zararlı böceğin yoğun olduğu sahalardaki bulaşıklı ağaçlara verilmesiyle yapılan biyolojik mücadeledir (King vd., 1991). Bu yöntem, komşu ülke Gürcistan'da 1963 yılında büyük boyutlu bir biyolojik mücadele programıyla uygulamaya konulmuştur (Khobakhidze, 1965; Khobakhidze vd., 1970). Daha sonra aynı yöntem 1983 yılında İngiltere ve Fransa'da uygulandı (Gregoire vd., 1984; Gregoire vd., 1989). Son olarak da 1984 yılında ülkemizde uygulanmaya başlandı (Alkan ve Aksu, 1990; Fielding vd., 1991a; Eroğlu, 1995; Eroğlu, 1997). Artvin, Trabzon ve Giresun Orman Bölge Müdürlükleri başta olmak üzere çeşitli bölge müdürlükleri bünyesinde yapılan çalışmalar

sunucunda üretilen 8.000.000 adetten fazla *R. grandis* böcekli ladin ağaçlarına verildi (Eroğlu vd., 2010). Ancak, Fransa'da olduğu gibi predatörün daha yavaş yayılması nedeniyle henüz yerleşmediği alanlarda veya İngiltere'de olduğu gibi predatörün doğal engelleri henüz aşmadığı yerlerde *D. micans* salgınları meydana gelmektedir (Gilbert vd., 2003). *R. grandis*'in laboratuarda üretilmesi, predatörün ormandaki zararlı yuvalarına verilmesinin çok zahmetli bir çalışma olması ve büyük ölçüde insan gücü ve maliyet gerektirmesi, bu uygulamanın dezavantajlarını oluşturmaktadır. Üretim esnasında zaman zaman çeşitli sebeplerden dolayı çok sayıda *R. grandis* larva ve erginin ölümü meydana gelmekte, bu da maliyeti arttırmakta ve mücadelenin başarı şansını azaltmaktadır.

Yılmaz (2004) ve Yılmaz vd. (2006) çalışmalarında *D. micans*'ın bakteriyal florasını belirlemiş olmalarına rağmen, belirlenen bakteriyal izolatların böceğe yedirilmesi bir türlü başarılı olmadı. Dolayısıyla, izolatların *D. micans* üzerindeki patojeniteleri tespit edilemedi. Sevim (2010) ve Sevim vd. (2010) çeşitli toprak örneklerinden izole ettikleri *Beauveria cf. bassiana*'nın *D. micans*'a karşı iyi bir biyolojik mücadele etmeni olabileceğini belirlediler ve fungusun *D. micans*'a karşı biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılabileceğini ortaya koydular.

Bu bağlamda, biyolojik mücadelede kullanılan etmenler içerisinde fungusların sayı ve tür bakımından fazla olmaları ve dolayısıyla geniş bir konukçu spektrumuna sahip olmaları yanında, birçok fungus türünün suni besi ortamlarından kolaylıkla yetiştirilebilmesi ve ticari üretim için uygun olmaları gibi nedenler, biyolojik mücadelede kullanımları açısından bu etmen grubunun önemini artırmaktadır. Aynı zamanda entomopatojenler funguslar zararlı böceklerde hastalık oluşturarak böcek popülasyonlarının dengede tutulmasını ve zararlarının minimuma indirilmesini sağlarlar. Bu entomopatojen fungusların büyük çoğunluğu konağa özel olduğu için yalnızca mücadele yapılmak istenilen organizma üzerinde etkindir. Bu özelliğiyle, faydalı ve predatör böcekler, hayvanlar ve insanlar gibi hedeflenmemiş organizmalar üzerinde herhangi bir risk oluşturmazlar. Bunlar tamamen doğal olmaları sebebiyle ekosistemde herhangi bir kirliliğe yol açmazlar. Bu durum, entomopatojenik fungusların zararlıların mücadelesinde alternatif yöntemlerin birisi olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

1.2.6. Entomopatojenik Funguslar (EPF)

Funguslar böceklerde hastalığa sebep olarak ilk kaydedilen ve zararlı kontrolünde ilk kullanılan mikroorganizmalardır (Rombach ve Gilesie 1988). Entomopatojenik funguslar, fungusların çeşitli şekillerde böceklerle ve diğer artropodlarla birlikte hareket eden genuslarını ihtiva eder. Bu EPF'ler, böcek konaklarıyla saprofitik, kommensalistik, parazitlik veya patojenik ilişkiler kurabilir. Entomopatojenik funguslar böcek popülasyonlarının düzenlenmesinde önemli role sahiptir. Beş farklı sınıf içerisinde farklı bir diziliş göstermekte olan entomopatojenik funguslar spesifik böcek türlerini enfekte eden zorunlu patojenler, pek çok böcek türünü enfekte edebilen genel patojenler ve fakültatif patojenler olarak gruplandırılabilir. Fungal epizootikler bazı böcek türlerinde yaygın olmasına rağmen, bazı böcek türlerinde ise nadir görülür (Goettel vd., 2005). Entomopatojen funguslara olan ilgi çok eski dönemlere dayanır. Lepidoptera larvalarını enfekte eden *Cordyceps* ilk olarak eski Çin'de belirlenmiştir. Funguslar tarihi süreçte Mısır, Roma, Yunan, Çin gibi eski medeniyetlerde tıbbi ve beslenme amaçlı kullanılmıştır. Şimdilerde ise entomopatojenik funguslardan tıbbi bileşikler izole edilip kullanılmaktadır (Butt vd., 2001).

1.2.6.1. Entomopatojenik Fungusların Sınıflandırılması

Günümüze kadar böcek ve akarlarda patojen olan fungusların Mastigomycotina, Zygomycotina, Ascomycotina, Basidiomycotina ve Deuteromycotina'ya takımına ait olduğu ve tür sayılarının 800 civarında olduğu bilinmektedir. Bununla beraber entomopatojen fungusların çoğunun Zygomycotina (*Zygomycetes*: Entomophorales) ve Deuteromycotina (*Hypomycetes*: Moniliales) içerisinde yer aldığı, entomopatojen fungusların en önemli grupları bilinen aseksüel formlarının Deuteromycotina sınıfı içinde bulunduğu, bunların oldukça geniş bir (19 adet) konukçu spektrumuna sahip olduğu belirlenmiştir. Ön plana çıkan cinsler; *Beauveria* (*B. bassiana*), *Metarhizium* (*M. anisopliae*), *Paecilomyces* (*P. fumosoroseus*), *Nomuraea* (*N. rileyi*) (Farlow), *Verticillium* (*V. lecanii*) ve *Aschersonia* (*A. aleyrodis*) olduğu, diğer önemli grupların ise Zygomycotina sınıfının Entomophorales takımı içinde yer aldığı ve önemli cinslerin ise *Entomophthora* (*E. musca* (Cohn) Fress) *Conidiobolus* (*C. coronatus* (Constantin) Batko), *Erynia* (*E. neoaphidis* Remaudiere & Hennebert (=Entomophthora aphidis Hoffmann)), *Zoophthora*

(*Z. radicans* (Brefeld)) ve *Tarichium* (*T. gammae* Weiser) olduğu bildirilmektedir (Driesche ve Bellows 1996). Entomopatojen funguslardan, *Lagenidium*, *Entomophaga*, *Neozygites*, *Entomopytora*, *Erynia*, *Aschersonia*, *Verticillium*, *Nomuraea*, *Hirsutella*, *Metarhizium*, *Beauveria* ve *Paecilomyces* cinslerinin önem kazandığı belirtilmektedir (Roberts ve Wraight 1986).

Entomopatojenik fungusların sistematik pozisyonlarına dayanarak ortaya çıkarılan gruplandırmada entomopatojenik veya entomoparazitik funguslar Blastocladiomycota (*Coelomomyces* spp, *Coelomycidium simulii*), Entomophthoromycotina, Kickxellomycotina (Harpellales ve Asellariales), Eurotiomycetes (*Ascosphaera* ve diğer cinsler), Laboulbeniomycetes (ektoparazitik ascomycetes), Dothideomycetes (*Myriangium*), Sordariomycetes (çoğunlukla Hypocreales içerisinde) ve Pucciniomycetes (*Septobasidium* ve akrabaları) grupları içerisinde yer aldığını söylemek mümkündür (Humber, 2008). Bazı önemli entomopatojenik fungusların detaylı sınıflandırılması Tablo 1’de verilmiştir (Humber, 2008; Roy vd., 2006).

Tablo 1. Fungusların sınıflandırılması ve bazı önemli entomopatojenik fungusların fungi alemi içerisindeki taksonomik pozisyonlar

Filum	Chytridiomycota	Eski adı: Zygomycota	Bazal Funguslar
Filum	Neocallimastigomycota		
Filum	Blastocladiomycota		
Filum	Microsporidia		
Filum	Glomeromycetes		
Alt filum	Mucormycotina (<i>filum atanmadı</i>)		
Alt filum	Kickxellomycotina (<i>filum atanmadı</i>)		
	Orders Harpellales, Asellariales		
Alt filum	Zoopagomycotina (<i>filum atanmadı</i>)		
Alt filum	Entomophthoromycotina (<i>filum atanmadı</i>)		
Takım	Entomophthoralean		
Familya	Entomophoraceae		
Cins	<i>Entomophaga</i>		
	<i>Entomophthora</i>		
	<i>Erynia</i>		
	<i>Eryniopsis</i>		
	<i>Furia</i>		
	<i>Massospora</i>		
	<i>Strongwellsea</i>		
	<i>Pandora</i>		
	<i>Tarichium</i>		
Familya	Neozygitaceae		
Cins	<i>Neozygites</i>		
	<i>Zoophthora</i>		
Alt alem	Dikarya		
Filum	Ascomycota		
Alt filum	Pezizomycotina		
Sınıf	Eurotiomycetes		
Sınıf	Dothideomycetes		
Sınıf	Laboulbeniomycetes		
Sınıf	Lecanoromycetes (<i>likenler</i>)		
Sınıf	Orbiliomycetes		
Sınıf	Sordariomycetes		
Takım	Hypocreales		
Familya	Clavicipitaceae		
Cins			
Telemorf	<i>Hypocrella</i>		
	<i>Metacordyceps</i>		
	<i>Regiocrella</i>		
	<i>Torrubiella</i>		
Anamorf	<i>Aschersonia</i>		
	<i>Metarhizium</i>		
	<i>Nomuraea</i>		
	<i>Paecilomyces-gibi1</i>		
	<i>Pochonia</i>		
	<i>Rotiferophthora</i>		

Tablo 1'nin devamı

Familya	<i>Verticillium</i> -gibi ²
Cins	Cordycipitaceae
Telemorf	<i>Cordyceps</i> s.str. <i>Torrubiella</i>
Anamorf	<i>Beauveria</i> <i>Engyodontium</i> <i>Isaria</i> <i>Lecanicillium</i> <i>Mariannaea</i> -gibi <i>Microhilum</i> <i>Simplicillium</i>
Familya	Ophiocordycipitaceae
Cins	
Telemorf	<i>Ophiocordyceps</i> <i>Elaphocordyceps</i>
Anamorf	<i>Haptocillium</i> <i>Harposporium</i> <i>Hirsutella</i> <i>Hymenostilbe</i> <i>Paecilomyces</i> gibi ¹ <i>Paraisaria</i> <i>Sorospora</i> <i>Syngliocladium</i> <i>Tolypocladium</i> <i>Verticillium</i> gibi ²
Filum	Basidiomycota
Alt filum	Pucciniomycotina
Sınıf	Pucciniomycetes (<i>rust fungus</i>)
Takım	Septobasidiales
Alt filum	Ustialginomycotina (<i>smut fungus</i>)
Alt filum	Agaricomycotina

1 Önceden *Paecilomyces* sect. *Isarioidea* içerisinde yer alan türler. Günümüzde bu türler *Paecilomyces*'den ve *Isaria*'dan kesin bir şekilde ayrılmıştır.

2 Önceden *Verticillium* sect. *Prostrata* içerisinde yer alan türler. Günümüzde bu türler *Verticillium*'dan kesin bir şekilde, ayrılmış fakat yeni sınıflandırılmaları yapılmamıştır.

1.2.6.2. Entomopatojenik Fungusların Genel Özellikleri

Deacon (1983), entomopatojen fungusların diğer mikroorganizmalardan çok daha geniş konukçuya sahip olduğunu, Lepidoptera, Homoptera, Coleoptera ve Diptera takımlarında yaygın olarak enfeksiyon yapabildiklerini, bunlardan; *B. bassiana*, *M.*

anisopliae ve *V. lecanii* tüm dünyada yaygın türler olduklarını, bazı fungus türlerinde konukçuya spesifik olduklarını, *Hirsutella thompsonii* ile akarlar arasında ve *Culicinomyces* spp. ile sivrisinek türleri arasında spesifik bir ilişkinin bulunduğu rapor edilmiştir. Aynı araştırmacı, entomopatojen funguslarla ilgili bazı faydalı genellemeleri aşağıdaki şekilde belirtmektedir. Bunlar;

1. Genelde, hemen hemen hepsi patates dextrose agar veya malt extract agar gibi standart mikrobiyolojik ortamlarda rahatlıkla gelişebilir.
2. Entomopatojen fungusların genellikle optimum gelişme sıcaklığı 20-25 °C'dir ve 37 °C ve daha yüksek sıcaklıklarda gelişemezler. Bunun sonucu olarak, alerjiye sebep olan bazı funguslar hariç, insanlar ve diğer sıcakkanlı memelileri etkileyen ciddi zararlar gösteremezler.
3. Katı substratlarda tipik yayılan hif olarak gelişirler. Fakat daldırılmış kültürlerde bunların bir kaçı blastospor olarak adlandırılan ve maya benzeri tomurcuklanan hücreler şeklinde gelişirler.
4. Funguslar, kültürde veya ılıman koşullardaki konukçularda kolay bir şekilde aseksüel sporlar üretmektedir ve tabiatta başlıca enfeksiyon kaynağı konumundadır. Fungal sporlar çok sayıda üretilir, rüzgâr ve yağmur tarafından rahatlıkla çevreye dağıtılabilir.
5. Böcek paraziti fungusların en önemli özelliklerinden biri de olumsuz çevre koşullarında dayanıklı formları ve saprofitik özelliğe sahip olmalarıdır. Bu nedenle de bunlar topraktan ve organik artıklar üzerinden izole edilebilmekte ve biyolojik mücadelede kullanılma şansları artmaktadır.

1.2.6.3. Entomopatojenik Fungusların Biyolojileri

Entomopatojenik fungusların yaşam döngüleri çoğunlukla konaklarının gelişme safhalarıyla eş zamanlı olarak gerçekleşmektedir (Shah ve Pell, 2003). Fakat, pek çok entomopatojenik fungus, hayat döngülerinde birçok benzerliğe sahiptir (Roy vd., 2006). Bakteri ve virüslerden farklı olarak, funguslar konaklarını yalnızca bağırsaktan değil, aynı zamanda böceklerin solunum deliklerinden ve integumentin yüzeyinden de enfekte edebilir. Bu özellik entomopatojenik fungusları böceklerin beslenme aktivitelerinden bağımsız olarak doğrudan enfekte edebileceği gerçeğini doğurmaktadır (Ferron, 1978). Bu durum bitkilerin özsuvisi (başta afidler) veya hayvan kanı ile beslenen böceklerin

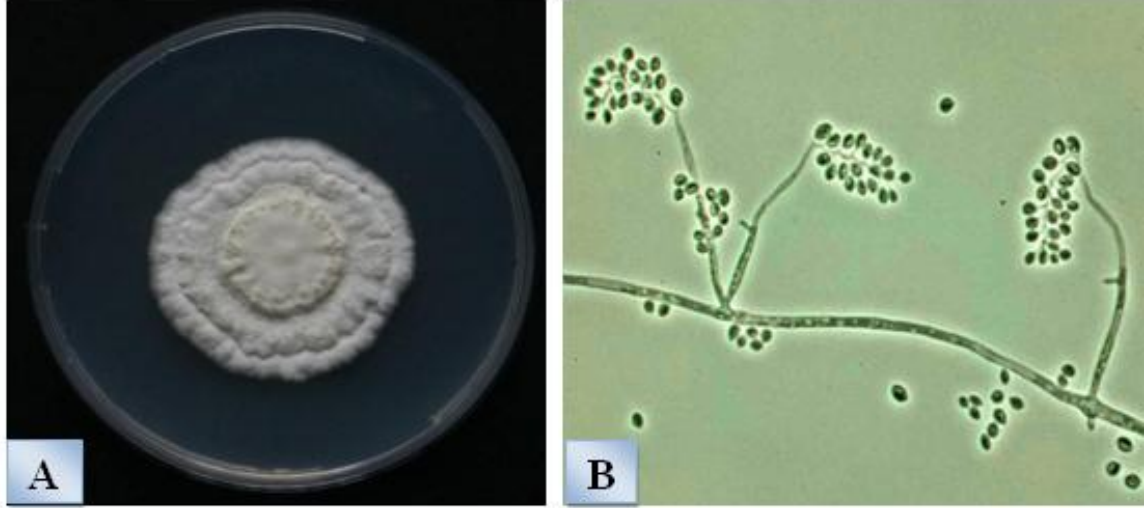
mikrobiyal mücadelesinde entomopatojenik funguslara önemli avantajlar sağlamaktadır (Lacey ve Goettel, 1995).

Entomopatojenik fungusların yaşam döngülerinde ilk olarak fungus enfektif bir spor üretilir ve bu spor konağın kütikulasına tutunarak penetre olur. Penetrasyondan sonra spor çimlenerek germ tüpünü oluşturur ve bunu takiben appressorium oluşumu meydana gelir. Bu penetrasyon işlemi sıklıkla integümentin enfeksiyon bölgelerinde melanizasyon reaksiyonuna yol açmaktadır (Ferron, 1978). Melanizasyon sıklıkla geç olur veya yeterli büyüklükte olur. Bu da patojenin yavaş büyümesini veya gücünü durdurmasına yardımcı olur (Hajek ve Leger, 1994). Bundan sonra, fungus konağın hemoseline ulaşarak konağı istila eder ve konağı toksin üretimi veya çoğalma gibi nedenlerle öldürür. Uygun koşullar altında böceğin ölümünden sonra, fungus konaktan dışarı doğru sporlaşmaya başlar ve bu sporlaşma ya da konidiyogenezis kadavranın dış yüzeyinde meydana gelir (Goettel vd., 2005; Shah ve Pell, 2003). Alternatif olarak, fungus primer konağın olmadığı zamanlarda taksonomik olarak birinci derecede ilişkili bir başka konağı enfekte edebilir. Benzer olarak, alternatif konağın enfeksiyonundan sonra konak ölür ve üretilen sporlar primer ilişkili diğer bireyleri enfekte edebilir. Bunun haricinde, enfeksiyon için uygun olmayan çevresel koşullarda, fungus, bu koşullara dayanıklı dinlenme yapılarını (resting spores) oluşturur. Bu yapı çevrede konak olmadığı zaman uzun bir süre varlığını sürdürebilmektedir. Dinlenme yapılarının kendisi enfektif özelliğe sahip değildir. Fakat yeniden enfektif spor oluşturabilir. Sporlaşmadan sonra çevreye yayılan sporlar başka konakları enfekte eder. Normal olarak bu yaşam döngüsünün pek çok istisnaları bulunmaktadır. Fakat önemli olan çevresel faktörlerin fungusun üremesi ve hayatta kalması için son derece önemli olmasıdır (Goettel vd., 2005).

1.2.6.4. *Beauveria* Cinsinin Taksonomik Özellikleri

Hasenekeoğlu (1991), invitro koloniler 8 günde 6–23 mm olabilmektedir. Lanoz, flukkoz, velvet-tozlu, bazen funikuloz ve sinema yapmakta, sinemalar 5 mm kadar uzunlukta olabilmekte, koloni önce beyaz, daha sonra sarımsı bazen de kırmızımsı, koloni altı renksiz veya sarımsı-pembemsi, eksudat nadiren görülmektedir. Konidiyojen hücreler elipsoidal veya subsilindirikal lateral hücreler üzerinde küçük gruplar halinde veya tek olarak gelişmektedir. Konidiyojen hücrelerin globoz veya şişe şeklindedir. Terminal hücreler genellikle çok daha silindirik veya iyi gelişmiş bir salkım veya daha uzun ve kısa

ve sabit olarak 1 µm eninde, genikulat veya düzensiz şekilde eğilmiştir. Konidiler şeffaf veya nadiren sarımsı, düz çeperli, globoz veya geniş şekilde elipsoidal, bazen apikulat bir tabanları vardır (Şekil 3)

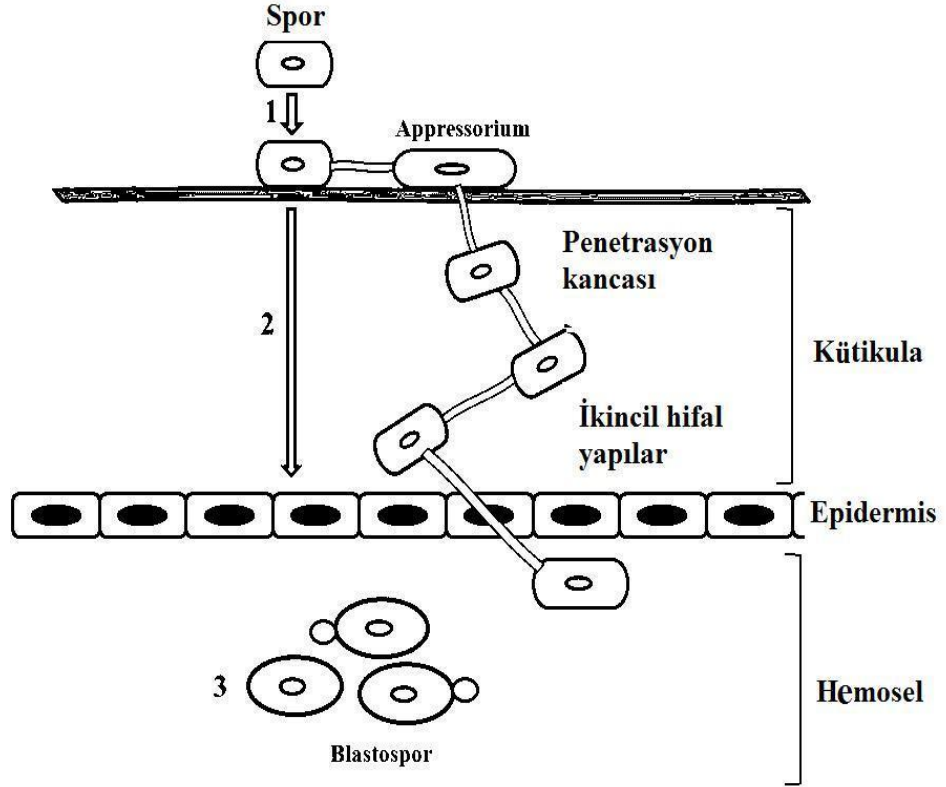


Şekil 3. *Beauveria* cinsinin morfolojik özellikleri. A: koloni morfolojisi; B: mikroskopik görüntüsü (URL- 5)

1.3. Fungal Enfeksiyon

Birçok entomopatojenik fungus ile konağının karşılaşması rastgele olur. Yani şansa bağlıdır. Konakla fungusun karşılaşma şansı çevre koşullarına, çevredeki fungal spor miktarına ve zararlı böcek populasyon yoğunluğuna bağlıdır (Samson vd.,1988).Entomopatojenik funguslar diğer böcek patojenlerinden farklı olarak konağın integümentinden enfeksiyon yapabilir. Bu nedenle, konak tarafından yenilme gerekli değildir ve böylece enfeksiyon, çiğneyici ağız yapısına sahip böcekler ile sınırlı kalmaz (Fuxa, 1987). Genellikle eşeysiz olarak üreyen sporlar enfeksiyondan sorumludur ve enfeksiyondaki başlangıç aşaması pasif veya spesifik olmayan tutunmadır (Castrillo vd., 2005; Shah ve Pell, 2003). Bu adım böceğin kütikulasına temas için birçok farklı yol içermektedir. Örneğin, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* ve *Nomurae rileyi* durumunda, tutunma işlemi sporlarda yer alan iyi organize olmuş fasikül rodletler ve böcek kütikulası arasındaki hidrofobik ilişkinin sonucu olarak meydana gelir. Sucul ortamlarda yaşayan entomopatojenik funguslarda ise tutunma işlemi zoosporların kese oluşturması ile takip edilir (Castrillo vd., 2005). Tutunma işlemi takiben, sporlar konağın çeşitli

bariyerlerinin üstesinden gelmek amacıyla fungusa yardımcı olan appressorium yapısını oluşturmak için çimlenmeye başlar (Hajek ve Leger, 1994). Bundan sonra, çemlenmiş spor, kütikulanın içerisine penetre olur. Penetrasyon safhasında, proteaz, kitinaz ve lipaz gibi kütikulayı parçalayan bazı enzimler konağa girişte önemli rol oynamaktadır (Clarkson ve Chamley, 1996). Penetrasyonu takiben, hemoselin içerisindeki filamentöz fungus yapıları maya benzeri hifal yapılara veya protoplastlara (blastospor) geçiş yapar. Bu yapılar hemolenf içerisinde dolaşırlar ve tomurcuklanma ile çoğalırlar. Daha sonra tekrar filamentöz yapılara geçiş yapılarak fungus iç dokuları ve organları istila eder ve sonunda böcek ölür (Castrillo vd., 2005). Son olarak fungus, ölü böcek üzerinde sporlaşır ve yeni oluşmuş sporlar başka bir konağı enfekte edebilir. Uygun koşullar altında, bu durum aynı şekilde devam eder. Fungal enfeksiyon işleminin ayrıntılı şeması Şekil 4’de verilmiştir.



Şekil 4. Böcek kütikulasındaki fungal enfeksiyon basamakları. 1. Böcek kütikulası ve spor arasındaki fiziksel temastan sonra fungusun konağı tanıması spor çimlenmesini ve appressorium oluşumunu başlatır. 2. Penetrasyon kancası ve çeşitli hifal yapılar kütikulayı ve epidermisi geçer. 3. Fungusun hemosel girmesinden sonra blastospor oluşumu başlar ve fungus konağı istila eder

1.3.1. Entomopatojenik Fungusların Etki Şekilleri

Entomopatojenik funguslar, farklı metabolitler üreterek konaklarını birçok farklı şekilde etkiler ve öldürürler (Zimmermann, 2007b). Kimyasal olarak farklı toksik metabolitler *Beauveria*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Metarhizium*, *Paecilomyces* ve *Verticillium* gibi biyolojik mücadele etmenlerinde tanımlanmıştır. Bu metabolitlerden bazılarının önemli patojenite etmenleri olduğu bilinmektedir (Strasser vd., 2000). Şimdiye kadar birçok araştırmacı *Beauveria* spp. ve *M. anisopliae* tarafından üretilen metabolitler üzerine odaklanmıştır. Çünkü bu iki fungus en önemli mikrobiyal mücadele etmenleridir. *B. bassiana* tarafından üretilen bazı toksinler ve görevleri Tablo 2’de verilmiştir (Deacon, 2005).

Tablo 2. *B. bassiana* tarafından üretilen bazı toksinler ve görevleri (Deacon, 2005)

Toksin	Üretici Fungus	Genel Aktivitesi
Beauverisin	<i>B. bassiana</i> <i>Paecilomyces</i> <i>Fusarium</i>	İyonofor, hücre zarı geçirgenliğini artırır. Bu sayede hücre ve organel fonksiyonları zarar görür.
Bassianolid	<i>B. bassiana</i>	İyonofor
Siklosporin A	<i>B. bassiana</i> <i>Verticillium</i> <i>Fusarium</i>	Böcek savunma hücrelerine baskı yapabilir.
Oosporsin	<i>B. bassiana</i>	Kırmızı pigment, antimikrobiyal

Beauveria spp. beauverisin, bassianin, bassianolide, oosporin, destruksin B gibi *in vivo* ve *in vitro* ortamda pek çok toksik bileşik üretmektedir (Zimmermann 2007a). Ayrıca, destruksinler (28 tip), sitokalsin C ve hidroksifungerin A ve B gibi metabolitler ise *Metarhizium* spp. tarafından üretilmektedir. Şimdiye kadar entomopatojenik fungusların hastalık sırasında herhangi bir toksini üretilip üretmedikleri veya virülans için toksin gerekip gerekmediği belirlenmemiştir. Quesada-Moraga ve Vey (2003) *B. bassiana*’nın çekirgelere karşı patojenik olması için toksin üretimine gerek duymadığını belirtmiştir. Bazı durumlarda, toksin üretiminden şüphelenilmesine rağmen, kesin olarak belirtilmemektedir.

Coelomycidium, *Coelomomyces* cins ve Entomophthoralean ordosuna ait bir kısım funguslar bazı çok zayıf toksinlere sahip olabilir. Fakat, büyük ihtimalle, bu funguslar konaklarını hayati dokuları istila ederek öldürürler (Goettel vd., 2005). İlave olarak, fungal enfeksiyon konak hareketlerinde ateş artması, yüksek yerlere çıkma, aktivitede artış veya azalma, semikimyasallara karşı azalmış cevap ve üreme davranışlarında değişme gibi değişiklikler meydana getirebilir (Roy vd., 2006).

1.3.2. Entomopatojenik Fungusların Özgüllüğü ve Konak Seçiciliği

Entomopatojenik fungusların özgüllüğü cinsler arasında, bir cins içerisinde ve hatta bir türün suşları arasında bile farklılık gösterebilmektedir (Goettel vd., 2005). Özellikle, Entomophthorales ordosuna dahil fungusların, dar konak aralığına sahip oldukları bilinir (*Zoophthora radicans* istisnadır) ve bunlar, genelde yaprakla beslenen böcekler ve akarlarda göze çarpan epizootiklerle ilişkilidir. Bunun tersine Hyphomycetes funguslar (son sınıflandırmaya göre şu anda Sordariomycetes olarak biliniyor) daha geniş bir konak aralığına sahiptir (*Verticillium lecanii* ve *Hirsutella thompsoni* istisnaları ile birlikte) ve genelde topraktaki böcek popülasyonlarında epizootik yaparlar (Pell vd., 2001). Her iki grubun da istisnaları bulunmaktadır. Örneğin, Sordariomycetes sınıfına ait iki tane iyi bilinen fungus türü olan *Beauveria bassiana* ve *Metarhizium anisopliae* geniş konak aralığına sahiptir. Şimdiye kadar *B. bassiana*'nın 707 adet konağa sahip olduğu bildirilmiştir (Zimmermann, 2007a). Bu sayı 521 cins, 149 familya ve 15 ordoyu kapsamaktadır. *B. bassiana* Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera, Homoptera, Diptera, Hemiptera, Orthoptera, Siphonaptera, Isoptera, Thysanoptera, Mantodea, Neuroptera, Dermaptera, Blattariae, Embioptera takımlarında patojen olarak etki gösterir (Zimmermann, 2007a). *M. anisopliae*'nin konak aralığı *B. bassiana*'dan daha sınırlı olmasına rağmen, bu türün de Symphyla, Orthoptera, Dermaptera, Isoptera, Homoptera, Heteroptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera, Siphonaptera, Lepidoptera, Malacostrata (Amphipoda), Acari, Ephemeroptera, Dermaptera, Heteroptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera ve Lepidoptera ordolarına ait böcekleri enfekte ettiği bildirilmiştir (Zimmermann, 2007b). Bu iki tür birçok böcek türünü enfekte etmelerine rağmen, izolatların alan uygulamalarında laboratuvar koşulları ile karşılaştırıldığında daha spesifik olabildikleri görülmektedir. Bu da patojene karşı duyarlılıktan daha çok diğer faktörlerin

doğadaki hastalık oluşmasında önemli olduğunu göstermektedir. Bazı durumlarda, fungus sadece zayıflamış ve strese girmiş böcekleri öldürebilir (Goettel vd., 2005).

Pek çok Entomophthorales fungus konağa özgüdür ve hedef dışı organizmalar üzerinde bazı istisnalar hariç herhangi bir etki göstermez. Örneğin, *Entomophthora muscae* Lepidoptera takımına ait bireyleri enfekte ederken, *Zoophthora radicans*'ın Diptera, Coleoptera, Lepidoptera ve Homoptera takımlarına ait 80'in üzerinde konağı enfekte ettiği bildirilmiştir (Hajek vd., 1999; Goettel vd., 2005).

1.3.3. Entomopatojenik Fungusların Dağılımı ve Yayılımı

Bir patojenin enfektif yapılarının dağılması hastalığın gelişmesinde oldukça önemlidir. Hypocreales ordosuna ait entomopatojenik fungusların enfektif yapıları kadavradan pasif olarak dağılmaktadır. Bu pasif yayılım rüzgar ve yağmur gibi etkenlerle meydana gelmektedir (Meyling ve Eilenberg, 2007). Entomophthoralean fungusların sporları ise hidrostatik basınç altında aktif olarak salınmaktadır. Salınımdan sonra sporların yayılımı rüzgar veya yeni bir enfeksiyon ile devam etmektedir (Shah ve Pell, 2003). Toprak ortamında ise entomopatojenik fungusların aşırı bir şekilde çoğalması ve yayılımı sınırlıdır. Popülasyonun oluşumu, kadavradan yayılan enfektif sporlar, içerisinde ana kadavrada yer alan kaynakların dönüşümüne dayanmaktadır (Meyling ve Eilenberg, 2007). Bazı durumlarda, entomopatojenik funguslar canlı haldeki enfekte böcek ile bir başka konağa veya çevreye yayılımlarını gerçekleştirmektedirler. Örnek olarak, bazı Entomophthoralean fungusların sporları konak hala canlı iken salınmaktadır. *Entomophthora thripidum* ve *Strongwellsea catrans* ile enfekte sinekler ve bazı afid türleri uzun mesafede fungusları taşıyarak göç edebilmektedirler (Meyling ve Eilenberg, 2007; Shah ve Pell, 2003). Ayrıca, bazı eklem bacaklılar entomopatojenik türlerin yayılımını da görev yapabilmektedirler (Dromph, 2003; Meyling vd., 2006b). Bazen, *Cordyceps* spp. gibi entomopatojenik funguslar ve hatta onun anamorfları (örnek olarak *B. bassiana*) büyük bir stroma üretmektedir ve bu stroma bazen 30 cm'ye kadar ulaşabilmektedir ve sonunda eşeyli ve eşeysiz sporları üretmektedir. Son olarak, dinlenme yapılarının (resting spores) oluşması pek çok fungusun yayılımı için ana faktör olmaktadır. Konağın sayısı azaldığı zaman ve olumsuz çevre koşulları başladığı zaman, pek çok Entomophthoralean fungus uzun bir zaman toprakta sağ kalabilen mitozdan (azigospor) veya mayozdan

(zigospor) oluşan dinlenme yapılarını (resting spores) üretmektedir (Goettel vd., 2005; Shah ve Pell, 2003). Bu da fungusun yayılımına katkı sağlayana faktörlerden birisidir.

Böcek hareketleri de yayılmaya yardımcı olmaktadır. Bazı mantarlar, ‘pik (zirve = en yüksek) hastalık’ durumunda iken, enfekte çekirgelerin davranışlarında farklılıklara neden olmaktadır ve sonuç olarak, bu böceklerin ölmek için bitkilerin tepe kısmına tırmandıkları bildirilmiştir. Bu durum, sporların yayılmasına yardımcı olmaktadır. Aynı zamanda konak enfeksiyonunun azaltılması için kullanılan bir mekanizma ise yüksek miktarda UV’ye maruz bırakmaktır. Leş ile beslenen böceklerin (Örneğin, Collembolas) hareketi, doğal düşmanları (Örneğin, yırtıcı coccinellidler ya da parazitler) ve tozlaşma sağlayıcılar (Örneğin, bal arıları), mantar inokulumunun yayılmasında etkili olabilmektedirler. Aslında bazı durumlarda, böcekler kadavraların bozulmasına da neden olmaktadır. Örneğin; olgun *Rhagozycha fulva*’nın kadavra gruplarını ziyaret ettiği gözlenmiştir. Vega vd. (2000), mikrobiyal mücadele etmenlerinin yayılmasında, böceklerin kullanılmasının faydalı olabileceğini ileri sürmektedir.

Ayrıca, böcek davranışları, enfeksiyondan kaçınmayı da sağlamaktadır. Bazı böceklerin aktif olarak entomopatojenik mantarların sporlarından kaçındığı da kanıtlanmıştır. Scarab (bok böceği) larvalarının *M. anisopliae* miselleri ile kontamine olmuş topraktan uzaklaştıkları, ancak konidyaların buldukları topraklardan uzaklaşmadıkları bulunmuştur. Aynı türler yumurtlamak için misellerin bulunduğu bölgeleri tercih etmektedir. Çünkü bitki kökleri gelişimi, misellerin solunumunu taklit ettiği düşünülmektedir. Bir arada yaşayan böcekler, hastalıklardan kaçınmak için belirli davranış metotları oluşturmuşlardır. Örneğin, termitler *M. anisopliae* konidyalarından kaçınma davranışları sergilemektedir ve yaygın olarak bulunan eşekarıları ve bal arıları yuva yaparken hastalık bulaşma riskini azaltmak için hasta bireyleri, hijyenik bir davranış göstererek ortamdaki uzaklaştırmaktadırlar. .

Massospora’nın dinlenme sporlarının üretilmesinin zaman alması nedeniyle ağustos böceğinde bir enfeksiyon 17 yılda meydana getirirken (Soper vd., 1976), *E. maimaiga* dinlenme sporlarının, orman toprağında 6 yıla kadar varlığını sürdürebildiği bildirilmiştir (Weseloh ve Andreadis, 1997).

1.3.4. Entomopatojenik Fungusların Avantaj ve Dezavantajları

Entomopatojenik fungusların biyolojik mücadelede bazı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Avantajları;

1. Birçok böcek bir veya daha fazla fungus tarafından etkilenebilir ve bazı durumlarda funguslar yegane mikrobiyal mücadele etmenleridir.
2. Memeliler üzerine herhangi bir olumsuz etki göstermezler.
3. Çevre kirliliği gibi insektisit uygulamaları sonucu karşılaşılan zararları azdır.
4. Funguslar genellikle konaklarının tüm gelişme fazlarını enfekte ederler ve bu nedenle, herhangi bir uygun fazda kullanılabilirler.
5. Biyoteknolojik araştırmalar ile geliştirilmeye uygundur.
6. Uygulama sonrası çevrede uzun süre kalırlar ve böylece, uzun süreli mücadele sağlanır (Wan, 2003).

Öteyandan, fungusların insektisit olarak kullanımlarının bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Dezavantajlar;

1. Kimyasal insektisitler böcekleri sadece 2-3 saatte öldürürken, entomopatojenik funguslar daha uzun bir süre gerektirmektedir (bazen 10-15 gün).
2. Uygulamalar yüksek nem, düşük zararlı sayısı ve fungusitlerin kullanılmadığı periyod da olmalıdır.
3. Bazen yüksek seçiciliğinden dolayı ilave mücadele etmenlerinin kullanılması gerekebilir.
4. Üretimleri nispeten pahalıdır ve sporların saklanması için soğuk ortamlar gereklidir.
5. Zararlı populasyonları üzerine entomopatojenik fungusların etkinliği ve devamlılığı farklı konaklarda farklılık göstermektedir ve böylece, böceğe özgül uygulama tekniklerinin optimizasyonu uzun süreli çalışma ve araştırma gerekmektedir.
6. Bağışıklık sistemi baskılanmış insanlara karşı bazen potansiyel risk oluşturabilirler (Wan, 2003).
7. UV ışınının ve desikasyonun fungal sporların üzerinde olumsuz etkileri vardır (Klingen vd., 2002).
8. Fungusların neden olduğu epizootikler çevresel faktörlerden (sıcaklık, nem gibi) etkilenir. (9) Bitki hastalıklarının kontrolünde yaygın olarak kullanılan fungusitlere duyarlıdırlar (Demirbağ vd., 2008).

1.4. Tezin Amacı

Birden fazla tez ve bir KTÜ BAP (2009.111.004.2) ve bir de TÜBİTAK(110 O 165) projesini kapsayan bu çalışmanın genel amacı ‘Doğu Karadeniz Bölgesi ladin ormanlarında çok önemli zararlar oluşturan *Dendroctonus micans* (K.) ile mikrobiyal mücadelede kullanılabilecek etkili, güvenilir, ekonomik ve çevreye duyarlı bir fungal mücadele etmeninin tespit edilmesi’dir.

Bu yüksek lisans tezinin amacı ise belirtilen çalışmalarda *D. micans*’tan izole edilmiş, zararlı üzerinde etkinliği belirlenmiş ve *Beauveria bassiana* (ARSEF 9271) olarak tanımlanmış Dm-5 izolatının moleküler karakterizasyonunu gerçekleştirmek, bunun zararlı üzerinde ayrıntılı virülans testlerini yapmak, izolatın sekonder zararlıları üzerindeki virülansını belirlenmek, *Rhizophagus grandis* üzerindeki virülansını tespit etmektir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Fungal İzolat

Bu tez çalışması 110 O 165 nolu TÜBİTAK projesinin ikinci aşaması olarak gerçekleştirildi. Bu çalışmaya kadar *Dendroctonus micans*'tan 12 adet fungus izolasyonu yapıldı. Bunların morfolojik tanımlamaları ve zararlı üzerindeki insektisidal etkileri belirlendi. İzolatlardan *D. micans* larva ve erginler üzerinde en yüksek öldürücü etki gösteren Dm-5 (*Beauveria bassiana*, ARSEF 9271)'in bu tez çalışmasında kullanılmasına karar verildi.

2.2. Dm-5'in Moleküler Karakterizasyonu

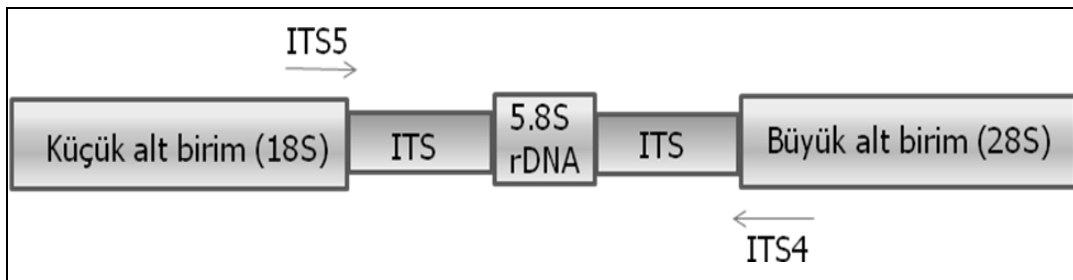
2.2.1. DNA İzolasyonu

Dm-5'ten DNA izolasyonu için kültürden ilk olarak PDAY besiyerine ekim yapıldı ve 1-2 hafta boyunca 28 °C'de inkübasyona bırakıldı. Daha sonra üretici firmanın önerileri doğrultusunda ZR Fungal/Bacterial DNA MiniPrep (50, ZYMO RESEARCH kiti kullanılarak bu kültürden DNA izolasyonu yapıldı. Büyüyen funguslardan yaklaşık 50 mg ağırlığında doku kesilerek alındı. Doku, lisis tüplerine transfer edildikten sonra üzerine 750 µl lisis solüsyonu eklenerek doku parçalayıcı içinde homojenize edildi. Doku parçalayıcıdan alınan tüpler 10.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi. Pipet yardımıyla süpernetant kısımdan 400 µl alınarak filtrasyon tüplerine aktararak 1 dk 7.000 rpm'de santrifüj edildi. Filtrenin altında kalan sıvıya 1.200 µl genomik lisis solüsyonu eklendi. Oluşan karışım DNA'nın tutunacağı filtreli tüplere alınarak 10.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi. Filtre yeni bir tüpe alınarak yıkama işlemi 200 µl ön yıkama solüsyonu ile yıkama yapıldı ve 10.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi. Tüpün altında kalan sıvı uzaklaştırılarak ikinci kez yıkama yapmak için 500 µl fungal-bakteriyal DNA yıkama solüsyonu eklendi. Tüpler bu haliyle 10.000 rpm'de 1 dk santrifüj edilerek, DNA'nın saklanacağı ependorf tüplere alındı. Son olarak filtrenin üzerine 50 µl DNA Elution Buffer bırakılarak DNA izolasyonu gerçekleştirildi. İzole edilen DNA'lar % 1'lik etidyum bromür içeren agaroz

jelde yürütülerek UV ışığı altında görüntülendi. Elde edilen DNA örnekleri kullanılıncaya kadar -20 °C’de muhafaza edildi.

2.2.2. rRNA ITS1-5.8S-ITS2 Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması

18S ve 23S rRNA alt üniteleri arasında kalan ITS1-5.8S-ITS2 bölgelerinin (Şekil 5) PCR ile çoğaltılması için ileri olarak ITS5: 5'- GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG - 3' ve geri olarak ITS4: 5'TCCTCCGCTTATTGATATCG- 3' primerleri kullanıldı (White vd., 1990). PCR reaksiyon karışımı, her bir dNTP’den 200 µM, her bir primerden 50 pmol, 1 unite *Phusion* DNA polimeraz, 10 µl 5X Phusion HF Buffer DNA polimeraz reaksiyon tamponu, 50 ng genomik DNA içerdi. Son hacim ddH₂O ile 50 µl’ye tamamlandı. PCR koşulları 98 °C’de 30 sn denatürasyondan sonra 35 döngü 98 °C’de 30 sn., 50 °C’de 30 sn., 72 °C’de 30 sn. ve son adım olarak 72 °C’de 10 dk olacak şekilde gerçekleştirildi. PCR reaksiyonu sonucu elde edilen ürünlerden 5’er µl alınarak 0.5 µg/ml etidyum bromür katkılı % 1’lik agaroz jelde 90 V’de 45 dk elektroforez edildi. Geri kalan PCR ürünleri Qiaquick PCR 50 (Qiagen GmbH, Leuten, the Netherlands) kiti ile saflaştırıldı ve DNA dizi analizi için MACROGEN (Hollanda) şirketine gönderildi. Elde edilen DNA dizileri tür tayinlerini doğrulamak için NCBI Genbank’ta yer alan DNA dizileri ile karşılaştırıldı ve daha sonra filogenetik analizleri yapıldı.



Şekil 5. ITS1-5.8S-ITS2 bölgesini çoğaltmak için kullanılan primerlerin pozisyonları

2.2.3. Uzama Faktörü-1-alfa (*EF1-α*), *RPB1*, *RPB2*, *Bloc* ve Gen Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması

ITS dizi analizine göre *Beauveria* cinsine dahil olduğu belirlenen izolatın tür tanımlamasının gerçekleştirilebilmesi için *EF1-α*, *RPB1*, *RPB2a*, *RPB2b* ve *Bloc* gen bölgeleri PCR ile çoğaltıldı (Rehner vd. 2011). *EF1-α* gen bölgesinin yaklaşık olarak 1150

bp'lik, *RPB1* bölgesinin 800 bp'lik, *RPB2a* bölgesinin 1150 bp'lik, *RPB2b* bölgesinin 1000 bp'lik ve *Bloc* bölgesinin 1050 bp'lik bölgeleri çoğaltılarak DNA dizi analizi yapıldı ve filogenetik ağaçları çizildi.

Tablo 3. Uzama Faktörü-1-alfa (*EF1-α*), *RPB1*, *RPB2*, *Bloc* ve gen bölgeleri

Gen	Kullanılan primerler	PCR ile çoğaltılan uzunluk (bp)
<i>EF1-α</i>	EF1T: 5'-TGGGTAAGGARGACAAGAC-3' 1567R: 5'-CHGTRCCRATACCACCSATCTT-3'	1150
<i>RPB1</i>	RPB1Af: 5'-GARTGYCCDGGDCAYTTYGG-3' RPB1C: 5'-CCNGCDATNTCRTTRTCCATRTA-3'	800
<i>RPB2a</i>	Frb2-5F: 5'-GAYGAYMGWGATCAYTTYGG-3' RPB2-7cR: 5'-CCCATRGCTTGYTTRCCCAT-3'	1150
<i>RPB2b</i>	Frb2-7cf: 5'-ATGGGYAARCAAGCYATGGG-3' RPB2-3053R: 5'-TGRATYTTTRTCSACCATRTG-3'	1000
<i>Bloc</i>	B5.1F: 5'-CGACCCGGCCAACTACTTTGA-3' B3.1R: 5'-GTCTTCCAGTACCACTACGCC-3'	1050

PCR amplifikasyonları toplam 50 µl hacim olacak şekilde; dNTP'den 200 µM, her bir primerden 50 pmol, 1 ünite *Phusion*-DNA-polimeraz, 10 µl 5X *Phusion* HF Buffer DNA polimeraz reaksiyon tamponu, 50 ng genomik DNA içerdi. Son hacim ddH₂O ile 50 µl'ye tamamlandı. PCR koşulları 98 °C'de 30 sn denatürasyondan sonra 35 döngü 98°C'de 30 sn., 50 °C'de 30 sn., 72 °C'de 30 sn ve son adım olarak 72°C'de 10 dk olacak şekilde gerçekleştirildi (Finnzymes). PCR reaksiyonundan oluşan ürünlerden 5'er µl alınarak 0.5 µg/ml etidyum bromür katkılı % 1'lik agaroz jelde 90 V'de 45 dk elektroforez edildi. Geri kalan PCR ürünlerinin Qiaquick PCR 50 (Qiagen GmbH, Leuten, the Netherlands) kiti ile saflaştırıldı ve DNA dizi analizi için MACROGEN (Hollanda) şirketine gönderildi. Elde edilen DNA dizileri tür tayinlerini doğrulamak için NCBI Genbank'ta yer alan DNA dizileri ile karşılaştırıldı ve filogenetik analizler gerçekleştirildi.

2.3. Böceklerin Toplanması ve Laboratuarda Beslenmesi

Çalışmada kullanılan *Dendroctonus micans* larva ve erginleri Doğu Karadeniz Bölgesi Ladin ormanlarından toplandı. Bunun için Trabzon'dan Artvin'e kadar değişik orman alanlarına arazi çalışmaları düzenlendi. Zararlının bulunduğu ladin ağaçları kabukları küçük baltalarla açıldı ve kabuk altındaki galerilerde bulunan böcekler suluboya fırçalarıyla plastik kutulara toplandı (Şekil 6). Böceklerin beslenmelerine devam etmeleri için kutulara ladin kabukları bırakıldı. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Laboratuvarına kutular içinde getirilen böcekler, makroskopik olarak incelendi. İncelemeler sonunda sağlıklı, hastalıklı ve ölü oldukları tespit edilenler birbirlerinden ayrıldı. Sağlıklı böcekler çalışmalarda kullanılmak üzere ladin kabukları ile beslenmeye devam edildi. Bu süreçte, kutular 4-5 günde bir temizlenerek artıklar uzaklaştırıldı ve kabuklar tazeleriyle değiştirildi. Uygun şekilde ve yeterli sayıda havalandırma açıklığı bulunan kutular 25°C sıcaklık ve % 60 neme ayarlı, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ışık periyodunda muhafaza edildi.



Şekil 6. Çalışmalarda kullanılan *D. micans* larva ve erginlerinin ladin ağaç gövdelerinden toplanması

2.4. Dm-5'in Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması

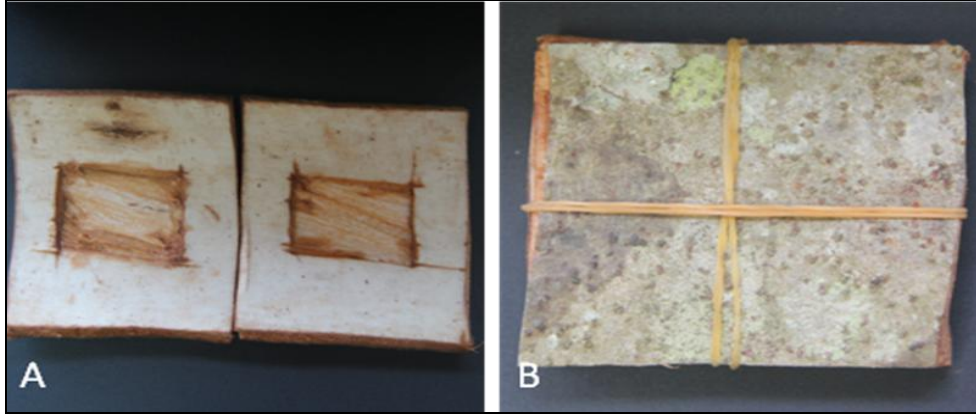
Doz denemelerinde kullanılmak üzere spor süspansiyonu hazırlandı. Fungal spor süspansiyonları, hazırlandıktan sonra 3-5 gün içerisinde kullanılmalıdır. Bu sürenin uzaması durumunda sporların çimlenme oranları düştüğünden, enfektiviteleri düşer ve her

test için yeni spor süspansiyonları üretmek gerekir. Bu nedenle deney süreci dikkatle planlanmalıdır.

Dm-5'in 1×10^6 spor/mL'lik stok solüsyonundan PDAY besiyerine 100 µL yayma ekim yapıldı ve petriyer, 25 °C'de 2-3 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda, oluşan tek koloniler seçilerek yeni bir PDAY besiyerine transfer edildi ve 25 °C'de 4 hafta boyunca inkübe edildi. Petri içerisinde büyüyen fungusların üzerine 10 mL steril % 0,01'lik Tween 80 eklendi ve sporlar cam bağıt ile kazınarak elde edildi. Spor süspansiyonları iki katlı tülbent ile 50 mL'lik steril Falcon tüplerine süzülerek misel ve agar parçalarının uzaklaştırılması sağlandı. Spor konsantrasyonları Neubauer hemositometresi ile sayıldı. Sporların yaşayabilirliği, 100 µL spor süspansiyonun PDAY agar üzerine yayma ekim yapılması ve 24 saatlik bir inkübasyondan sonra çimlenme özelliğinin belirlenmesiyle test edildi. Germ tüpü spor çapından büyük olan sporlar çimlenmiş olarak kabul edildi. Bunun sonucunda % 95 oranında çimlenen sporlar patojenite testlerinde kullanıldı.

2.5. Dm-5'in Farklı Dozlarının *D. micans* Larva ve Erginleri Üzerindeki Etkileri

Doz denemeleri için Dm-5 izolatından yukarıdaki gibi hazırlanan spor süspansiyonundan 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 ve 1×10^8 spor/mL olmak üzere 5 farklı konsantrasyon hazırlandı. Testler 500 mL'lik plastik kaplarda yapıldı. İnsektisidal aktivite testleri için hem larva hem erginler üzerinde test edildi. Larvalar için, ortasına yaklaşık 2 x 1,5 cm x 0,5 cm boyutlarında dikdörtgen şeklinde çukurlar açılmış yaklaşık 4,5 x 4,5 cm boyutlarında ladin kabukları kullanıldı (Şekil 7). Yukarıda belirtilen spor süspansiyonlarına ayrı ayrı daldırılan 10 adet larva, bu çukurlara yerleştirildi. Kabuklar kapatıldı ve lastik bant ile sarılarak larvaların kaçması engellendi (Şekil 7).



Şekil 7. *D. micans* larvalarının patojenite testlerinde kullanılan biyotest düzenekleri A; ortasında dikdörtgen şeklinde çukur açılan ladin kabuğu B; içerisinde larvalar bulunan lastik ile sarılmış ladin kabukları

Ergin böcekler için, küçük parçalar halinde ladin kabukları kullanıldı. Çünkü daha önce yapılan ön çalışmalarda ve tarama testlerinde larvaların kap içerisinde kabukla beslenemedikleri saptanmıştı. Ergin böcekler de spor süspansiyonuna daldırıldıktan sonra plastik kaplarda bir miktar öğütü ve ladin kabuğu parçalarına enfeksiyondan sonra yerleştirildi. Bu şekilde hazırlanan biyotest düzenekleri, 20 °C'de 12.12 ışık/karanlık periyodunda 15 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Kontrol grubuna ise % 0,1 Tween 80 içeren steril su uygulandı. Böceklerin ölüp ölmedikleri günlük kontrol edildi ve ölü böcekler kutulardan uzaklaştırıldı. Ölümün funguslardan kaynaklanıp kaynaklanmadığı araştırıldı. Bunun için ölü böcekler % 1'lik sodyum hipoklorit solusyonunda yüzey sterilizasyonu uygulandı ve ardından böcekler 3 kez steril distile su ile yıkandı. Sonra içerisinde nemli filtre kâğıdı bulunan steril petrilere aktarıldı ve bunlardan yeniden fungus izolasyonu yapıldı. Bunu takiben, mikozlanan larvalar sayılarak yüzde mikoz değerleri hesaplandı. Tüm deneyler her bir tekrarda 10'ar böcek olmak üzere 3 tekrarlı gerçekleştirildi. Etki değerleri Abbott (1925)'e göre hesaplandı.

2.6. Dm-5'in *D. micans* Populasyonundaki Horizontal Yayılımı

Belirli sayıda spor bulaştırılmış larvaların ve erginlerin, bu sporları populasyondaki enfekte edilmemiş diğer bireylere yayıp yayamayacağını veya bu yayılımın etkisinin ne olacağını belirlenmesi amaçlanmıştır. Testte kullanılan larvaların ve erginlerin % 0, % 25, % 50, % 75 ve % 100 bulaştırma oranlarını sağlamak için her testte 3'er tekrar olmak üzere

12'şer larva ve ergin kullanıldı. Belirtilen oranlarda spor bulaştırmak için aşağıdaki larva ve ergin sayıları kullanıldı.

- % 0: 12 böcek: Spor bulaştırılmamış 12 böcek
- % 25:12 böcek: Spor bulaştırılmış 3, bulaştırılmamış 9 böcek
- % 50:12 böcek: Spor bulaştırılmış 6, bulaştırılmamış 6 böcek
- % 75:12 böcek: Spor bulaştırılmış 9, bulaştırılmamış 3 böcek
- % 100: 12 böcek: Spor bulaştırılmış 12 böcek

Her oran için belirtilen sayıda *D. micans* larva ve ergini 1×10^6 spor/ml konsantrasyondaki spor süspansiyonuna 2-3 sn boyunca daldırılarak yeterince sporları almaları sağlandı. Sonra spor uygulaması yapılmamış larvalar dikdörtgen şeklinde çukurlar açılmış ladin kabukları arasına yerleştirildi ve lastik bant ile sarıldı. Ergin böcekler ise bir miktar öğüntü ve ladin kabuğu parçalarıyla plastik kaplara yerleştirildi. Deney düzenekleri 20 °C'de 12.12 ışık/karanlık periyodunda 15 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Negatif kontrolde larvalar steril % 0,1'lik Tween 80 solüsyonuna daldırıldı. Ölüm oranları 15 gün boyunca günlük olarak kaydedildi ve ölü bulunan böcekler nemli filtre kâğıdı içeren petri kaplarına alınarak ölüm nedeninin fungus olup olmadığı araştırıldı. Bütün deneyler 3'er tekrarlı olarak yapıldı.

2.7. Dm-5 'in Kütük Denemelerinde *D. micans* Üzerindeki Etkisi

Bu denemeler, farklı sayıda enfekte *D. micans* larvasının enfeksiyonu, bulaştırma yapılmamış larvalara yayılma oranlarının belirlenmesi ve enfeksiyonların larvaların kütüklerdeki zarar performansları üzerindeki etkilerinin tespit edilmesi sağlandı. Maçka Orman İşletmesi ladin ormanları üretim alanlarından temin edilen 15-20 cm boyunda yaş ladin kütüklerinin üst yüzeyinde, karşılıklı iki yönde kabuğa bitişik odun kısmında bir keski yardımı ile 1-1,5 cm derinliğinde ve 1-1,5 cm genişliğinde 15-20 cm boyunda oyuklar açıldı ve her oyuğa 2.6'de belirtilen yüzde oranlarında 1×10^6 spor/ml spor süspansiyonuyla muamele edilen 36 adet 3. veya 4. evredeki *D. micans* larvaları yerleştirilerek, bunların floemde yiyim yaparak aşağıya doğru inmeleri sağlandı. Larvaların tamamı kabuk altına girdikten ve süresi içinde inemeyen ve ölen larvalar toplandıktan sonra bu oyuklar pamuk ile doldurulup, kütük kesit yüzeyinin tamamı bal mumu ile kaplandı (Şekil 8). Kullanılan kütükler uygun koşullarda 3 hafta boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin sonunda üretim kütükleri kabukları açıldı, ölü olan *D.*

micans larvaları sayılarak kadavralar mikoz oranını belirlemek için nemli filtre kâğıdı bulunan steril petrilere aktarıldı. Bütün deneyler 3'er tekrarlı olarak yapıldı.



Şekil 8. Kütük denemeleri için hazırlanmış deney düzenekleri

2.8. Dm-5'in *Ips sexdentatus* (Boerner) ve *Ips typographus* (Linnaeus) (Coleoptera: Scolytinae) Ergin Üzerindeki Etkileri

Dm-5'in, *D. micans* ile aynı ortamı paylaşan *Ips sexdentatus* ve *Ips typographus* üzerindeki insektisidal etkisini belirlemek için doz denemelerinde kullanılan spor süspansiyonları (1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 ve 1×10^8 spor/mL) bu zararlı erginleri üzerinde de test edildi. Testler 100 mL'lik plastik kaplarda gerçekleştirildi. Bu testlerde zararlıların beslenmesi için kabuk öğüntüsü ve yaş ladin kabuğu kullanıldı. Yukarıda belirtilen spor süspansiyonlarına ayrı ayrı batırılan 10 adet ergin bu öğüntüler arasına bırakılarak üzerleri yaş kabuk ile kapatıldı. Bu şekilde hazırlanan biyotest düzenekleri, 20°C'de 12.12 ışık/karanlık periyodunda 15 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Kontrol grubuna ise % 0,1 Tween 80 içeren steril su uygulandı. Böceklerin ölüp ölmedikleri günlük kontrol edildi ve ölü böcekler kutulardan uzaklaştırıldı. Ölümün funguslardan kaynaklanıp kaynaklanmadığı araştırıldı. Bunun için ölü böcekler % 1'lik sodyum hipoklorit solüsyonunda yüzey sterilizasyonu uygulandı ve ardından böcekler 3 kez steril distile su ile yıkandı. Sonra içerisinde nemli filtre kâğıdı bulunan steril petrilere aktarıldı ve bunlardan yeniden fungus izolasyonu yapıldı. Bunu takiben, mikozlanan larvalar sayılarak

yüzde mikoz değerleri hesaplandı. Tüm deneyler her bir tekrarda 10'ar böcek olmak üzere 3 tekrarlı gerçekleştirildi. Etki değerleri Abbott (1925)'e göre hesaplandı.

2.9. Dm-5'in *Ips sexdentatus* (Boerner) ve *Ips typographus* (Linnaeus) Populasyonlarında Horizontal Yayılımı

Bu test, *Ips sexdentatus* ve *Ips typographus* populasyonlarında entomopatojenik fungusların horizontal yayılım özelliklerinin belirlenmesi için yapıldı. Belirli sayıda spor bulaştırılmış larvaların ve erginlerin, bu sporları populasyondaki enfekte edilmemiş diğer bireylere yayıp yayamayacağını veya bu yayılımın etkisinin ne olacağını belirlenmesi amaçlanmıştır. Testte kullanılan erginlerin % 0, 25, 50, 75 ve 100 bulaştırma oranlarını sağlamak için her testte 3'er tekrar olmak üzere 12'ser ergin kullanıldı. Testler 2.6.'da belirtilen oranlarda spor bulaştırılarak yapıldı. Her oran için belirtilen sayıda *Ips sexdentatus* ve *Ips typographus* erginleri 3 sn boyunca konidi süspansiyonuna (1×10^6 spor/ml) daldırılarak yeterince spor almaları sağlandı. Sonra spor uygulaması yapılmamış gerekli sayıda ergin ladin kabuk öğüntüsü içine bırakılarak üzerleri taze ladin kabuğu ile kapatıldı. Düzenekler 20°C'de 12.12 ışık/karanlık periyodunda 15 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Negatif kontrolde larvalar steril % 0,1'lik Tween 80 solüsyonuna daldırıldı. Ölüm oranları 15 gün boyunca günlük olarak kaydedildi.

Ölü bulunan böcekler nemli filtre kâğıdı içeren petri kaplarına alınarak ölüm nedeninin fungus olup olmadığı araştırıldı. Bütün deneyler 3'er tekrarlı olarak yapıldı.

2.10. Dm-5'in *Rhizophagus grandis* (Gyllenhal) (Coleoptera: Rhizophagidae) Üzerindeki Etkileri

2.10.1. Direk Etkileri

R. grandis anaç erginleri Trabzon Orman Genel Müdürlüğü'nden temin edildi. KTU, Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarında 20 °C sabit sıcaklık, % 75 sabit nem ve sürekli karanlıkta iklimlendirme dolabında düzenli olarak beslendi. Predatörün yetiştirilmesinde besin olarak *D. micans* larvaları kullanıldı. *R. grandis* larva ve erginleri üzerinde tek doz uygulaması yapıldı. Çünkü burada sadece fungusun *R. grandis* üzerinde öldürücü etkisinin olup olmadığının tespit edilmesi amaçlandı. Bunun için, *D. micans* üzerinde en yüksek etki gösteren fungal izolat olan (Dm-5)'in 1×10^6 spor/ml spor

süspansiyonu hazırlandı. On adet *R grandis* prepupa (hareketli olgun larvaları) ve erginleri hazırlanan spor süspansiyonu içerisinde 2-3 sn bekletilerek yeterince spor almaları sağlandı. Daha sonra predatör böcekler besin olarak 3. veya 4. evredeki *D. micans* larvalarıyla birlikte kabuk arasında plastik kutular içerisinde, karanlıkta ve 20 °C'de inkübasyona bırakıldı. Enfeksiyondan 15 gün sonra ölü böcekler, kavrular üzerindeki fungus büyümesini teşvik etmek amacıyla nemli filtre kağıdı içeren steril petrilere aktarıldı ve mikoz oranları belirlendi. Bütün deneyler 3'er tekrarlı olarak yapıldı.

2.10.2. Dolaylı Etkileri

R. grandis anaç erginlerinin beslenmesi sürecinde 2.6.'da kullanılan yüzde oranlarına göre infekte edilmiş 12 adet *D. micans* larvaları *D. micans* larvaları kullanılarak yapılan bu deneyde kabuk arasında besleme yöntemi kullanılarak, her kutuya bir erkek bir dişi olmak üzere birer çift *R. grandis* ergini yerleştirildi. Enfeksiyondan 15 gün sonra *R. grandis*'ler incelendi. İncelen gruplarda fungal enfeksiyon işaretlerinin olup olmadığı belirlendi.

3. BULGULAR

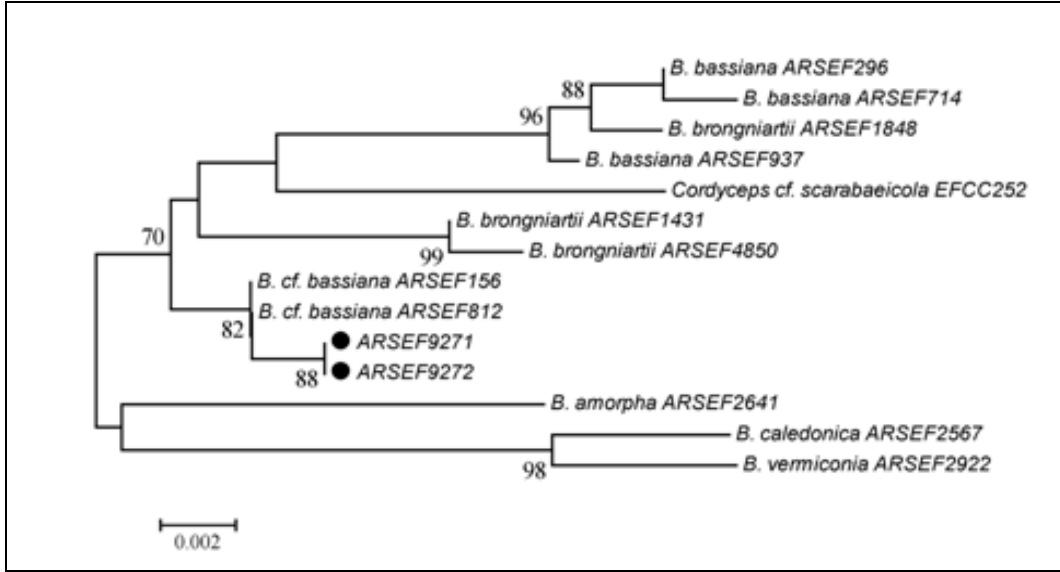
Tez kapsamında, entomopatojen özelliği daha önceki çalışmalarda tespit edilen, karakterizasyonu yapılan ve türü *Beauveria bassiana* olarak tanımlanan Dm-5 numaralı izolatın (ARSEF 9271) moleküler karakterizasyonu ve *Dendroctonus micans* larva ve erginleri üzerindeki doz denemeleri ve horizontal yayılımı, kütük denemeleri, sekonder zararlıları üzerindeki doz denemeleri ve horizontal yayılımı ve *Rhizophagus grandis* üzerindeki dolaylı ve direk etkisi amaçlanmıştır.

3.1. Dm-5'in Moleküler Karakterizasyonu

Dm-5 izolatı ile ilgili önceki çalışmalar Tanyeli vd. (2011) tarafından gerçekleştirildi. Bu tez çalışması Dm-5'in moleküler karakterizasyonu ile başladı. İzolatın ITS DNA dizileri NCBI Gen Bank'ta bulunan sıralarla blastlanarak Gen Bank'ta yer alan diğer entomopatojen fungus türleriyle yüzde benzerlik oranları belirlendi. Tür tayini yapılan Dm-5, *Beauveria bassiana* izolat KTU-68 ile % 100 ve *Beauveria bassiana* izolat KTU-66 % 99 benzerlik gösterdiği belirlendi (Tablo 3). İzolatın benzeri olan 12 türle filogenetik analizi sonucunda, Dm-5'in en yakın ilişkiyi iki *Beauveria cf. bassiana* (*Beauveria pseudobassiana*) (ARSEF156 ve ARSEF812) türü ile gösterdi (Şekil 9).

Tablo 4. Dm-5'in rRNA ITS1-5.8S-ITS2 dizisine göre benzerlik oranları

İzolat	ITS1-5.8S-ITS2 gen dizisi	Benzerlik	Accession No
Dm-5	<i>Beauveria bassiana</i> izolat KTU-68	% 100	FJ792830
	<i>Beauveria bassiana</i> izolat KTU-66	% 99	FJ792828

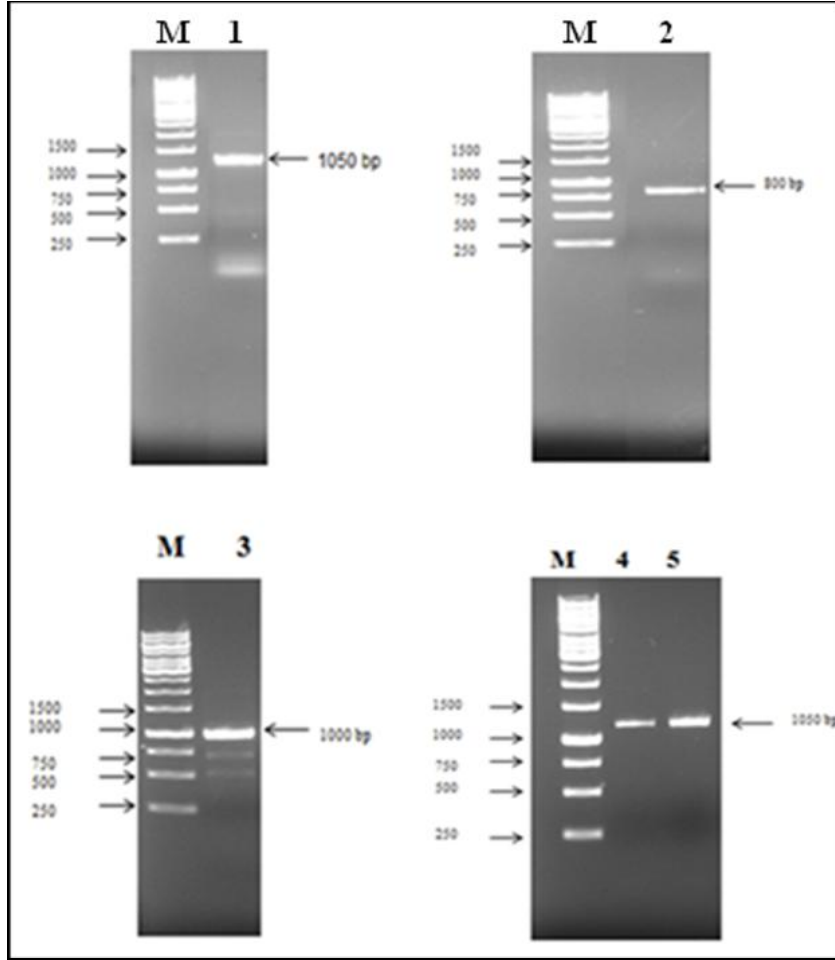


Şekil 9. Dm-5 (ARSEF1971)'in Young-Mi (2000)'in çalışmasında kullanılan *Beauveria* türlerinin ITS dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. Seç-bağla (bootstrap) değerlerinin % 70 ve yukarısı olanlar belirtildi.

3.1.1. Dm-5'in Uzama Faktörü-1-alfa (*EF1-α*), *RPB1*, *RPB2*, *Bloc* Gen Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması

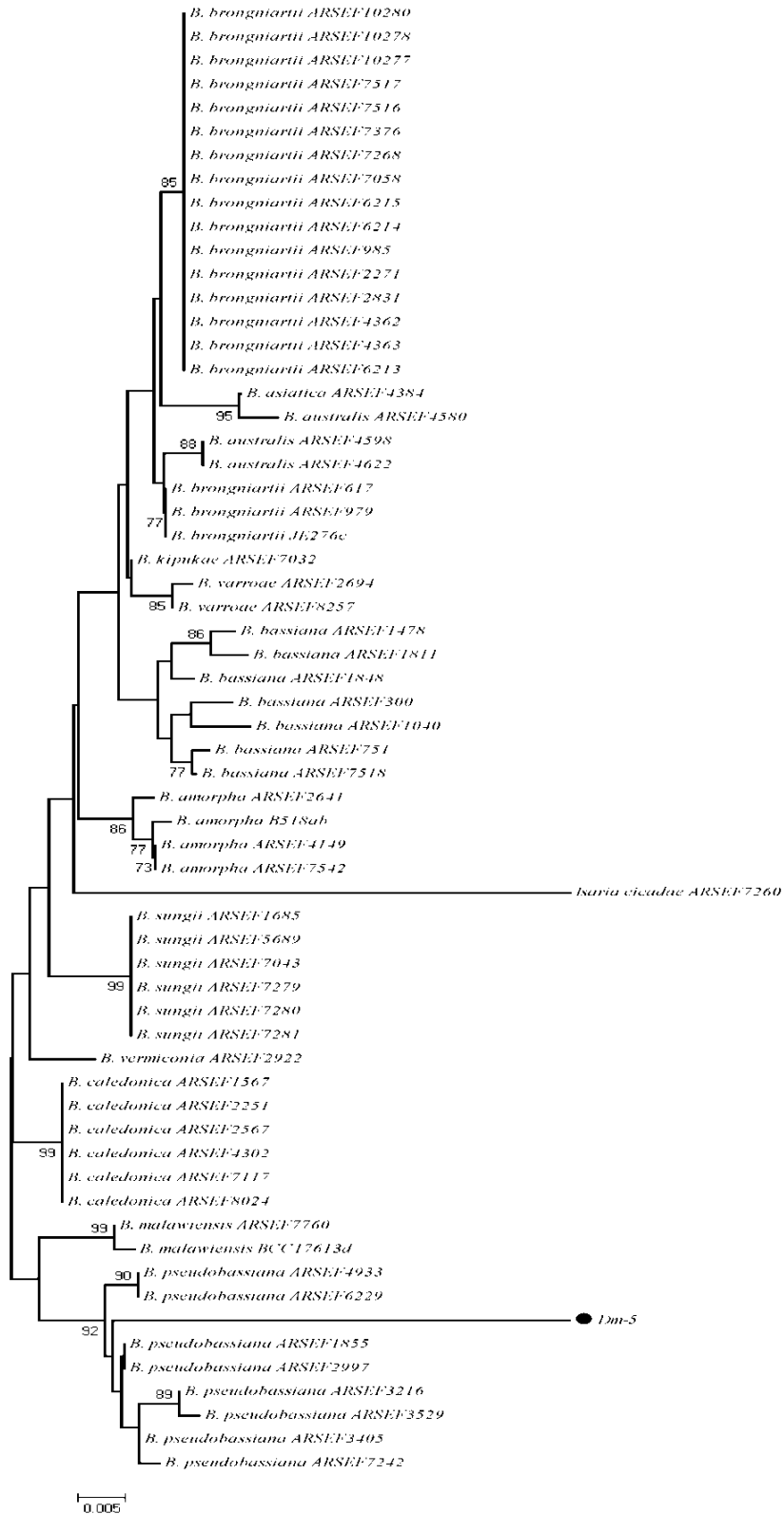
Bu revizyona göre *Beauveria* cinslerinin yeni taksonomik revizyonları yapıldı (Rehner vd., 2011). Dm-5 ITS gen bölgelerinden başka *EF1-α*, *RPB1*, *RPB2a*, *RPB2b*, *Bloc* gen bölgelerinin de veri analizi yapılmıştır.

Beauveria cinslerinin ayrıntılı tanımlamalarını yapmak amacıyla *EF1-α* yaklaşık 1150 bp, *RPB1* 800 bp, *RPB2a* 1150 bp, *RPB2b* 1000 bp ve *Bloc* bölgesi içinde 1050 bp'lik gen bölgeleri PCR ile çoğaltıldı. Elde edilen bantlar Şekil 10'de gösterilmektedir.

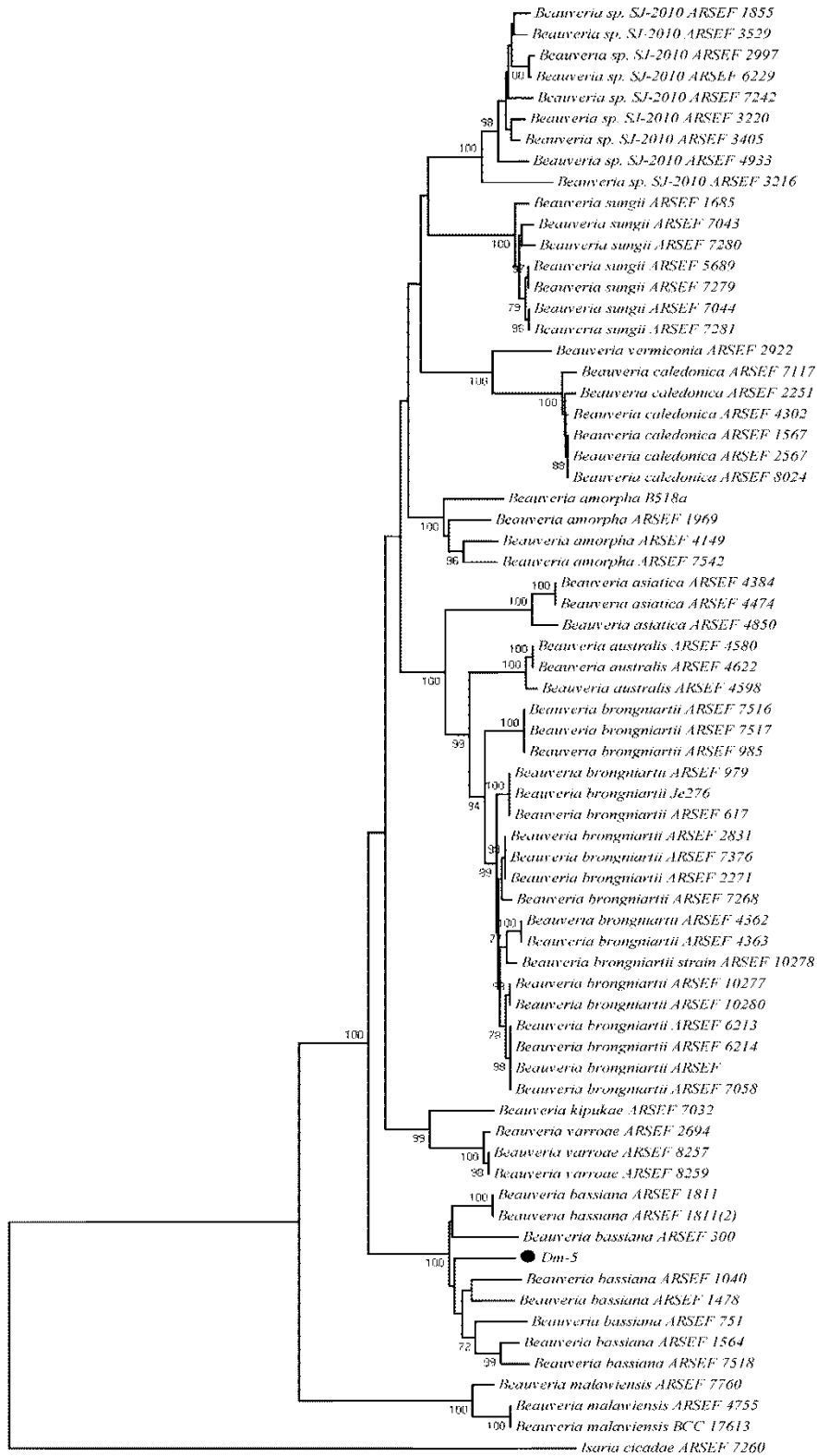


Şekil 10. Dm-5'in moleküler karakterizasyonu. M: Marker (1 kb) 1: Bloc; 2: RPB1; 3: RPB2b; 4: EF1- α ; 5: RPB2a

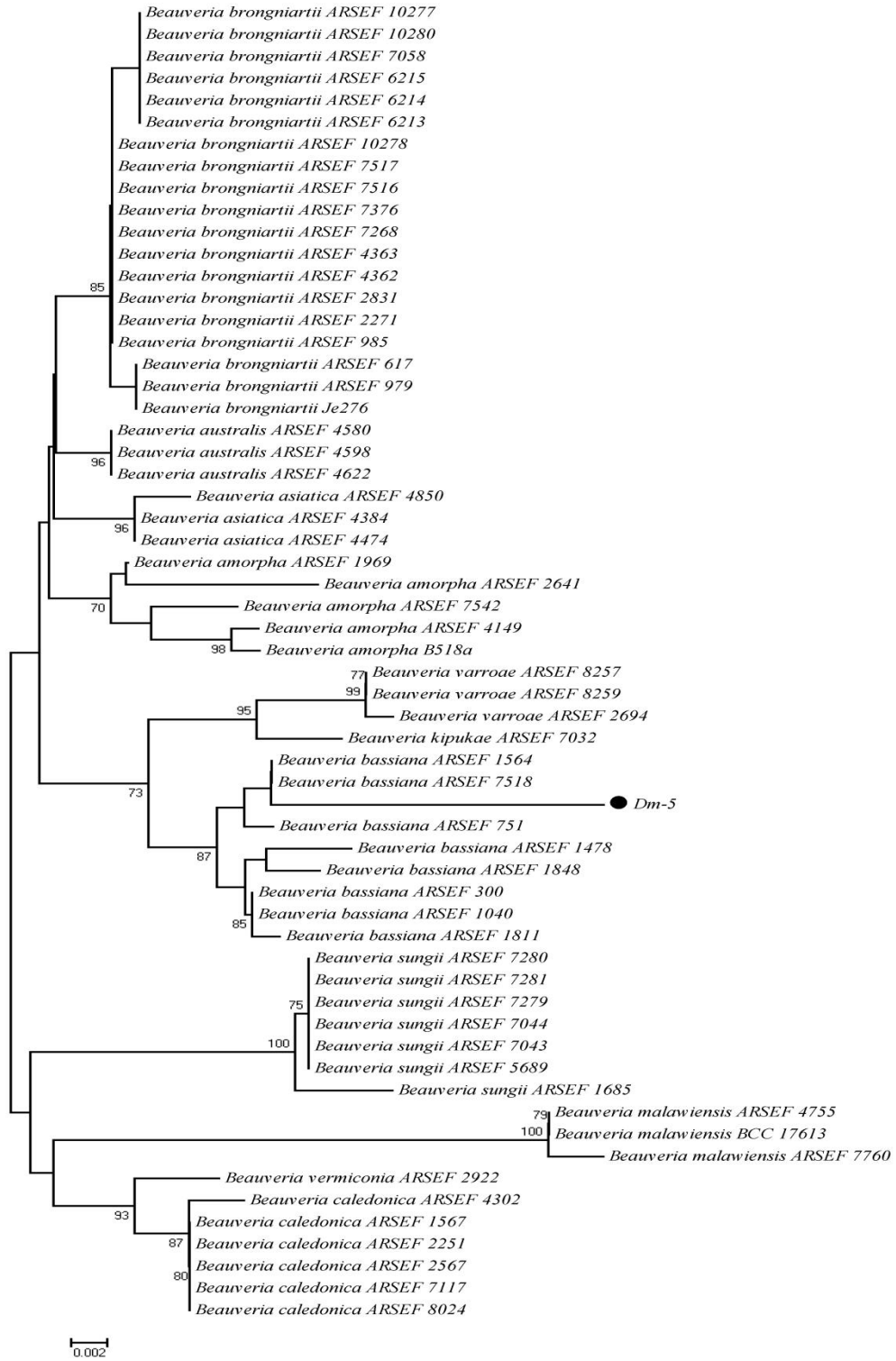
Dm-5'in taksonomik pozisyonlarını son revizyona göre belirlemek için elde edilen *EF1- α* , *Bloc* , *RPB1* , *RPB2* dizileri filogenetik analizlerde kullanıldı. *Beauveria* son taksonomik revizyonunun yer aldığı, Rehner vd. (2011)'leri tarafından yapılan çalışmadaki tüm *Beauveria* cinsine ait izolatları karşılaştırıldı. *EF1- α* bölgesine göre çizilen filogenetik ağaçta *B. pseudobassiana* olarak belirlenirken Bloc ve RPB1 de *B. Bassiana*, RPB2 dizilerine göre *Beauveria sp.* olarak belirlendi. Çizilen filogenetik ağaçta morfolojik olarak tanımlanan Dm-5 izolatının taksonomik pozisyonları Şekil 11, 12, 13 ve 14'de görülmektedir.



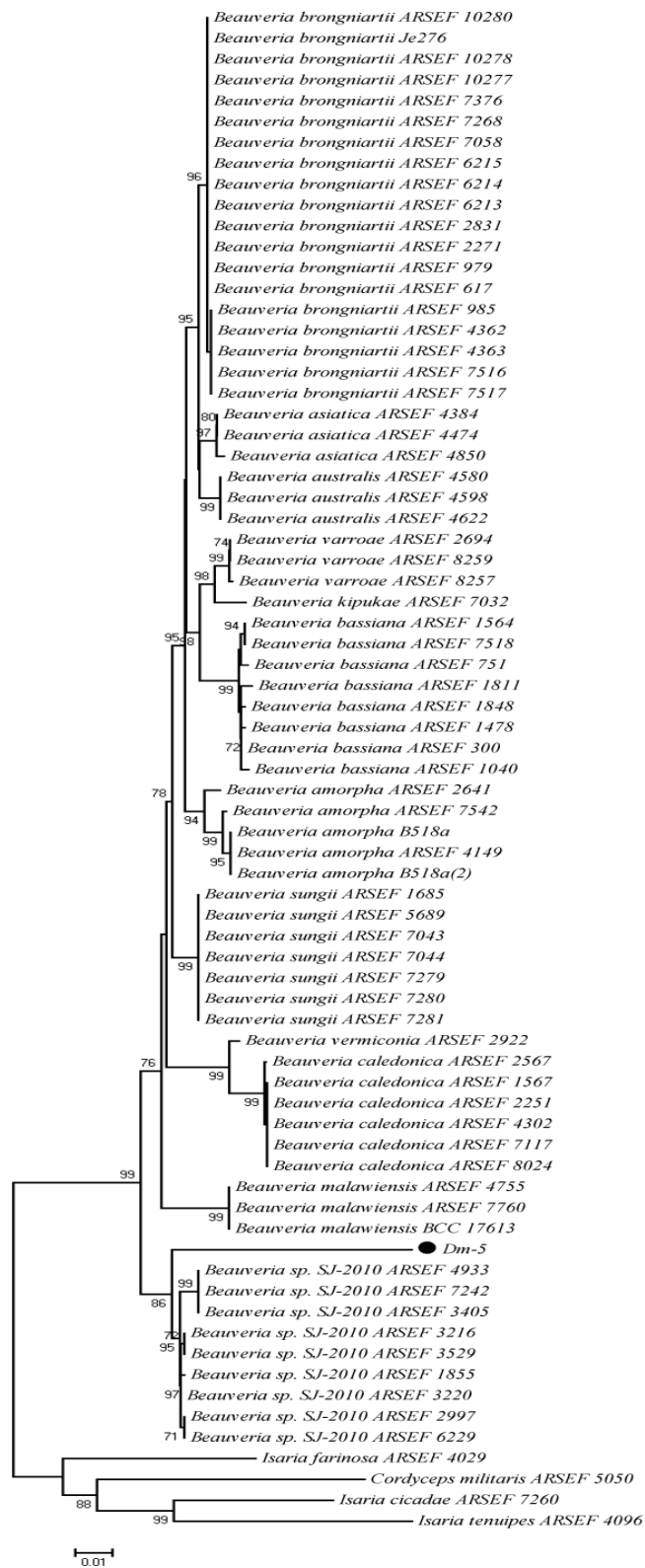
Şekil 11. Dm-5'in Rehner vd. (2011)'lerinin çalışmasında kullanılan *Beauveria* türlerinin *EF1-α* dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. Seç-bağla (bootstrap) değerlerinin % 70 ve yukarısı olanlar belirtildi.



Şekil 12. Dm-5'in Rehner vd. (2011)'lerinin çalışmasında kullanılan *Beauveria* türlerinin *Bloc* dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. Seç-bağla (bootstrap) değerlerinin % 70 ve yukarısı olanlar belirtildi.



Şekil 13. Dm-5'in Rehner vd. (2011)'lerinin çalışmasında kullanılan *Beauveria* türleri ile *RPBI* dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. Seç-bağla (bootstrap) değerlerinin % 70 ve yukarısı olanlar belirtildi

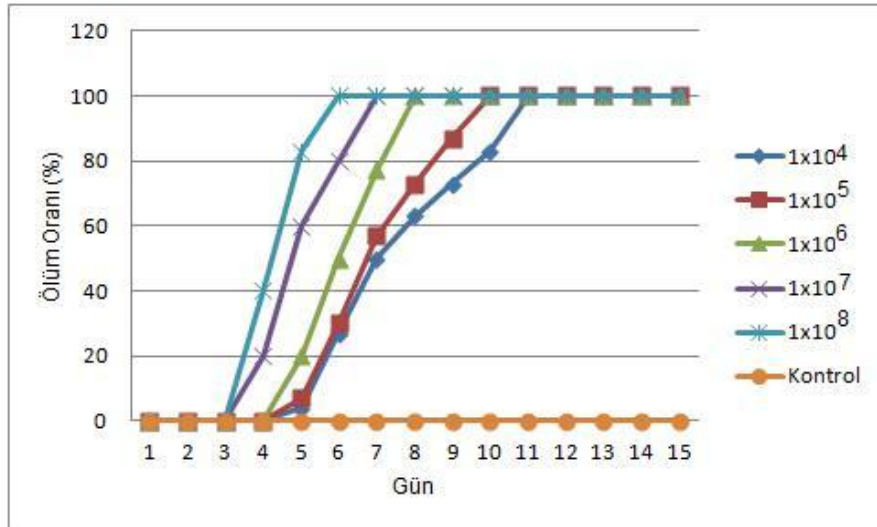


Şekil 14. Dm-5'in Rehner vd. (2011)'lerinin çalışmasında kullanılan *Beauveria* türleri ile RPB2 dizisine göre taksonomik pozisyonunu gösteren N-J ağacı. Seç-bağla (bootstrap) değerlerinin % 70 ve yukarısı olanlar belirtildi

3.2. Dm-5'in Farklı Dozlarının *Dendroctonus micans* Üzerindeki Etkileri

3.2.1. *D. micans* Larvaları Üzerindeki Etkisi

Dm-5'in *Dendroctonus micans* larvaları üzerindeki virülansının belirlenmesi için 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 spor/mL konsantrasyonlarının kullanıldığı bu çalışmada elde edilen insektisidal aktivite sonuçları Şekil 15'de verilmiştir. Laboratuvar koşullarında gerçekleştirilen bu çalışmada konsantrasyondaki artışa paralel olarak, larvalar üzerindeki öldürücü etkinin de arttığı ve tüm dozlarda % 100 ölüm sağlandığı görülmektedir. En düşük konsantrasyonun (1×10^4 spor/mL) kullanıldığı çalışmada enfeksiyondan 11 gün sonra tüm larvaların öldüğü tespit edildi. Doz arttıkça (1×10^4 - 1×10^8 spor/mL) % 100 ölümlerin sırasıyla enfeksiyondan sonraki 11., 10., 8., 7. ve 6. günlerde meydana geldiği belirlendi. Tüm dozlarda etkili ölümler tespit edilirken, en hızlı ölüm 1×10^8 spor/mL'lik konsantrasyon ile sağlandı.



Şekil 15. Dm-5'in *Dendroctonus micans* larvaları üzerindeki doz denemeleri. Gün: Enfeksiyondan sonra geçen süre. Testler her bir testte 10'ar larva olmak üzere üçer tekrarlı yapılmış ve sonuçlar Abbott (1925) formülüne göre hesaplanmıştır.

Doz denemelerinde sağlanan ölüm oranlarının uygulama yapılan entomopatojenik fungustan olup olmadığının belirlenmesi için böcek kadavraları mikozlanmaya tabi tutuldu. Doz denemelerinde ölen böcekler nemli filtre kağıdı içeren petri kaplarında ayrı ayrı

toplandı ve 28°C’de inkübasyona bırakıldı. Testlerin kontrolü esnasında da zaman zaman ölü larvaların mikozlanmaya başladığı gözlemlendi (Şekil 16).

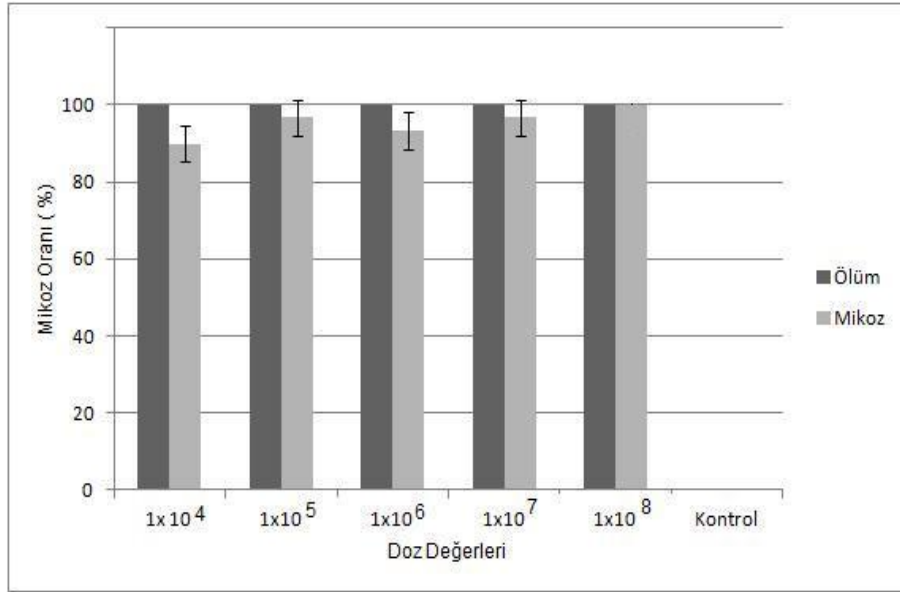


Şekil 16. Biyotest sırasında 1×10^8 ile enfekte olan *D. micans* larvaları

Diğer dozlardaki ölümlerin de (düşük dozdan yükseğe doğru) sırasıyla % 90, 96.67, 93.33 ve 96.67 oranında mikozlandığı tespit edildi. Dm-5 izolatının 7. gün sonunda zararlı üzerindeki LC_{50} değeri 2.35×10^4 ($342,5 - 1.18 \times 10^5$) spor/mL olarak hesaplandı. Enfeksiyondan 7 gün sonra uygulanan tüm dozlarda ölüm oranlarının yüksek düzeyde olması nedeniyle, LC_{50} değeri de aynı günde sağlanan ölüm oranlarına göre hesaplandı. Bu durum tüm ölümlerin fungustan kaynaklandığını ortaya koymaktadır. Uygulama sonunda, 1×10^8 spor/mL konsantrasyonun kullanıldığı testte ölen tüm larvaların mikozlandığı görülmektedir (Şekil 17) ve diğer dozlardaki ölümlerin de % 90’ının üzerindeki bir yüksek değerle mikozlandığı tespit edildi (Şekil 18).



Şekil 17. Doz denemesi sonucunda ölen *D. micans* larvalarının mikozlanması



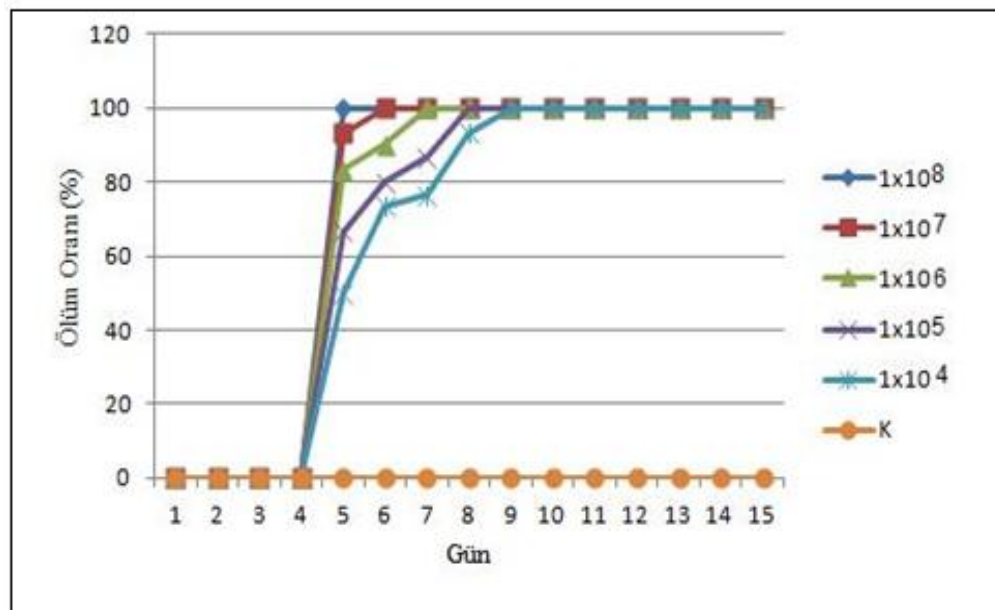
Şekil 18. Larvaların doz denemelerinde gerçekleşen ölümlerin mikoz oranları

3.2.2. *D. micans* Erginleri Üzerindeki Etkisi

Dm-5'in *Dendroctonus micans* erginleri üzerindeki virülansının belirlenmesi için de aynı larvalar üzerinde uygulanan 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 spor/mL

konsantrasyonları kullanıldı ve bu çalışmada elde edilen insektisidal aktivite sonuçları Şekil 19’de verilmiştir.

Bu çalışmada konsantrasyondaki artışa ve larvalar üzerindeki öldürücü etkiye paralel olarak tüm dozlarda % 100 ölüm sağlandığı görülmektedir. En düşük konsantrasyonda (1×10^4 spor/mL) enfeksiyondan 9. gün sonra tüm erginlerin öldüğü tespit edildi. Doz arttıkça (1×10^4 - 1×10^8 spor/mL) % 100 ölümlerin sırasıyla enfeksiyondan sonraki 9., 8., 7., 6. ve 5. günlerde meydana geldiği belirlendi. Tüm dozlarda etkili ölümler tespit edilirken, en hızlı ölüm 1×10^8 spor/mL’lik konsantrasyon ile sağlandı.

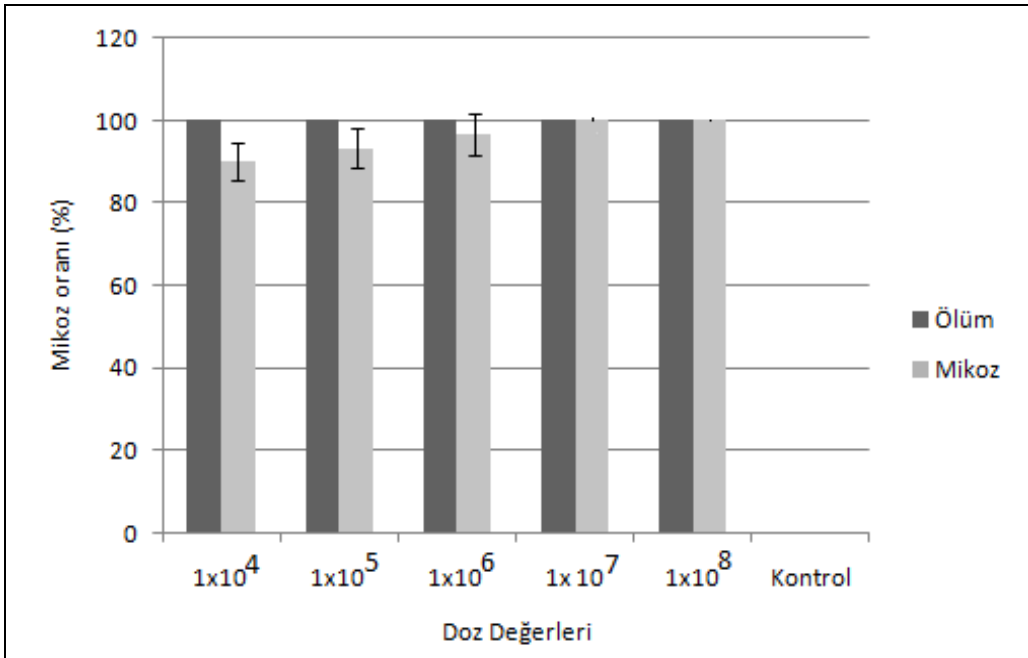


Şekil 19. Dm-5’in *Dendroctonus micans* erginleri üzerindeki doz denemeleri. Gün: Enfeksiyondan sonra geçen süre. Testler her bir testte 10’ar larva olmak üzere üçer tekrarlı yapılmış ve sonuçlar Abbott (1925) formülüne göre hesaplanmıştır.

Doz denemelerinde sağlanan ölüm oranlarının fungustan olup olmadığının belirlenmesi için böcek kadvraları mikozlanmaya tabi tutuldu. Uygulama sonunda, 1×10^8 spor/mL konsantrasyonun kullanıldığı testte ölen tüm erginlerin mikozlandığı görülmektedir (Şekil 20). Bu uygulamadan elde edilen değerler de Şekil 21’de görülmektedir. Bu durum tüm ölümlerin fungustan kaynaklandığını ortaya koymaktadır. Aynı zamanda 1×10^7 spor/mL konsantrasyondaki ölümlerde de % 100 mikozlanma oranı gözlenirken diğer dozlarda da % 90’ın üzerinde mikozlanma tespit edildi.



Şekil 20. Doz denemelerinde erginlerde gerçekleşen ölümlerin mikozlanması



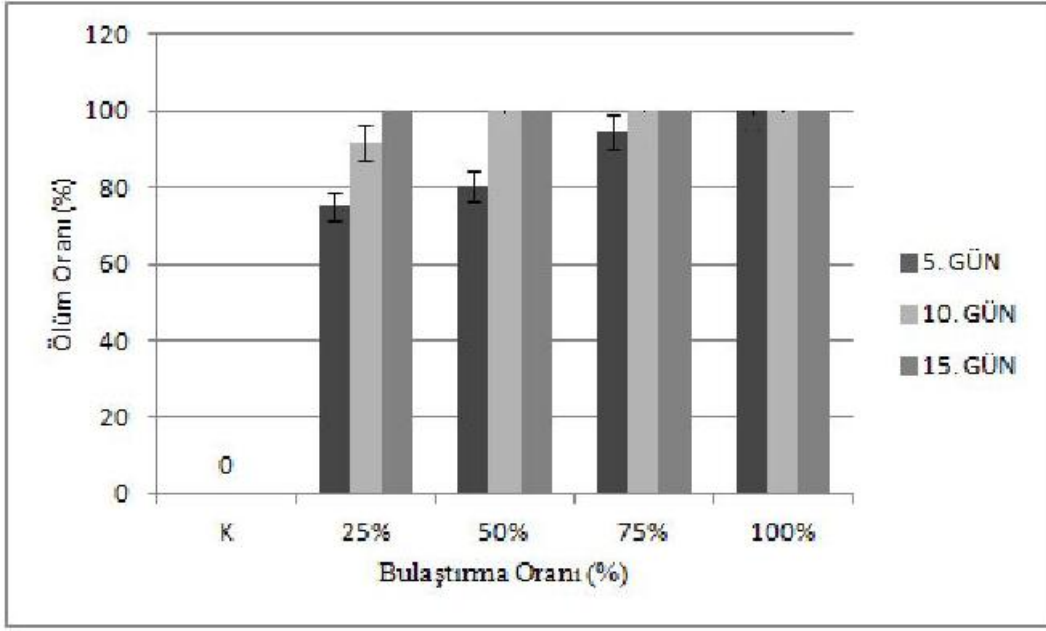
Şekil 21. Doz denemelerinde erginlerde gerçekleşen ölümlerin mikoz oranları

3.3. Dm-5'in *Dendroctonus micans* Populasyonundaki Horizontal Yayılımı

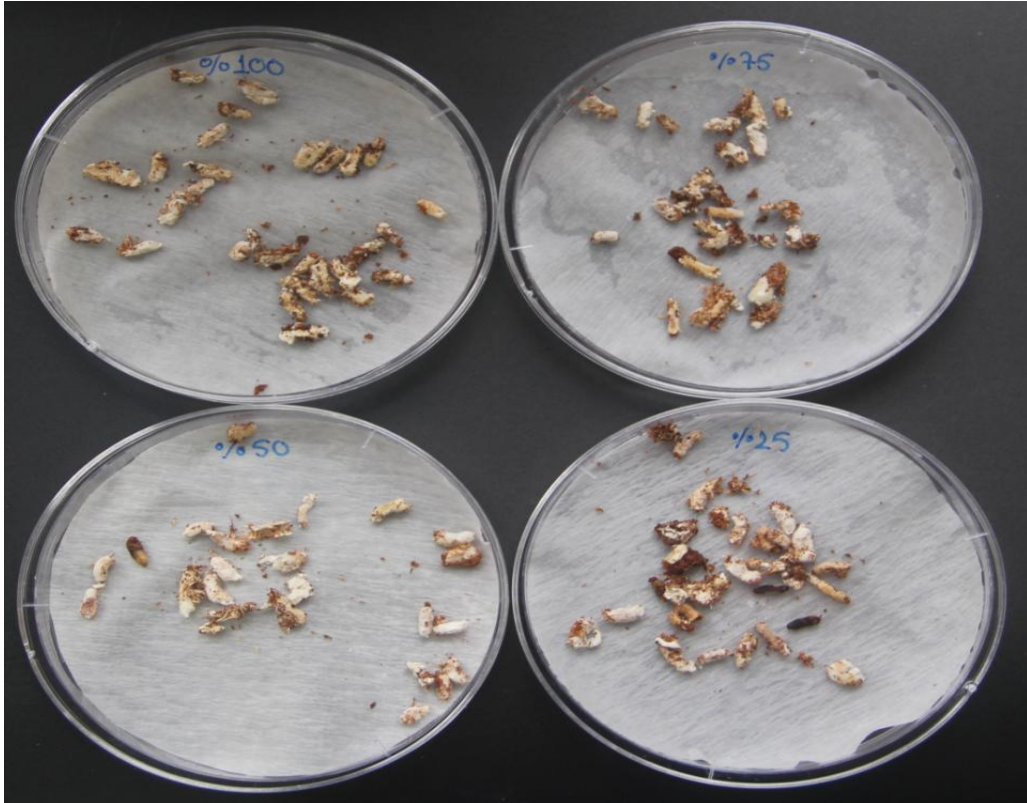
3.3.1. *D. micans* Larva Populasyonunda Yayılımı

Dm-5'in *Dendroctonus micans* larval populasyonundaki horizontal yayılış etkinliği 2.6'daki enfeksiyon oranları uygulanarak belirlendi. Ölüm oranlarının enfeksiyondan sonra 5'er gün aralıklarla kaydedildiği çalışmanın sonuçları Şekil 22'te görülmektedir. Fungal bulaştırmanın yapılmadığı negatif kontrol grubunda herhangi bir ölüm tespit edilmedi. Buna karşılık tüm larvaların bulaştırıldığı testte larvaların tamamının 15 günlük deney süresini doldurmadan enfeksiyondan 5 gün sonra öldüğü gözlemlendi. Yüzde 25 bulaştırmanın gerçekleştirildiği uygulamada enfeksiyondan 15 gün sonra % 100 ölüm tespit edilirken, % 50 ve 75 bulaştırmanın yapıldığı çalışmada enfeksiyondan 10 gün sonra larvaların tamamının öldüğü belirlendi. Enfeksiyondan 5 gün sonra en düşük bulaştırma oranından en yüksek orana doğru ölüm oranları sırasıyla % 75, 80.56, 94.44 ve 100 olarak hesaplandı. Çalışma sonunda fungal bulaştırmanın yapıldığı oranlardan daha yüksek ölüm oranları elde edilmiş olması, fungal sporların, ortak yaşam alanlarını paylaşan larvalar arasında etkili bir şekilde horizontal olarak yayılabildiğini göstermektedir. Bulaştırmanın % 25 oranında yapılmasına karşılık, enfeksiyondan 5 gün sonra dahi ölüm oranının %75'e ulaşması, fungal bulaştırmanın yapılmadığı larvaların da ölmüş olması ve bu ölümlerin 10-15 gün gibi kısa bir sürede gerçekleşmesi yayılımın etkinliğini göstermektedir.

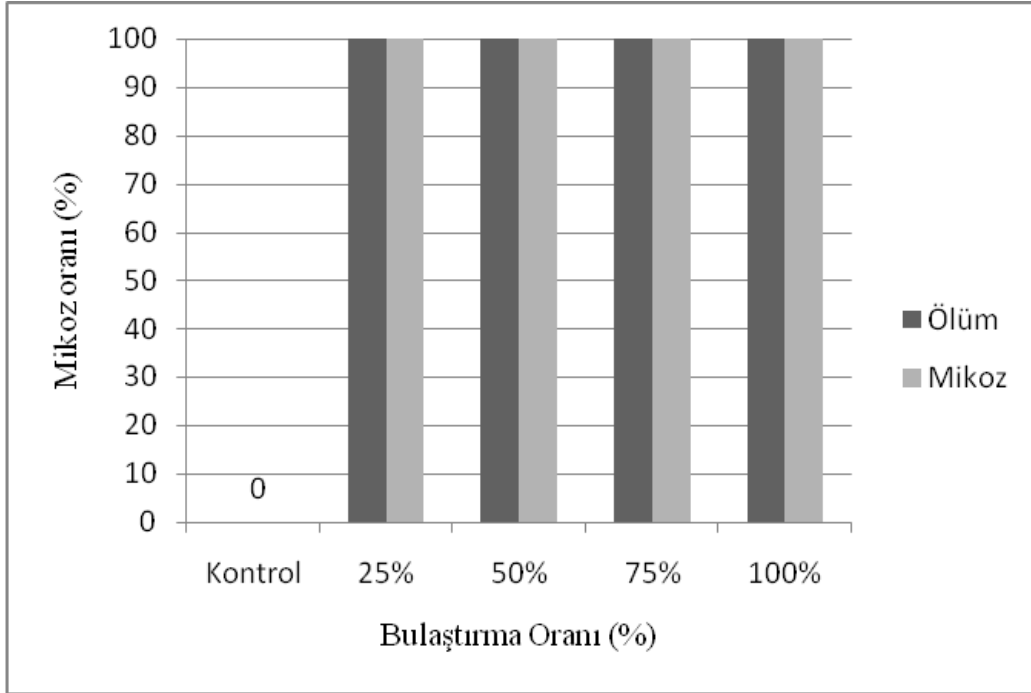
Horizontal yayılımdan sağlanan ölümlerin de fungal orjinli olup olmadığının belirlenmesi için mikozlanma testi yapıldı. Şekil 23 'de de görüldüğü gibi testte ölen tüm larvaların mikozlandığı görülmektedir. Bu durum tüm ölümlerin fungustan kaynaklandığını ortaya koymaktadır (Şekil 24).



Şekil 22. Dm-5'in *Dendroctonus micans* larvaları arasında horizontal yayılma etkinliği



Şekil 23. Horizontal yayılım deneylerinde larvalarda gerçekleşen ölümlerin mikozlanması

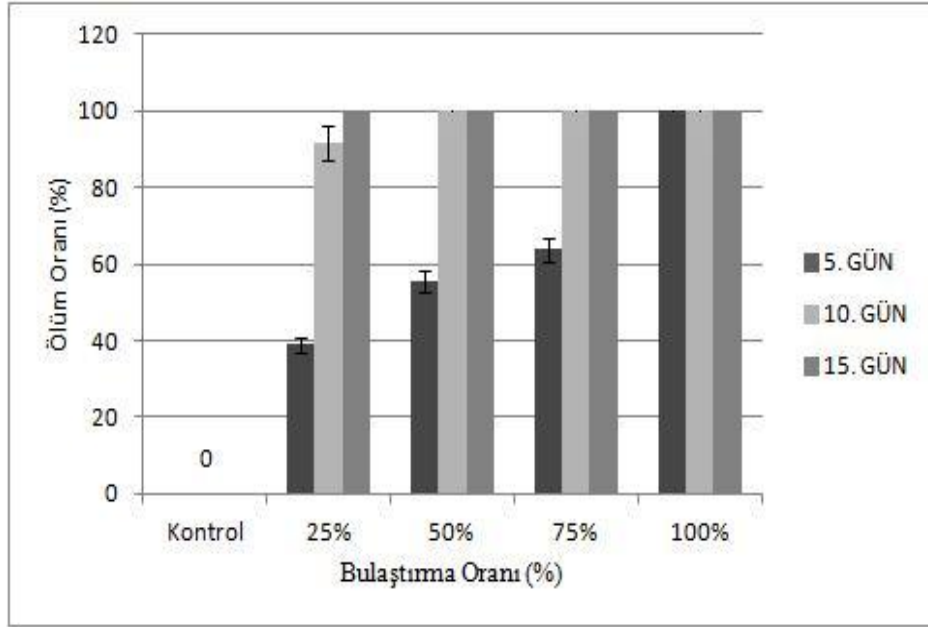


Şekil 24. Larvaların horizontal yayılım deneylerinde gerçekleşen ölümlerin mikoz oranları. Mikoz değerleri Abbott (1925)'e göre hesaplanmıştır.

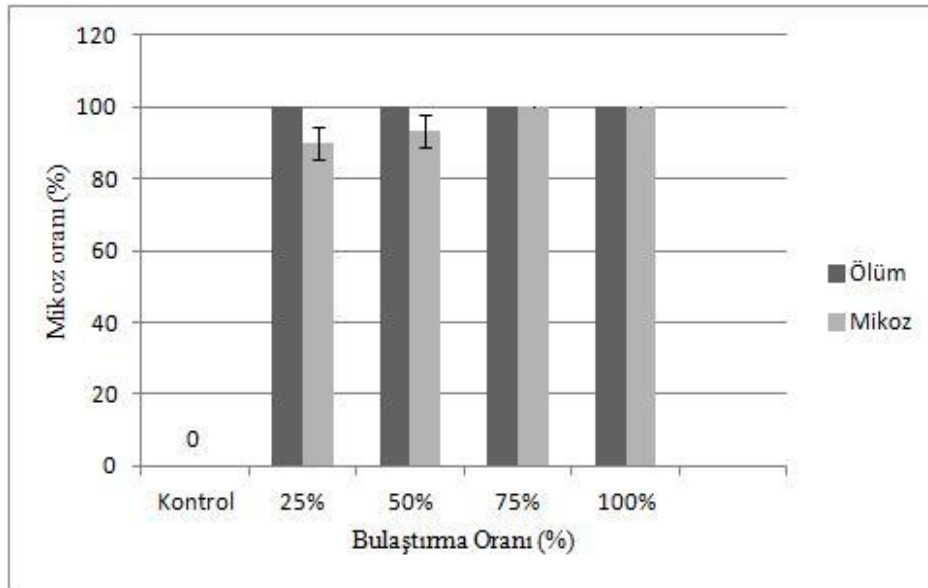
3.3.2. *D. micans* Ergin Populasyonunda Yayılımı

Dm-5'in *Dendroctonus micans* ergin populasyonundaki horizontal yayılış etkinliği yukarıda verilen 2.6'da verilen enfeksiyon oranları uygulanarak belirlendi. Larvalarda uygulandığı gibi erginlerde yapılan bu çalışmada da ölüm oranlarının enfeksiyondan sonra 5'er gün aralıklarla kaydedildiği çalışmanın sonuçları Şekil 25'de görülmektedir. Fungal bulaştırmanın yapılmadığı negatif kontrol grubunda herhangi bir ölüm tespit edilmedi. Buna karşılık tüm erginlerin aynı larvalarda olduğu gibi bulaştırıldığı teste erginlerin tamamının 15 günlük deney süresini doldurmadan, enfeksiyondan 10 gün sonra öldüğü gözlemlendi. Yüzde 25 bulaştırmanın gerçekleştirildiği uygulamada enfeksiyondan 15 gün sonra % 100 ölüm tespit edildi. %50 ve 75 bulaştırmanın yapıldığı çalışmada enfeksiyondan 10 gün sonra larvaların tamamının öldüğü belirlendi. Enfeksiyondan 5 gün sonra en düşük bulaştırma oranından en yüksek orana doğru ölüm oranları sırasıyla % 38,88, 55,55, 63,88 ve 100 olarak hesaplandı. Çalışma sonunda fungal bulaştırmanın yapıldığı oranlardan yüksek ölüm oranları elde edilmiş olması, fungal sporların, ortak yaşam alanlarını paylaşan erginlerin arasında bir şekilde horizontal olarak yayılabildiğini göstermektedir. Ölümlerin fungustan kaynaklanıp kaynaklanmadığına bakıldığında

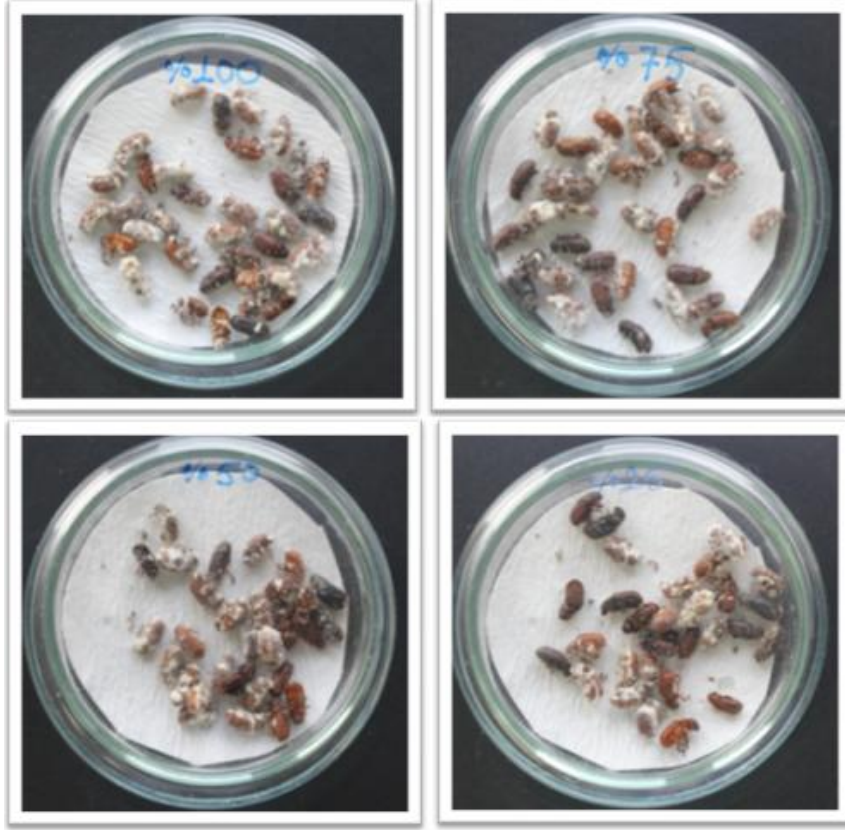
sonuçlar Şekil 26 ‘da gösterildi. Yapılan çalışmalarda erginler üzerinde % 25 bulaştırma oranında % 90 mikozlanma oranı gözlenirken % 100 bulaştırma oranında ölen tüm ergin böcekler % 100 mikozlanma gözlendi (Şekil 27).



Şekil 25. Dm-5'in *Dendroctonus micans* erginler arasında horizontal yayılma etkinliği.



Şekil 26. Horizontal yayılım deneylerinde erginlerde gerçekleşen ölümlerin mikoz oranları.

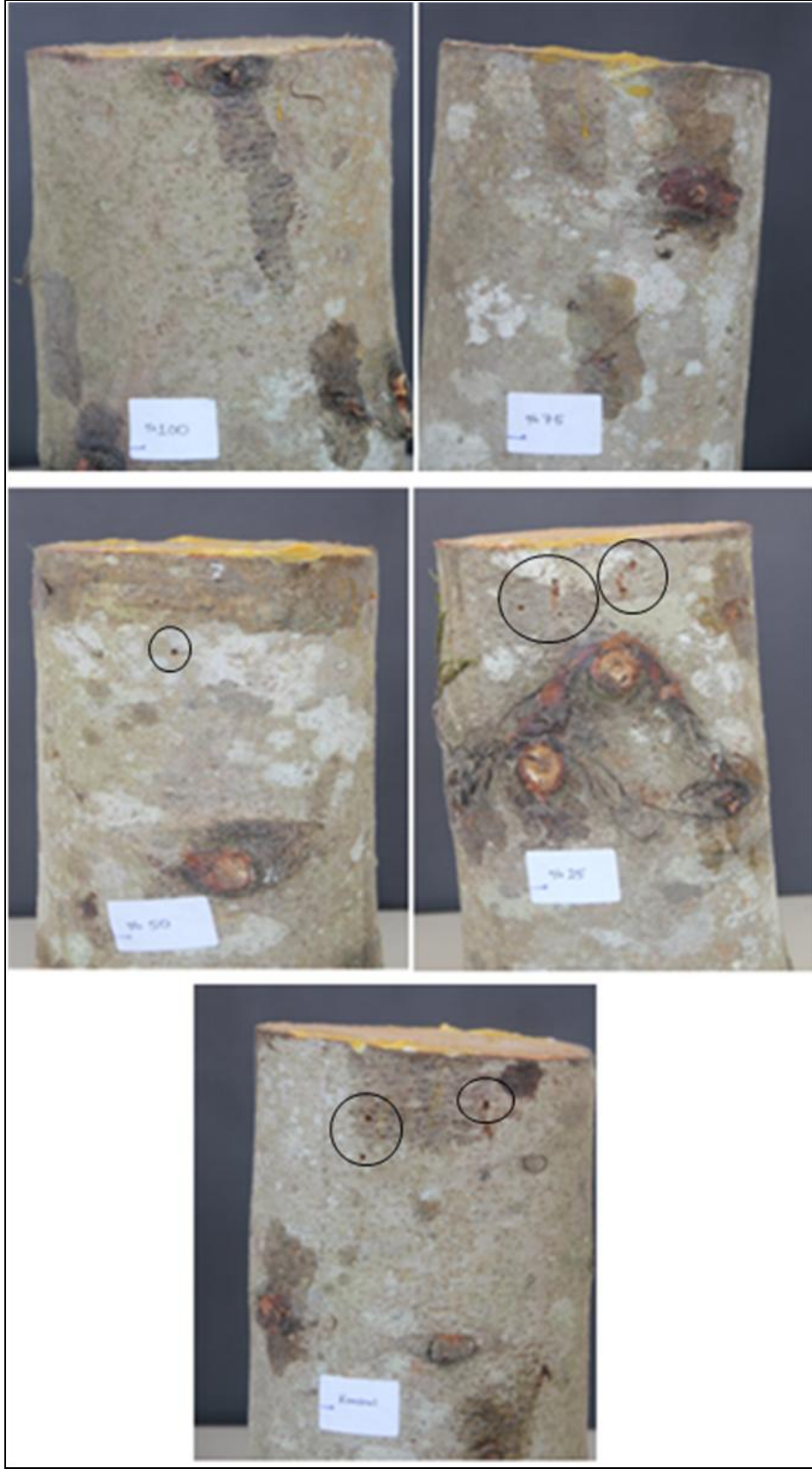


Şekil 27. *D. micans* erginleri üzerinde horizontal dağılım deneyinde mikozlanan ergin böcekler

3.4. *D. micans* 'ın Kütük Denemeleri

Bu denemeler, farklı sayıda enfekte *D. micans* larvalarının fungal etmeni populasyon içerisindeki enfekte olmamış larvalara bulaştırma oranlarının belirlenmesi ve enfeksiyonların larvaların kütüklerdeki zarar performansları üzerindeki etkilerinin tespit edilmesini sağlandı.

Üç haftalık inkübasyon süresi sonucunda kütüklerin ilk incelenmesinde açılan kütüklerde % 100 ve % 75 bulaştırma oranı uygulanan kütüklerde herhangi bir kaçış deliğinin olmadığı, % 50 ve % 25 bulaştırma yapılan ve kontrol grubunda kullanılan kütüklerde kaçış delikleri gözlemlendi (Şekil 28).



Şekil 28. Kütük denemelerinde, kütüklerden çıkış işaretleri

Larvaların tamamına bulaştırma yapılan çalışmada larvaların tamamının öldüğü ve kabuk altında mikozlandığı gözlemlendi. Larvaların tamamının larval dönemde öldükleri tespit edildi. Enfekte larvaların yaklaşık olarak 20 cm² yığıntı alanı oluşturduğu gözlemlendi (Şekil 29). Uygulamam sonucunda ölüm ve mikoz oranı % 100 olarak belirlendi.



Şekil 29. Larvaların tamamı enfekte edilerek gerçekleştirilen kütük denemeleri

Larvaların % 75'in enfekte edilerek uygulandığı kütüklerde ise sadece 3 tane böceğin larva döneminden ergin döneme geçerek canlı kaldığı ve diğer tüm böceklerin kütük içerisinde öldüğü ve mikozlandığı gözlemlendi (Şekil 30). Yığıntı alanı olarak bakıldığında yaklaşık 29 cm²'lik bir alanın yendiği görülmektedir. Uygulamam sonucunda ölüm ve mikoz oranı % 97,22 olarak belirlendi.



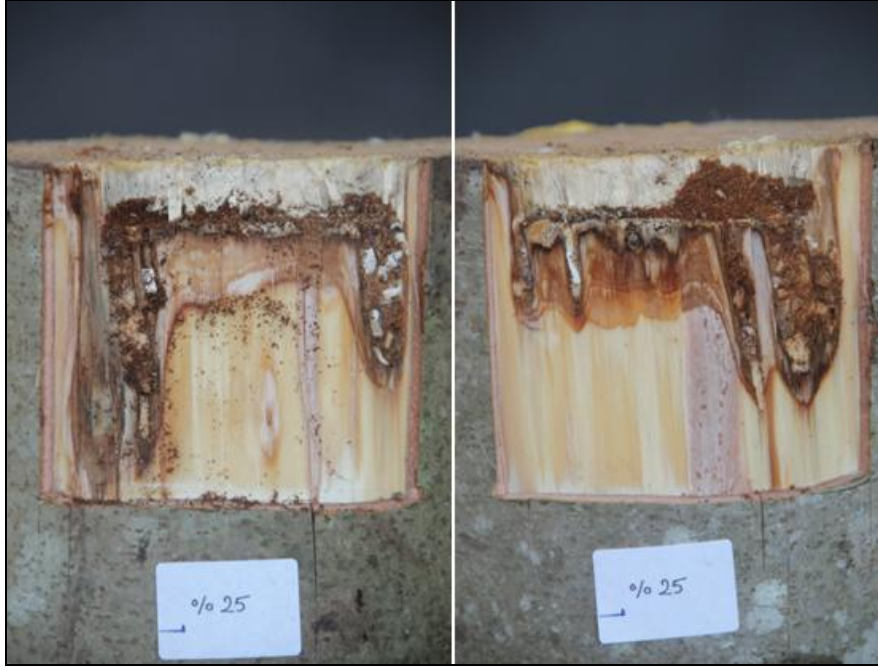
Şekil 30. Larvaların % 75'i enfekte edilerek gerçekleştirilen kütük denemeleri

Larvaların yarısının enfekte edilerek uygulandığı kütüklerin açılması ile 1 adet pupa görülürken, 24 adet *D. micans* larvasının ergin dönemine geçerek canlı kaldığı tespit edildi. Kütük içerisinde ölen böceklerin tamamının kütük içerisinde mikozlandığı tespit edildi (Şekil 31). Uygulama sonucunda ölüm ve mikoz oranı % 70,37 olarak belirlendi. Larvaların ve erginlerin oluşturduğu yığıntı alanların yaklaşık 45 cm² olduğu ve % 75 oranında bulaştırma deneyine göre anlamlı derecede artış olduğu belirlendi.



Şekil 31. Larvaların % 50'si enfekte edilerek gerçekleştirilen kütük denemeleri; A: Enfekte olmamış *D. micans* ergini; B: Enfekte olmuş *D. micans* ergini

Larvaların % 25 oranında enfekte edilerek uygulandığı kütüklerin açılması sonucunda 67 adet larvanın öldüğü ve 25 adet *D. micans* larvasının ergin hale dönüştüğü ve canlı kaldığı tespit edildi. Toplamda 16 adet böceğin kütüklerde açtıkları deliklerden kaçtığı tahmin edilmektedir. Kütük içerisindeki ölen böceklerin kütük içerisinde mikozlandığı gözlemlendi (Şekil 32). Uygulama sonucunda ölüm ve mikoz oranı % 62,03 olarak belirlendi. Larvaların ve erginlerin oluşturduğu yığıntı alanlarının ölçüldüğünde yaklaşık 52 cm² olduğu ve diğer bulaştırma deneylerine göre anlamlı derecede artış olduğu belirlendi.



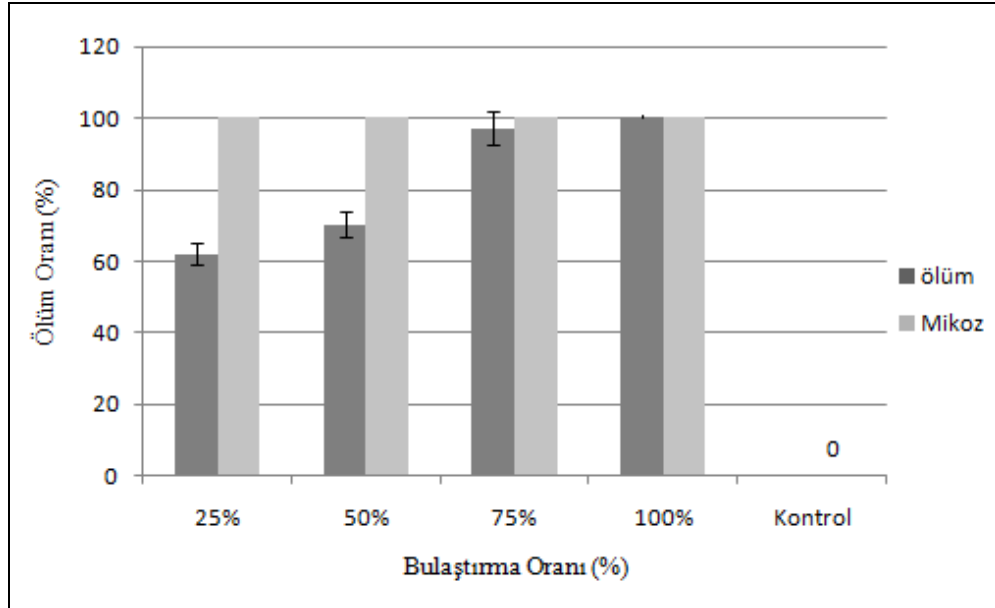
Şekil 32. Larvaların % 25'i enfekte edilerek gerçekleştirilen kütük denemeleri

Herhangi bir bulaştırmanın yapılmadığı kontrol grubunda ise hiçbir ölüm gözlenmezken 16 adet larvanın ergin bireye dönüşerek canlı kaldığı açtıkları çıkış deliklerinden kütüğü terk ettiği tahmin edilmektedir (Şekil 33). Yiğinti alanları hesaplandığında yiğinti alanının yaklaşık 68 cm² olduğu belirlendi.

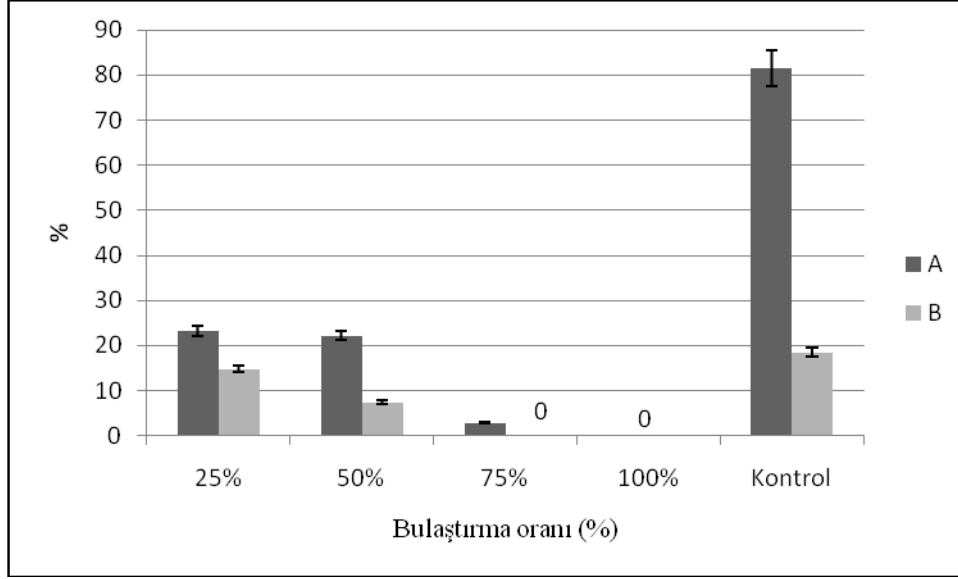
Yapılan bütün çalışmalar topladığında, kütük denemeleri sonucunda ölen *D. micans* larvaların sayısı ve mikoz oranları Şekil 34'de, kütük denemelerinde canlı kalan ve kütüklerden kaçan böceklerin oranı ise Şekil 35'de verilmektedir.



Şekil 33. Kontrol grubunda *D. micans* erginleri



Şekil 34. Kütük denemeleri sonucunda ölen *D. micans* larvalarının sayısı ve mikoz oranları



Şekil 35. Kütük denemelerinde canlı kalan ve kütüklerden kaçan böceklerin oranı
A: Larva döneminden ergin döneme geçerek canlı kalan *D. micans* erginlerinin % oranları; B: Kütükten kaçan böceklerin % oranı

3.5. Dm-5'in Farklı Dozlarının *Ips sexdentatus* ve *Ips typographus* Ergin Üzerindeki Etkileri

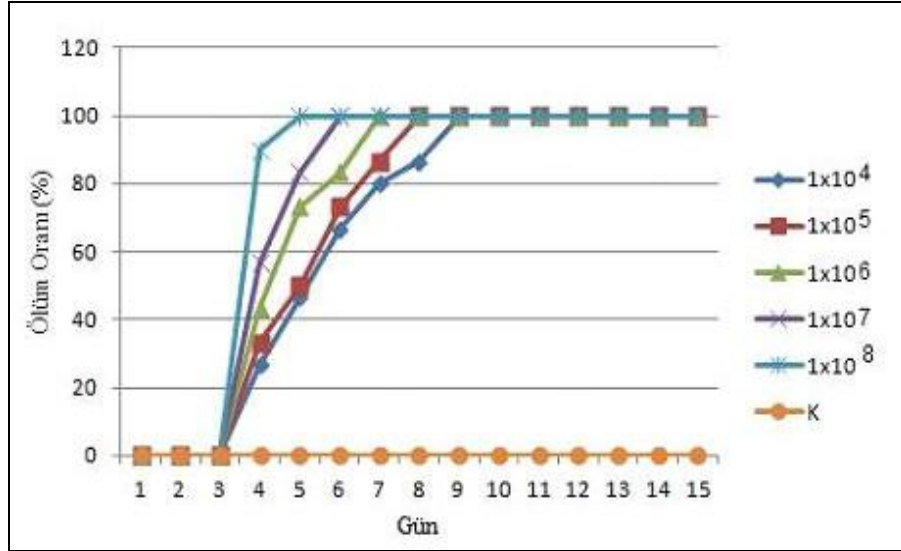
3.5.1. *Ips sexdentatus* ve *Ips typographus* Erginleri Üzerinde Etkileri

Dm-5'in *Ips sexdentatus* ve *Ips typographus* erginleri üzerindeki virülansının belirlenmesi için 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 spor/mL konsantrasyonlarının kullanıldığı bu çalışmada elde edilen insektisidal aktivite sonuçları *Ips sexdentatus* için Şekil 36 'de verilmiştir.

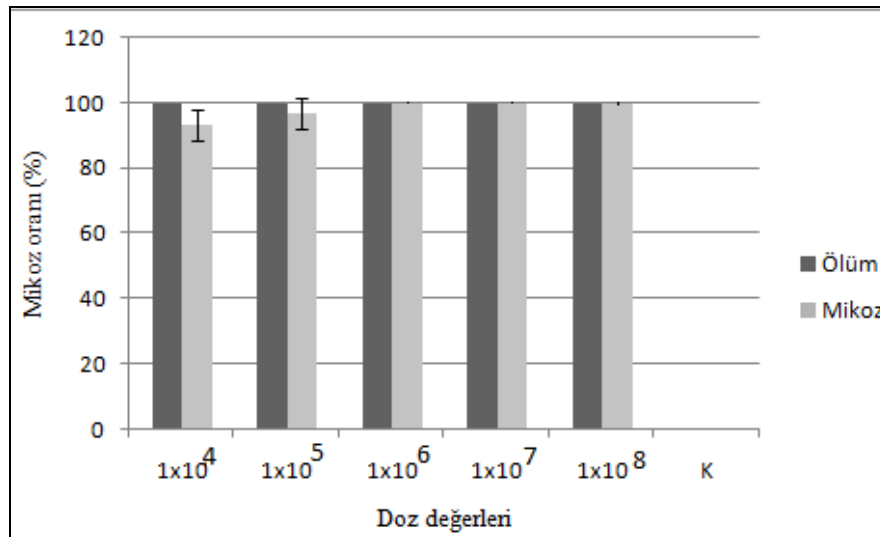
Konsantrasyondaki artışa paralel olarak, *Ips sexdentatus* üzerindeki öldürücü etkinin de arttığı ve tüm dozlarda % 100 ölüm sağlandığı görülmektedir. En düşük konsantrasyonun (1×10^4 spor/mL) kullanıldığı çalışmada enfeksiyondan 9 gün sonra tüm larvaların öldüğü tespit edildi. Doz arttıkça (1×10^4 - 1×10^8 spor/mL) %100 ölümlerin sırasıyla enfeksiyondan sonraki 9. gün, 8. gün, 7. gün 6. gün ve 5. günlerde meydana geldiği belirlendi. Tüm dozlarda etkili ölümler tespit edilirken, en hızlı ölüm 1×10^8 spor/mL'lik konsantrasyon ile sağlandı.

Doz denemelerinde sağlanan ölüm oranlarının fungustan olup olmadığının belirlenmesi için böcek kadavraları mikozlanmaya tabi tutuldu. Doz denemelerinde ölen böcekler nemli filtre kağıdı içeren petri kaplarında ayrı ayrı toplandı ve 28°C'de

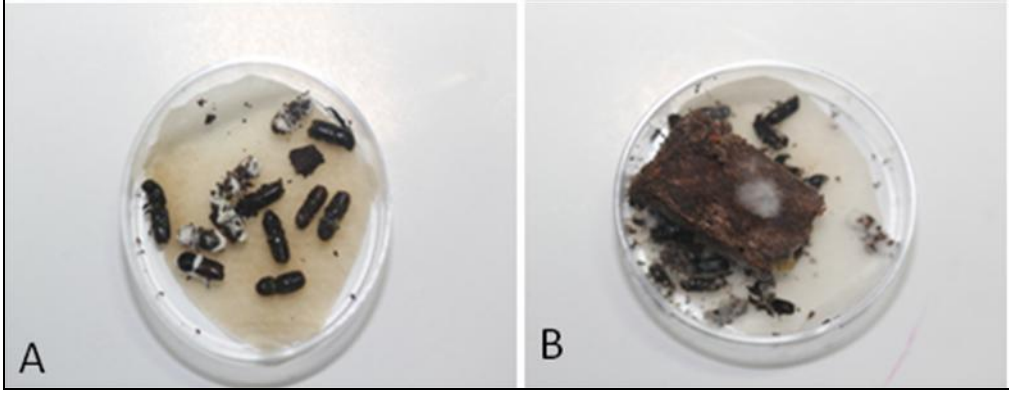
inkübasyona bırakıldı. Deneyin kontrolü esnasında da zaman zaman ölü erginlerin mikozlanmaya başladığı gözlemlendi. Bu uygulamadan elde edilen değerler de Şekil 37’de görülmektedir. Uygulama sonunda, 1×10^8 , 1×10^7 ve 1×10^6 spor/mL konsantrasyonun kullanıldığı testte ölü böceklerin mikozlandığı görülmektedir (Şekil 38).



Şekil 36. Dm-5’in *Ips sexdentatus* erginleri üzerindeki doz denemeleri. Gün: Enfeksiyondan sonra geçen süre. Testler, her bir testte 10’ar larva olmak üzere üçer tekrarlı yapılmış ve sonuçlar Abbott (1925) formülüne göre hesaplanmıştır.



Şekil 37. *Ips sexdentatus* doz denemelerinde gerçekleşen ölümlerin mikoz oranları. Mikoz değerleri Abbott (1925)’e göre hesaplanmıştır.

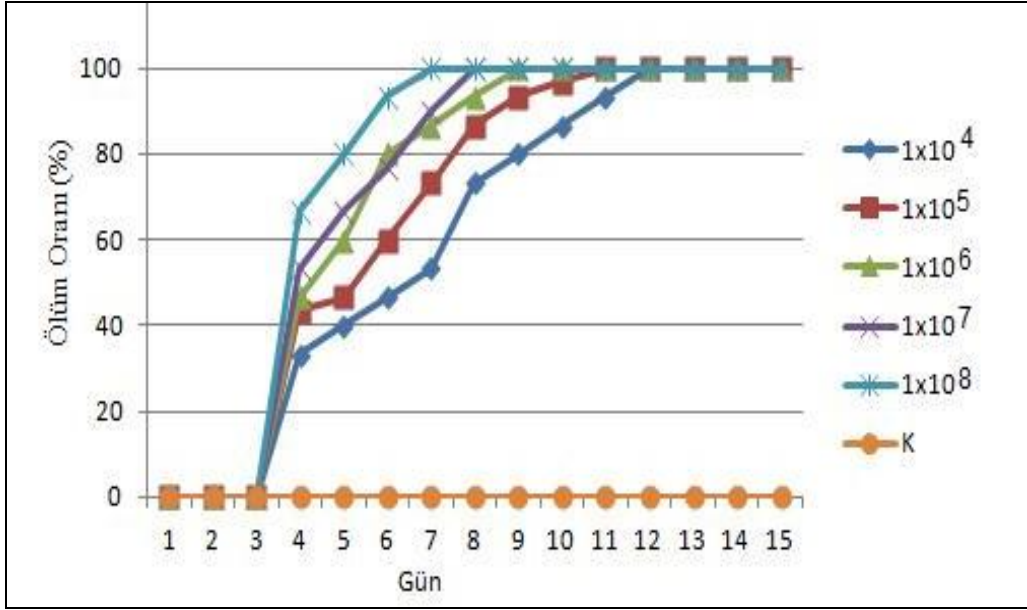


Şekil 38. Dm-5'in *Ips sexdentatus* üzerindeki doz denemeleri A: 1×10^4 spor/mL konsantrasyon kullanılarak enfekte edilen böceklerin mikoz görüntüleri; B: 1×10^8 spor/mL konsantrasyon kullanılarak enfekte edilen böceklerin mikoz görüntüleri

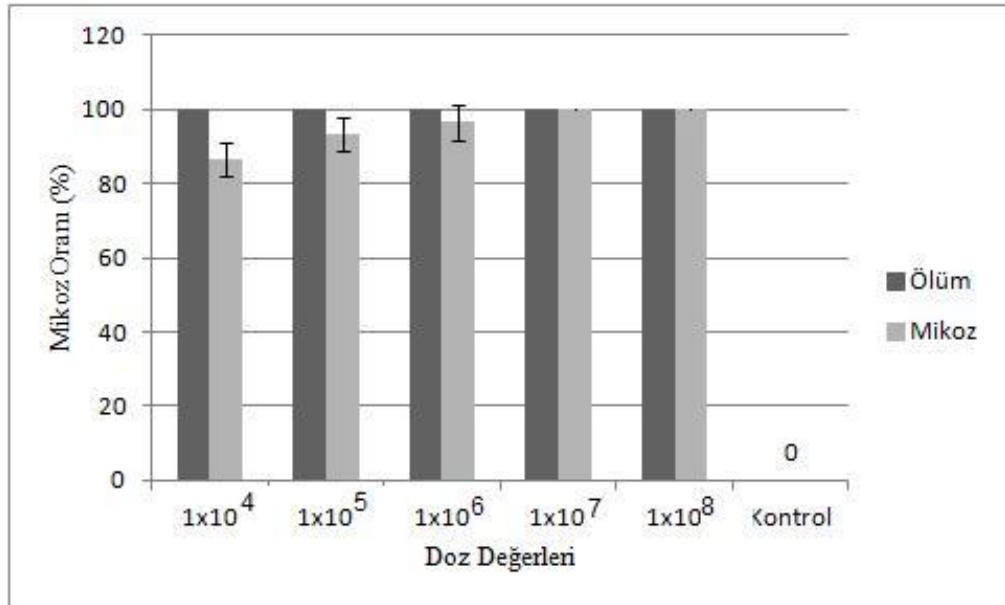
Bu durum tüm ölümlerin fungustan kaynaklandığını ortaya koymaktadır. Diğer dozlardaki ölümlerin de % 90'nın üzerindeki bir yüksek değerle mikozlandığı tespit edildi.

Ips typographus erginleri üzerindeki doz denemeleri, en düşük konsantrasyonun (1×10^4 spor/mL) kullanıldığı çalışmada enfeksiyondan 12. gün sonra tüm larvaların öldüğü tespit edildi. Doz arttıkça (1×10^4 - 1×10^8 spor/mL) %100 ölümlerin sırasıyla enfeksiyondan sonraki 12. gün, 11. gün, 9. gün 8. gün ve 7. günlerde meydana geldiği belirlendi (Şekil 39). Tüm dozlarda etkili ölümler tespit edilirken, en hızlı ölüm 1×10^8 spor/mL'lik konsantrasyon ile sağlandı.

Bu uygulamadan elde edilen mikozlanma değerleri de Şekil 40'de görülmektedir. Uygulama sonunda, 1×10^8 ve 1×10^7 spor/mL konsantrasyonun kullanıldığı testte ölen tüm erginlerin mikozlandığı görülmektedir. Bu durum tüm ölümlerin fungustan kaynaklandığını ortaya koymaktadır (Şekil 41). Diğer dozlardaki ölümlerin de % 85'nin üzerindeki bir yüksek değerle mikozlandığı tespit edildi.



Şekil 39. Dm-5'in *Ips typographus* erginleri üzerindeki doz denemeleri. Gün: Enfeksiyondan sonra geçen süre. Testler her bir teste 10'ar larva olmak üzere üçer tekrarlı yapılmış ve sonuçlar Abbott (1925) formülüne göre hesaplanmıştır.



Şekil 40. *Ips typographus* doz denemelerinde gerçekleşen ölümlerin mikoz oranları.



Şekil 41. Dm-5'in *Ips typographus* üzerindeki enfeksiyonu

3.5.2. Dm-5'in *Ips sexdentatus* ve *Ips typographus* Ergin Populasyonundaki Horizontal Yayılım

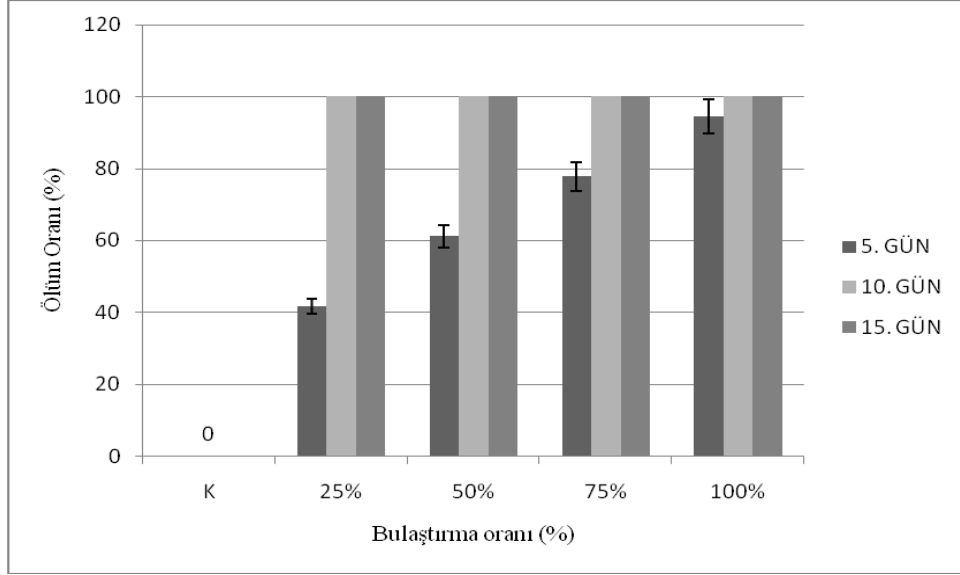
Dm-5'in *Ips sexdentatus* ve *Ips typographus* ergin populasyonundaki horizontal yayılış etkinliği 2.6'da verilen enfeksiyon oranları uygulanarak belirlendi.

Ips sexdentatus'ta ölüm oranlarının enfeksiyondan sonra 5'er gün aralıklarla kaydedildiği çalışmanın sonuçları Şekil 42'de görülmektedir. Herhangi bir fungal bulaştırmanın yapılmadığı negatif kontrol grubunda herhangi bir ölüm tespit edilmedi. Buna karşılık tüm böceklerin bulaştırıldığı teste larvaların tamamının 15 günlük deney süresini doldurmadan enfeksiyondan 5 gün sonra öldüğü gözlemlendi. Enfeksiyondan 5 gün sonra en düşük bulaştırma oranından en yüksek orana doğru ölüm oranları sırasıyla % 41,66, 61,11, 77,77 ve 94,44 olarak hesaplandı. Horizontal yayılımdan sağlanan ölümlerin de fungal orijinli olup olmadığının belirlenmesi için mikozlanma testi yapıldı. Şekil 43'de de görüldüğü gibi teste ölen erginlerin % 25 bulaştırma oranında % 75 diğer bulaştırma oranlarında %100 mikozlandığı görülmektedir. Bu durum ölümlerin fungustan kaynaklandığını ortaya koymaktadır.

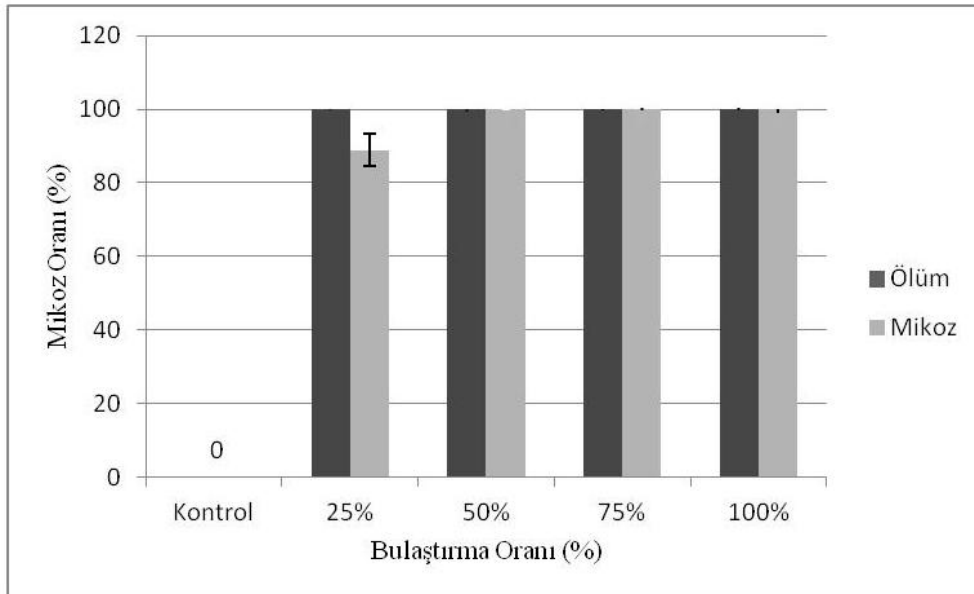
Dm-5'in *Ips typographus* erginler arasında horizontal yayılma etkinliğine bakıldığında, enfeksiyondan 10 gün sonra en düşük bulaştırma oranından en yüksek orana doğru ölüm oranları sırasıyla % 66,66, 69,44, 86,11 ve 100 olarak hesaplandı (Şekil 44). Çalışma sonunda fungal bulaştırmanın yapıldığı oranlardan daha yüksek ölüm oranları elde edilmiş olması, fungal sporların, ortak yaşam alanlarını paylaşan erginler arasında etkili bir

şekilde horizontal olarak yayılabildiğini göstermektedir. Ölümün 10 gün gibi kısa bir sürede gerçekleşmesi yayılmanın etkinliğini göstermektedir.

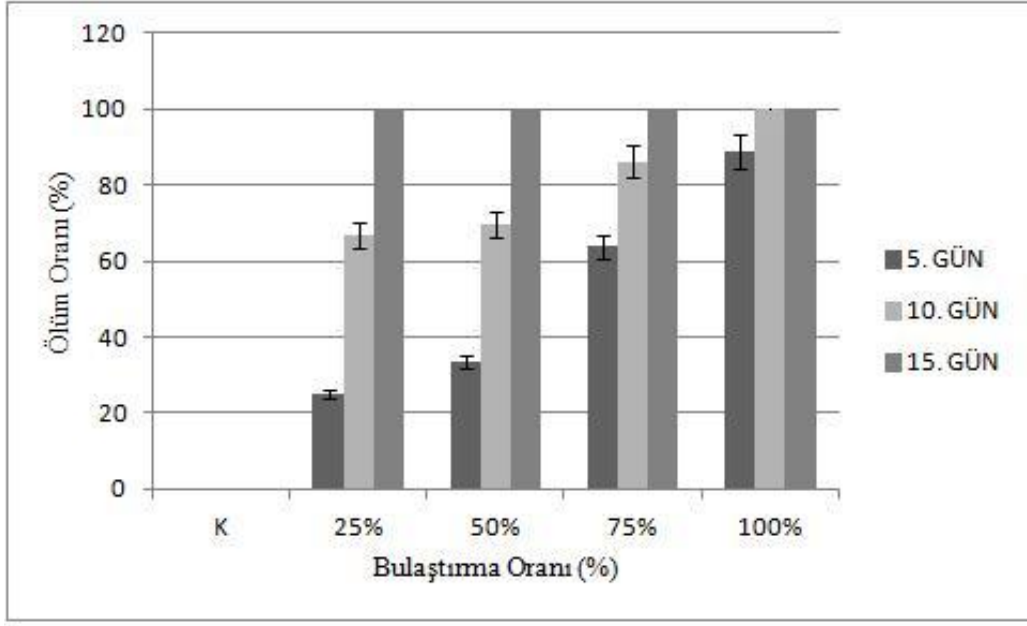
Horizontal yayılımdan sağlanan ölümlerin de fungal orijinli olup olmadığının belirlenmesi için mikozlanma testi yapıldı. Şekil 45’de de görüldüğü gibi testte ölen tüm larvaların mikozlandığı görülmektedir. Bu durum tüm ölümlerin fungustan kaynaklandığını ortaya koymaktadır.



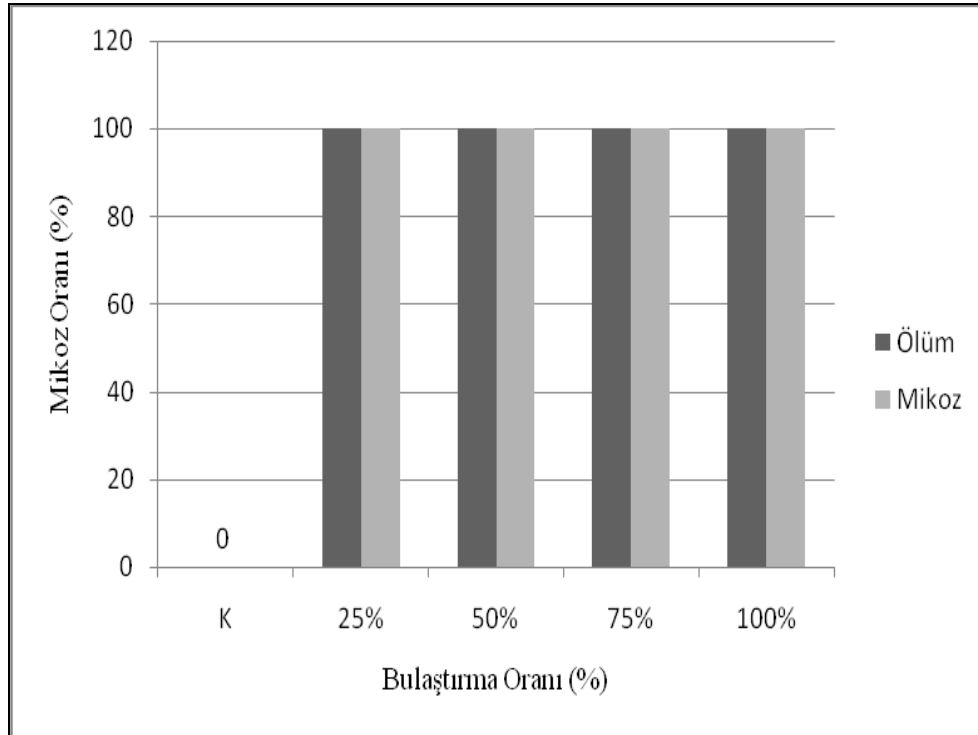
Şekil 42. Dm-5’in *Ips sexdentatus* ergin popülasyonundaki horizontal yayılımı



Şekil 43. Dm-5’in *Ips sexdentatus* erginler arasında horizontal yayılma etkinliği mikoz oranı. Sonuçlar Abbott (1925)’e göre hesaplanmıştır.



Şekil 44. Dm-5'in *Ips typographus* erginler populasyonundaki horizontal yayılımı



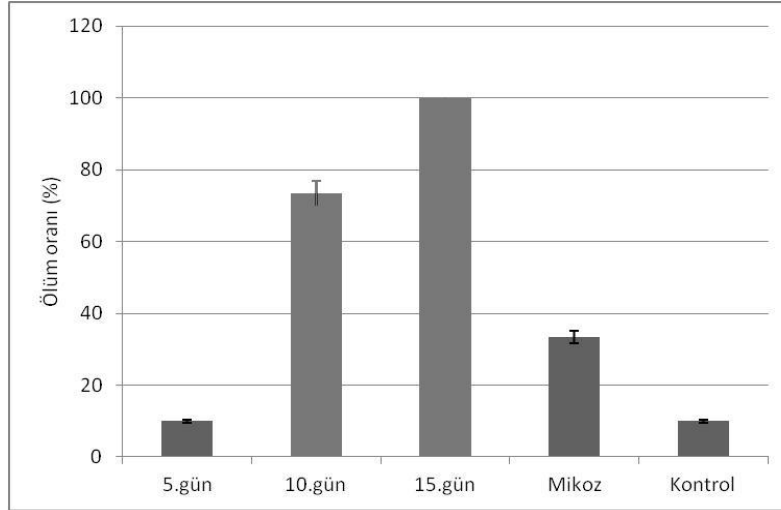
Şekil 45. Dm-5'in *Ips typographus* erginler arasında horizontal yayılma etkinliği mikoz oranı. Sonuçlar Abbott (1925)'e göre hesaplanmıştır.

3.6. Dm-5'in *Rhizophagus grandis* Üzerindeki Etkileri

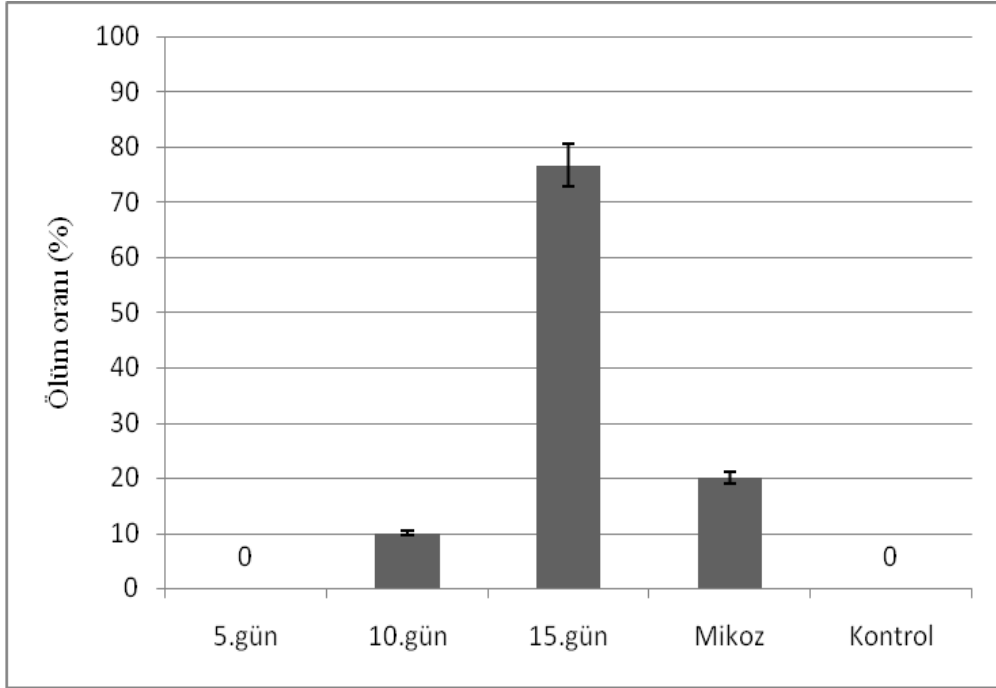
3.6.1. Direk Etkileri

Dm-5'in *R. grandis* larva ve erginleri üzerindeki etkisini belirlemek için tek doz (1×10^6 spor/ml spor süspansiyonu) uygulama yapıldı. Uygulamada kullanılan larvalarda enfeksiyondan 5 gün sonra % 10, 10 gün sonra % 73,33 ve 15 gün sonra % 100 ölüm gözlemlendi. Buna ek olarak kontrol grubunda % 10 ölüm tespit edildi. Uygulamam sonunda ölü böceklerin fungustan olup olmadıklarını anlamak için yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra nemli bir filtre kağıdı üzerinde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucu ölü böceklerden sadece % 33,33'ü funguslandı (Şekil 46). Ergin böceklerde yapılan biyotest çalışmasında ise erginlerde larvalara kıyasla daha az bir ölüm oranı gözlemlendi. Bu çalışmada sonucunda, 5. günde hiçbir ölüm gözlenmeyen ergin böceklerde 10. gün % 10 ve 15. günde % 76,66 ölüm oranı gözlemlendi (Şekil 47).

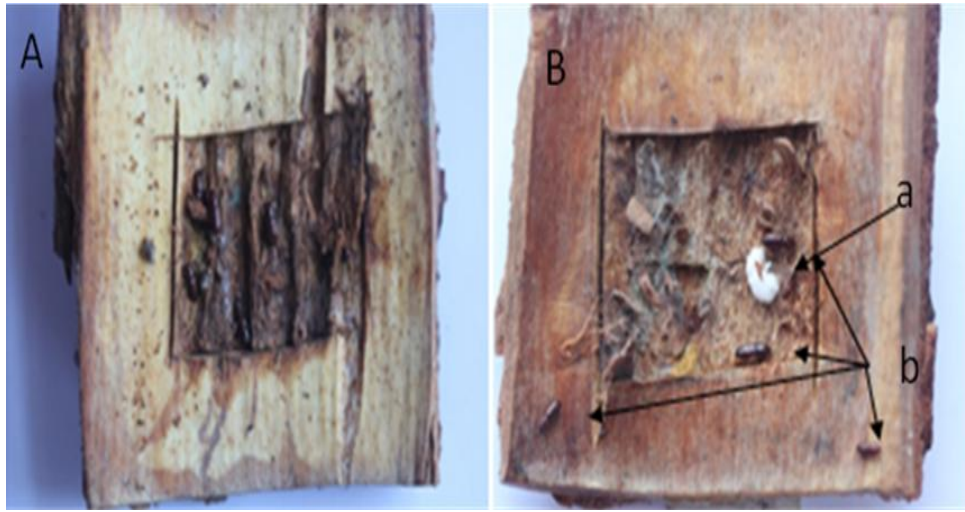
Ayrıca, çalışma esnasında *R. grandis*'in beslenmesinde kullanılan ve herhangi bir fungus bulaştırmasının yapılmadığı *D. micans* larvalarında ölüm ve mikozlanma tespit edildi. Bu ölüm ve mikozlanma Şekil 48'de görülmektedir.



Şekil 46. Dm-5'in *Rhizophagus grandis* larvalar üzerindeki direk etkisi. Sonuçlar Abbott (1925)'e göre hesaplanmıştır



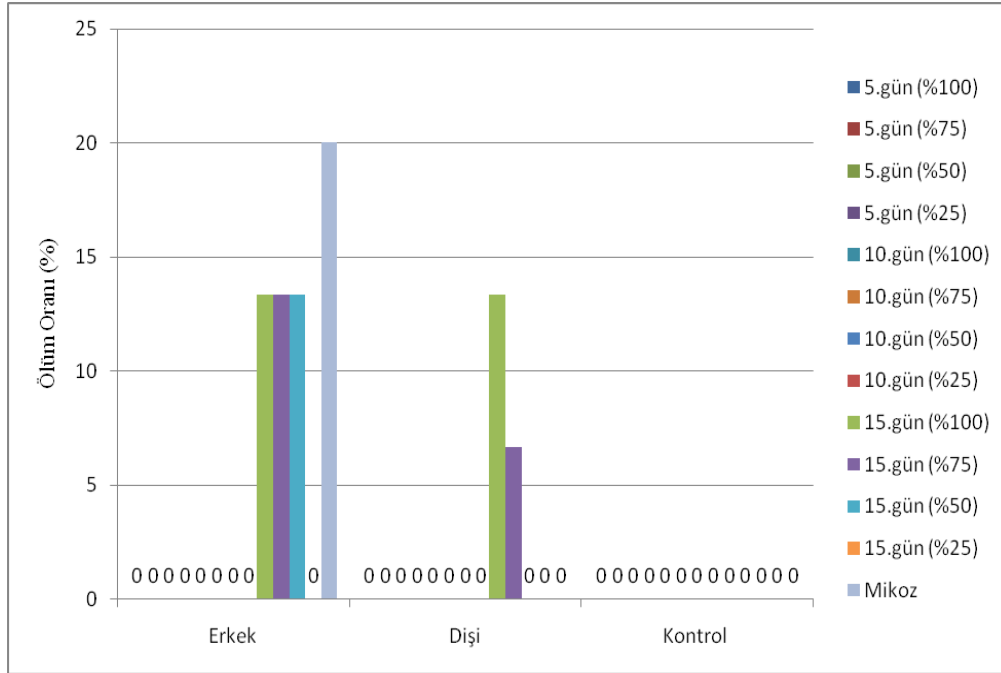
Şekil 47. Dm-5'in *Rhizophagus grandis* erginler üzerindeki direk etkisi % oranları.



Şekil 48. Dm-5'in *Rhizophagus grandis* erginleri üzerindeki direk etkisi A) Enfeksiyondan 5 gün sonra *R. grandis* B) Enfeksiyon aşamasında bulaştırma yapılmamış *D. micans* larvalarında mikozlanma gözlemlenmesi a) *R. grandis* ergilerini beslemek için fungus ile muamele edilmemiş larva b) Fungus ile muamele edilmiş *R. grandis* erginleri

3.6.2. Dolaylı Etkileri

Yapılan bu çalışmada, *R. grandis* anaç erginlerinin beslenmesi sürecinde enfekte *D. micans* larvaları kullanılarak yapılan bu deneyde 2.6. kullanılan yüzde oranlarına göre enfekte edilmiş 12 adet *D. micans* larvası kabuk arasında besleme yöntemi kullanılarak, her kutuya bir erkek bir dişi olmak üzere birer çift *R. grandis* ergini yerleştirildi. 15 günlük beslenme süresinden sonra *R. grandis*'ler incelendi. İnceleme sonucunda *R. grandis*'in dişilerin erkeklere oranla daha dayanıklı olduğu gözlemlendi. Bu çalışma sonucunda, % 25 bulaştırma oranında dişi ve erkekler de 5., 10. ve 15. günde herhangi bir ölüm gözlenmedi. Yarı yarıya bulaştırmanın olduğu uygulamada 10. güne kadar herhangi bir ölüm gözlenmezken 15. günde erkeklerde % 13,66 oranında ölüm gözlendi. Bulaştırmanın % 75 oranında yapıldığı uygulamada 10. güne kadar ölüm gözlenmezken 15. günde dişilerde % 6,66 erkeklerde % 13,66 oranında ölüm tespit edildi. Tüm böceklerin enfekte edildiği çalışmada 10. güne kadar böceklerde herhangi bir ölüm gözlenmezken, 15. günde dişi ve erkeklerde % 13,66 oranında ölüm gözlendi (Şekil 49). Ölen böceklerin ölüm nedenin fungustan kaynaklanıp kaynaklanmadığını belirlemek için dişilerde herhangi bir mikozlanma olmadığı erkeklerin ise % 20 oranında mikozlandığı belirlendi (Şekil 50).



Şekil 49. Dm-5'in *Rhizophagus grandis* erginler üzerindeki dolaylı etkisi



Şekil 50. Dm-5'in dolaylı etkisinde fungustan ölen erginlerin mikozları

4. TARTIŞMA

Ormanlar, sağladıkları yararlar açısından doğal kaynakların en önemlilerinden olup, işlevlerinin sürekliliği, bunların en iyi şekilde korunmalarına bağlıdır. Canlı ve cansız birçok etken ormanların varlığını tehdit etmektedir. Hiç kuşkusuz zararlı böcekler bunların en önemlilerinden biridir.

Dendroctonus micans ülkemiz ladin ormanlarında çok ciddi zararlara yol açmaktadır. Bu böcek ile mücadelede mekanik ve kimyasal yöntemler uygulanmış, fakat bunlardan kayda değer olumlu sonuçlar elde edilememiştir (Alkan, 1992). Zararlıyla 1966-1970 yılları arasında yapılan mücadele, kesilen ağaçların kabuklarının soyularak yakılması şeklinde olmuştur. Bu mücadele yöntemiyle yeterince başarı sağlanamayınca, 1970 yılında böcekli ağaçların gövdelerinin kimyasal maddelerle ilaçlanması şeklindeki kimyasal mücadele çalışmaları başlatılmış ancak, bu uygulamada da herhangi bir başarı sağlanamamıştır. Ayrıca, tamamen kimyasal kökenli ilaçların doğaya verilmesi şeklinde olan bu mücadele yöntemi, hem çok pahalı olmuş hem de ormanlara verilen kimyasallar bu zararlının mücadelesi için yeterince uygun olmadığı gibi pek çok yararlı böcek ve diğer canlıları (parazitoid ve predatör böcekleri, bal arılarını ve kuşları) da öldürmüş ve büyük bir çevre kirliliğine yol açmıştır. Zararlının ladin ormanlarında direk olarak yaptığı etkiden başka, zayıf düşen ağaçlar, sekonder zararlı diğer kabuk böceklerinin bu ağaçlara saldırmasına da neden olmaktadır. Kabuk böceklerinin sebep olduğu zararlar nedeniyle her yıl on binlerce metreküp ağaç kurumaktadır. Kuruyan ağaçlar, grup ve kümeler halinde kesildiği için ormanlarda büyük açıklıklar meydana gelmektedir. Bu açıklıkların genişliği çoğu kez bir ağaç boyundan daha fazla olduğu için bu durum sahanın yabanlaşmasına neden olmaktadır. Yabanlaşan sahaların tekrar eski haline dönüştürülebilmesi ise diri örtü ile mücadele, toprak işleme ve fidan dikimi gibi oldukça masraflı çalışmaları gerektirmektedir. Ayrıca, böcek kurutması sonucu yapılan anormal kesimler planlı işletmeciliği amacıyla uzaklaştırmaktadır (Eroğlu, 1995). Bunun üzerine, 1984 yılında biyolojik mücadele çalışmaları başlatılmıştır ve halen bu mücadele yürütülmektedir. Bu çalışmalarda *D. micans*'ın doğal predatörü olan *R. grandis* ile yapılan biyolojik mücadele, mekanik mücadeleyle desteklenmektedir. Bu yöntem, komşu ülke Gürcistan'da 1963 yılında büyük boyutlu bir biyolojik mücadele programıyla uygulamaya konulmuştur (Khobakhidze, 1965; Kobakhidze vd., 1970). Daha sonra aynı yöntem 1983 yılında

İngiltere ve Fransa’da uygulanmıştır (Gregoire vd., 1984; Gregoire vd., 1989). Son olarak da 1984 yılında ülkemizde uygulanmaya başlanmıştır (Alkan ve Aksu, 1990; Fielding vd., 1991a; Eroğlu, 1995; Eroğlu, 1997). Bu mücadele yöntemiyle, zararlı böceğin popülasyonu geriletilmiş ve ladin alanlarındaki yayılışı yavaşlatılmıştır. Fakat *R. grandis*’in laboratuarda üretilmesi, predatörün ormandaki zararlı yuvalarına verilmesinin çok zahmetli bir çalışma olması ve büyük ölçüde insan gücü ve maliyet gerektirmesi, bu uygulamanın dezavantajlarını oluşturmaktadır. Üretim esnasında zaman zaman çeşitli sebeplerden dolayı çok sayıda *R. grandis* larva ve erginin ölümü meydana gelmekte, bu da maliyeti arttırmakta ve mücadelenin başarı şansını azaltmaktadır.

Yukarıda da bahsettiğimiz gibi *Dendroctonus micans* ile mücadelede biyolojik mücadele yöntemleri kullanılmaya başlanmıştır. Bilindiği gibi dünyada böceklerden izole edilen virüs, bakteri, fungus, nematod ve protozoonları kapsayan çeşitli preparatlar zararlıların mikrobiyal mücadelesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Boucias ve Pendland, 1998; Demirbağ vd., 2008). *Dendroctonus micans* ile mücadelede Yılmaz (2004) ve Yılmaz vd. (2006) çalışmalarında *D. micans*’ın bakteriyal florasını belirlediler. Ancak, belirlenen bakteriyal izolatların böceğe yedirilmesi bir türlü başarısız oldu. Bunun üzerine başka bir mikrobiyal mücadele yöntemi araştırılmış ve *D. micans*’ın biyolojisi ve Doğu Karadeniz Bölgesi’nin iklimsel koşulları dikkate alındığında, bu zararlıyla mücadelede en etkili mikrobiyal yöntemin entomopatojenik funguslar olduğu düşünülmüştür. Sevim vd. (2010), Doğu Karadeniz Bölgesi’nden izole edilen entomopatojenik fungusların *D. micans*’a karşı iyi bir biyolojik mücadele etmeni olabileceğini gösterdi.

Bu olumsuzluğu gidermek ve zararlıyla mücadelede daha etkili bir yöntem ve etmen geliştirmek amacıyla Tanyeli ve arkadaşları (2010) tarafından başlatılan *D. micans*’a karşı etkili bir fungal etmen tespit etmek amacıyla; zararlının larva ve ergin evrelerinden dört cinse ait 12 suş elde edildi. Bu dört cinsten biri olan *Beauveria bassiana* Sensu Lato (ARSEF 9271) 1×10^6 konidia mL⁻¹ yoğunlukta hem larva hem de erginlere uygulandı. Dm-5 (ARSEF 9271), 12 izolat arasından zararlı üzerinde virülansı en yüksek izolat olarak belirlendi. Bu doğrultuda, bu tez kapsamında *B. bassiana* olduğu bilinen Dm-5 izolatının zararlı üzerinde ve sekonder zararlıları üzerinde mikrobiyal mücadele potansiyeli araştırmalarına başlandı.

B. bassiana iyi bilinen bir böcek patojenidir ve mikrobiyal mücadele etmeni olarak dünya çapında birçok böcek türünde hastalık ve ölümler gerçekleştirir (Lacey vd., 2001;

Goettel vd., 2005; Zimmermann, 2007). *B. bassiana*'nın pek çok kabuk böceğini enfekte edebildiği ve çeşitli orman zararlılarının (özellikle ladin kabuk böcekleri) mücadelesinde iyi bir potansiyele sahip olduğu bilinmektedir (Jankevica, 2004; Kreutz vd., 2004; Draganova, 2006; Batta, 2007). Aynı zamanda *B. bassiana*'nın, bir başka önemli ladin zararlısı olan *Ips typographus* L.'un kontrolünde de iyi bir potansiyele sahip olduğu ispatlandı (Kreutz vd., 2004).

Tanyeli ve arkadaşları (2011) tarafından PCR ile çoğaltılıp tür tayini yapılan Dm-5 izolatının tez kapsamında ITS ağacı çizildi ve filogenetik analizi sonucunda, ilişkiyi *Beauveria pseudobassiana* (ARSEF156 ve ARSEF812) türüne yakın oldukları belirlendi. *Beauveria* cinsinin son taksonomik düzenlenmesinin yer aldığı, Rehner vd. (2011)'leri tarafından yapılan çalışmadaki tüm *Beauveria* izolatları ile karşılaştırıldı. *Beauveria* cinsinin bu tez kapsamında ITS gen bölgelerinden başka *EF1- α* , *RPB1*, *RPB2*, *Bloc* gen bölgelerinin de veri analizi yapıldı. *EF1- α* bölgesine göre çizilen filogenetik ağaçta Dm-5, *B. pseudobassiana* olarak belirlenirken, *Bloc*, *RPB1* *B. Bassiana* ve *RPB2* dizilerine göre *Beauveria sp.* çizilen olarak tanımlandı.

Beauveria bassiana'nın *D. micans*'ta doğal enfeksiyon yaptığı daha önceki çalışmalardan da bilinmektedir. Ancak bunun zararlı üzerindeki insektisidal aktivitelerine yönelik bir çalışma yapılmamıştır (Fielding ve Evans, 1997). İlk olarak Sevim (2010) topraktan izole ettiği *Beauveria cf. bassiana*'nın *D. micans*'a karşı iyi bir mücadele etmeni olabileceğini belirlemiştir. Entomopatojenik fungusların *D. micans*'a karşı biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Yapılan çalışmada ise böcekten izole edilen *B. bassiana*'nın zararlı üzerindeki insektisidal aktivite denemeleri ilk kez Tanyeli (2011) çalışmayla gerçekleştirilmiştir.

Bu tez kapsamında Dm-5 (*Beauveria bassiana*, ARSEF 9271)'in farklı dozlarının (1×10^4 - 1×10^8) *Dendroctonus micans* larva ve erginler üzerinde patojenite testleri ilk kez yapıldı. Genellikle bu tarz çalışmalarda kullanılan doz aralığı konağa ve uygulama şekline göre değişmekle birlikte her 10 böcek için 1×10^4 - 1×10^8 spor/mL konsantrasyon arasında değişen miktarlar kullanılır. Bu gibi deneylerde hedef canlının üzerinde farklı dozların denenmesindeki amaç virulansta oluşabilecek küçük değişiklikleri gözlemleyebilmektir (Hicks vd., 2001; Brownbridge vd., 2001; De La Rosa vd., 2002; Klingen vd., 2002; Luz vd., 2004). Bizim çalışmamızda ergin böceklerin larvalara göre 1×10^8 spor/mL konsantrasyonda % 100 ölüm, enfeksiyondan sonraki 5. günde meydana geldiği ve ölen böceklerin % 100 mikozlanma gösterdiği belirlendi. Sevim vd. (2010)'in yaptığı çalışmada

B. cf. bassiana (KTU-53) *D. micans*'ın larva ve erginlerine karşı farklı dozların uygulanmasında ise larva ve erginler ölüm değeri 1×10^8 spor/ml spor konsantrasyonunun uygulanmasından 6. gün sonra % 100'e ulaştı. Bu bilgiler doğrultusunda *Beauveria* türlerin kendi içlerinde bile patojenitelerinin farklılık gösterdiği belirlendi.

Klingen ve arkadaşları (2002), *B. bassiana*'nın 3 farklı suşunun 1×10^7 spor/mL konsantrasyonda dozunu *Mamestra brassicae* üzerinde denemişler ve kontrol grubuna göre yüksek oranda başarılı bulmuşlardır. Trudel ve arkadaşları (2007), 6 farklı *B. bassiana* suşunun 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 ve 1×10^{10} spor/mL dozlarını *Pissodes strobi* türünde denemişler ve kontrol grubuna göre başarılı mortalite sonucu elde etmişlerdir. Bizim bulgularımız da bu araştırmacılarla paralellik göstermektedir. Bu çalışmada, *D. micans* larva ve ergin deneylerinde Dm-5 suşu ile kısa sürede en yüksek mortalite ve bu ölüm en yüksek doz (1×10^8 spor/mL) uygulaması ile elde edilmiştir. Santoro ve arkadaşları (2008), *B. bassiana*'nın çeşitli suşlarını *Alphitobius diaperinus* türü üzerinde denemişler ve yine en etkili dozun 1×10^8 kon/ml olduğunu belirtmişlerdir. Bu sonuçlar bizim bulgularımızla uyuşmaktadır. Bu çalışmada denenen daha düşük dozlarda da Dm-5 (*B. bassiana*) etkili olduğu gözlenmiştir (Şekil 18-22).

Dm-5'in *Dendroctonus micans*'ın larva ve ergin popülasyonundaki horizontal yayılımını belirlemek için ilk kez bu tez kapsamında yapılan çalışmalar sonucunda, izolat larvalar üzerinde enfeksiyondan 5 gün sonra en düşük bulaştırma oranından (%25) en yüksek orana (% 100) doğru sırasıyla % 75, 80.56, 94.44 ve 100 oranında gösterirken, erginler üzerinde enfeksiyondan aynı gün sonra % 25 bulaştırmadan % 100 orana doğru sırasıyla % 38,88, 55,55, 63,88 ve 100 ölüm oranında etkili oldu. Çalışma sonunda fungal bulaştırmanın yapıldığı oranlardan daha yüksek ölüm oranları elde edilmiş olması, fungal sporların, ortak yaşam alanlarını paylaşan larvalar arasında etkili bir şekilde horizontal olarak yayılabildiği ve enfeksiyonun larvalar arasında daha hızlı yayıldığı ortaya koyuldu. Bu da bize galeriler açıp o galerilerin içerisinde toplu halde ladin ağaçları içerisinde yaşayan ve orada zarar yapan *D. micans* larvalarının kabuk içerisine ulaşan fungus sporlarının kabuk içerisine yayılabileceğini düşüncesini doğurdu. Bu doğrultuda *D. micans*'ın kütük denemeleri ilk kez yapıldı ve bu denemelerde sırasıyla % 100, % 75, % 50, % 25 bulaştırma oranı uygulanarak kütük içerisine bırakılan böceklerde ölüm oranları % 100 , % 97,22 ,% 70,37 ve % 62,03 olarak belirlendi. Laboratuvar koşullarında gerçekleşen horizontal yayılım deneylerine paralel sonuçlar gösterdiği ve kütük içerisindeki hiçbir bulaştırma yapılmayan böceklerin fungusdan öldüğü gözlenmiş ve bu da

kütük içerisinde de horizontal yayılımın gerçekleştiğini kanıtlamıştır. Ölüm oranlarının bulaştırma oranlarından kat kat yüksek olması ileride yapılması planlanan alan uygulamalarında yüksek bir başarının yakalanacağı sinyalini vermektedir. Yapılan bir çalışmada, doğal koşullardaki düşük etkide zararlı böceklerin kabuk altında galeri içinde bulunmaları, fungusun hedef organizmaya ulaşmasındaki güçlükler ve aynı zamanda diğer abiyotik ve biyotik faktörler rol almaktadır. Bu etmenlerden *V. lecanii*'nin doğal koşullarında düşük oranda etki gösterdiği belirlenmiş olup, *B. bassiana*'nın ise doğal koşullarda daha başarılı olduğu ortaya konulmuştur (Pignal vd.,1973).

Dm-5'in *D.micans*'ın doğal predatörü olan *Rhizophagus grandis* üzerindeki direk ve dolaylı etkileride belirlendi. Direk etkilerinde, uygula sonucunda 5. günde %10, 10. günde % 73,33 ve 15. günde %100 ölüm gözlemlendi ve buna ek olarak kontrol grubunda %10 ölüm gözlemlendi. İnkübasyon sonucu ölü böceklerden sadece % 33,33'ü mikozlandı. Erginlerde, larvalara kıyasla daha az bir ölüm oranı gözlemlendi. Enfeksiyondan 5 gün sonra hiç ölüm gözlemlenmezken 10. günde % 10 ve 15. günde % 76,66 ölüm oranları elde edildi. İlk defa yapılan yapılan bu çalışma *R. grandis* üzerinde Dm-5 izolatının etkisinin az olması bu izolatın ileride kullanılabilirliği de artırmaktadır.

Rhizophagus grandis üzerindeki dolaylı etkilerine baktığımızda *R.grandis*'in dişilerin erkeklere oranla daha dayanıklı olduğu gözlemlendi. % 25 bulaştırma oranında dişi ve erkekler de 5., 10, ve 15, günde herhangi bir ölüm gözlenmedi. Böceklerin yarısına bulaştırılma yapılan deneyde dişi ve erkeklerde 5. ve 10. günde herhangi bir ölüm gözlenmezken 15. günde % 13,66 ölüm gözlemlendi. %75 bulaştırma oranında da 5. ve 10. günde ölüm gözlenmedi ancak 15. günde dişilerde % 6,66 erkeklerde %13,66 oranında ölüm gözlemlendi. % 100 bulaştırma oranında da 5. ve 10 günde böceklerde herhangi bir ölüm gözlemlenmezken 15. günde dişi ve erkeklerde % 13,66 oranında ölüm gözlemlendi. İnkübasyon sonucunda ölen böceklerden dişilerde herhangi bir funguslanma olmazken ölü erkek böceklerde % 20 ölüm oranı gözlemlendi. Yapılan bu çalışmada *R. grandis*'in beslenmesi için verilen bulaştırma yapılmamış larvalarda enfeksiyonun meydana gelmesi *R. grandis* erginlerin Dm-5 izolatından etkilenmediklerini ve bu fungusun taşınması için vektör olarak kullanılabilceğini ortaya koymaktadır.

Dm-5 (*Beauveria bassiana*, ARSEF 9271)'in farklı dozlarının *Ips sexdentatus* ve *Ips typographus* ergin üzerindeki etkileri belirlendi. *Ips sexdentatus* erginleri üzerindeki biyotest sonucunda, tüm dozlarda etkili ölümler tespit edilirken, en hızlı ölüm 1×10^8 spor/mL'lik konsantrasyon ile 5. günde sağlandı. *Ips typographus* erginleri üzerindeki biyotest

sonucunda, tüm dozlarda etkili ölümler tespit edilirken, en hızlı ölüm 1×10^8 spor/mL'lik konsantrasyon ile 7. günde sağlandı. Kreutz ve arkadaşları (2004) *Beauveria bassiana*'nın 5 farklı suşunun 3 farklı dozunu (1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6) *Ips typographus* L. üzerinde denemiş ve düşük konidiya dozlarında etkili o izolatının *Ips sexdentatus* üzerinde *Ips typographus* üzerindeki etkisinden daha fazla etki göstermiştir. Beron ve Diaz (2005)'de yapılan çalışmalarında farklı bölgelerden elde edilen izolatların değişik konaklardaki etkilerinin farklı olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca, fungusun uygulanacağı konsantrasyonun doğru saptanması kontrol ajanı olarak başarısını etkileyen önemli bir faktördür.

Dm-5'in *Ips sexdentatus* ve *Ips typographus* ergin popülasyonundaki horizontal yayılımı belirlendi. *Ips sexdentatus* enfeksiyondan 5 gün sonra en düşük bulaştırma oranından en yüksek orana doğru ölüm oranları sırasıyla % 41,66, 61,11, 77,77 ve 94,44 olarak hesaplandı. *Ips typographus*, enfeksiyondan 10 gün sonra en düşük bulaştırma oranından en yüksek orana doğru ölüm oranları sırasıyla % 66,66, 69,44, 86,11 ve 100 olarak hesaplandı. Doz denemelerine paralel olarak *Ips sexdentatus* erginleri arasında *Ips typographus* göre daha etkili bir horizontal yayılım söz konusudur. Çalışma sonunda fungal bulaştırmanın yapıldığı oranlardan daha yüksek ölüm oranları elde edilmiş olması, fungal sporların, ortak yaşam alanlarını paylaşan erginler arasında etkili bir şekilde horizontal olarak yayılabildiğini göstermektedir. Ölümlerin 10 gün gibi kısa bir sürede gerçekleşmesi yayılmanın etkinliğini göstermektedir.

Bütün bunlar göz önünde bulundurulduğunda ve *Beauveria* türlerinin omurgalıları karşı toksik ve bulaşıcı olmadığı hatta MacLeod (1979) adlı araştırmacının raporuna göre 14 kemirgen hayvanın akciğer dokusunda *B. bassiana*'ya rastlanmış ancak yapılan histolojik incelemeler sonucunda fungusun dokulara patojenik bir etkisinin olmadığı kanıtlanmıştır.

B. bassiana entomopatojenik fungusunun geniş konak dağılımına sahip olmaları, laboratuvar koşullarında üretilmeleri ve çok fazla spor üretmeleri onları zararlı böceklerle mücadelede çekici hale getirmiştir. ABD, Avrupa ve Güney Amerika'da satılan en az üç çeşit *B. bassiana* suşu vardır. *B. bassiana*'nın Rusya'da 70'den fazla mahsul üzerinde kullanıldığı rapor edilmiştir (Daecon, 2005).

Ancak, yapılan bu çalışmalar laboratuvar koşullarında sabit bir sıcaklıkta, yaklaşık % 65 nem ve karanlık ortamda tutularak yapılmıştır. Bu etmenlerin entomopatojen fungusların patojenitesi üzerinde duruma göre olumlu ya da olumsuz etkileri vardır. Çünkü patojenite, sadece entomopatojen fungusun biyokimyası, fizyolojisi ve hastalık gelişiminin

moleküler biyolojisine bağlı olmaz aynı zamanda çevreye de bağlıdır. Bu etmenler içerisinde bağlı nem, UV ışınları, sıcaklık ve besin mevcudiyeti başarılı bir mikoinsektisidin performansını etkiler (Chelico vd., 2006). Birçok araştırmacı UV ışınlarının entomopatojen fungusların konidiyalarını inaktif hale getirdiğini belirtmiştir (Chelico vd., 2006; Fernandes vd., 2007). Daha sonraki çalışmalarda, çevresel koşulların ve böcek davranışlarının, Dm-5 (*B. bassiana*) izolatının patojeniteleri üzerinde nasıl bir etki yarattığına bakılması amaçlanmaktadır. Ayrıca, bu suşun kabuk zararlıları dışında farklı zararlı böcekler üzerindeki etkilerinin incelenmesinin sonraki biyolojik mücadele çalışmaları için faydalı veriler oluşturabileceği düşünülmektedir.

5. SONUÇLAR

1. Tanyeli ve ark. (2010) ve Tanyeli (2011) tarafından morfolojik tür tayini yapılan Dm-5 izolatının tez kapsamında ITS ağacı çizildi ve filogenetik analizi sonucunda, bu izolatın en yakın ilişkiyi *Beauveria cf. bassiana* (ARSEF156 ve ARSEF812) türü ile gösterdi.
2. Son yıllarda yeni taksonomik revizyonları yapılan *Beauveria* cinsinin bu tez kapsamında ITS gen bölgelerinden başka *EF1- α* , *RPB1*, *RPB2*, *Bloc* gen bölgelerinin de veri analizi yapıldı.
3. *EF1- α* bölgesine göre çizilen filogenetik ağaçta Dm-5, *B. pseudobassiana* olarak belirlenirken *Bloc*, *RPB1*, *RPB2* dizilerine göre çizilen filogenetik ağaçta morfolojik olarak tanımlandı.
4. Dm-5 (*Beauveria bassiana*, ARSEF 9271)'in farklı dozlarının *Dendroctonus micans* larva ve erginler üzerinde patojenite testleri yapıldı. Larvalarda, en hızlı ölüm 1×10^8 spor/mL'lik konsantrasyon ile % 100 olarak belirlendi ve ölüm sonrası böceklerin % 100 mikozlandı. Erginlerde, larvalar üzerindeki öldürücü etkiye paralel olarak tüm dozlarda % 100 ölüm sağlandığı görüldü. 1×10^8 spor/mL konsantrasyonda % 100 ölüm enfeksiyondan sonraki 5. günde meydana geldiği ve ölen böceklerin % 100 mikozlanma gösterdiği belirlendi.
5. Dm-5'in *Dendroctonus micans*'ın larva ve ergin popülasyonundaki horizontal yayılımı belirlendi. Larvalar, enfeksiyondan 5 gün sonra en düşük bulaştırma oranından (% 25) en yüksek orana (% 100) doğru ölüm oranları sırasıyla % 75, 80.56, 94.44 ve 100 olarak hesaplandı. Erginlerde, enfeksiyondan 5 gün sonra % 25 bulaştırma oranından % 100 orana doğru ölüm oranları sırasıyla % 38,88, 55,55, 63,88 ve 100 olarak hesaplandı. Çalışma sonunda fungal bulaştırmanın yapıldığı oranlardan daha yüksek ölüm oranları elde edilmiş olması, fungal sporların, ortak yaşam alanlarını paylaşan larvalar arasında etkili bir şekilde horizontal olarak yayılabildiğini göstermektedir.
6. *D. micans*'ın kütük denemeleri yapıldı ve bu denemelerde sırasıyla % 100, % 75, % 50, % 25 ölüm oranları % 100, % 97,22, % 70,37, % 62,03 olarak belirlendi.
7. Dm-5'in *Rhizophagus grandis* üzerindeki direk ve dolaylı etkileri belirlendi. Direk etkileri, uygulama sonucunda 5. günde % 10, 10. günde % 73,33 ve 15. günde %

- 100 ölüm gözlemlendi ve buna ek olarak kontrol grubunda % 10 ölüm gözlemlendi. İnkübasyon sonucu ölü böceklerden sadece % 33,33 'ü mikozlandı. Erginlerde, larvalara kıyasla daha az bir ölüm oranı gözlemlendi. Enfeksiyondan sonra 5.günde hiç ölüm gözlemlenmezken 10. gün % 10 ve 15. günde % 76,66 ölüm oranı gözlemlendi.
8. İnceleme sonucunda *R.grandis*'in dişilerinin erkeklerle oranla daha dayanıklı olduğu gözlemlendi. En düşük bulaştırma oranında (%25) dişi ve erkeklerde 5., 10., ve 15., günde herhangi bir ölüm gözlenmedi. % 50 bulaştırma oranında dişi ve erkeklerde 5. ve 10. günde herhangi bir ölüm gözlenmezken 15. günde dişilerde herhangi bir ölüm gözlenmezken erkeklerde % 13,66 ölüm gözlemlendi.% 75 bulaştırma oranında da 5. ve 10. günde ölüm gözlenmedi ancak 15. günde dişilerde % 6,66 erkeklerde % 13,66 oranında ölüm gözlemlendi. % 100 bulaştırma oranında da 5. ve 10 günde böceklerde herhangi bir ölüm gözlemlenmezken 15. günde dişi ve erkeklerde % 13,66 oranında ölüm gözlemlendi. İnkübasyon sonucunda ölen böceklerden dişilerde herhangi bir funguslanma olmazken ölü erkek böceklerde % 20 ölüm oranı gözlemlendi
9. Dm-5'in farklı dozlarının *Ips sexdentatus* ve *Ips typographus* ergin üzerindeki etkileri belirlendi. *Ips sexdentatus* erginleri üzerindeki biotest sonucunda, tüm dozlarda etkili ölümler tespit edilirken, en hızlı ölüm 1×10^8 spor/mL'lik konsantrasyon ile 5. günde sağlandı. *Ips typographus* erginleri üzerindeki biotest sonucunda, tüm dozlarda etkili ölümler tespit edilirken, en hızlı ölüm 1×10^8 spor/mL'lik konsantrasyon ile 7. günde sağlandı.
10. Dm-5'in *Ips sexdentatus* ve *Ips typographus* ergin popülasyonundaki horizontal yayılımı belirlendi. *Ips sexdentatus* Enfeksiyondan 5 gün sonra en düşük bulaştırma oranından en yüksek orana doğru ölüm oranları sırasıyla %41,66, 61,11, 77,77 ve 94,44 olarak hesaplandı. *Ips typographus*, enfeksiyondan 10 gün sonra en düşük bulaştırma oranından en yüksek orana doğru ölüm oranları sırasıyla % 66,66, 69,44, 86,11 ve 100 olarak hesaplandı.

6. ÖNERİLER

Bu tez ile *Dendroctonus micans*'a karşı en etkili öldürücü etkiye sahip olan fungus belirlenmiştir. Çalışmanın yaygın etkisini arttırmak için aşağıdaki hususlar dikkate alınabilir.

1. Dm-5'in kitle üretimlerinin yapılması, böceğin doğal ortamında alan uygulamalarının yapılması ve ticari preparat haline getirilmesi planlanabilir. Böylece ülke ekonomisine önemli ölçüde katkıda bulunulacaktır.
2. Dm-5'in, *R. grandis*'i kullanarak *D. micans* galerilerinde yayılıp yapılmadığını belirleyen deneyler yapılabilir.
3. Bu çalışma, bu alanda yapılan bir temel araştırma olması nedeniyle konu üzerinde çalışacak diğer araştırmacılara örnek bir çalışma olacaktır.

7. KAYNAKLAR

- Abbott, W., S., 1925. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide, J. Econ. Entomol., 18, 265-267.
- Acatay, A., 1968. A New Pest of Spruce Trees in Turkey, *Dendroctonus micans* Kug, İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi, 18, 18-36.
- Alkan-Akıncı, H., 2006, Dogu Ladini Ormanlarında *Dendroctonus micans* (Kugelann)'ın Populasyon Dinamiğine Etki Eden Etmenler ve *Ips typographus* (Linnaeus) ile Diğer Kabuk Böceği Türleri (Coleoptera, Scolytidae)'nin Populasyon Düzeyleri ve Etkileşimleri, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Alkan, Ş., 1985. Şavşat İşletmesi Ormanlarında *Dendroctonus micans* Kug. (Dev soymuk böceği). Orman Mühendisliği Dergisi, 1, 59-62.
- Alkan, Ş. ve Aksu, Y., 1990. *Rhizophagus grandis* Gyll.'in Üretilmesinde Yeni Bir Metodun Uygulanması Üzerine Araştırmalar, Türkiye II. Biyolojik Mücadele Kongresi, Eylül, Ankara, Bildiriler Kitabı: 173-179.
- Alkan, Ş., 2000, Ladin Ormanlarına Zarar Veren *Dendroctonus micans* ve *Ips typographus* Zararlılarına Karşı Sürdürülen Mücadele Uygulamaları, Eğitim Semineri, 22- 26 Mayıs, İstanbul, 10-18.
- Batta, Y., A., 2007. Biocontrol of Almond Bark Beetle (*Scolytus amygdali* Geurin-Meneville, Coleoptera: Scolytidae) using *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes), J. Appl. Microbiol., 103, 1406-1414.
- Beron, C.M., and Diaz, B.M., 2005, Pathogenicity of hyphomycetous fungi against *Cyclocephala signaticollis*, BioControl, 50, 143-150.
- Bevan, D., 1987. Forest Insects. A Guide to Insects Feeding on Trees in Britain. Forestry Commission, Handbook No. 1. HMSO, London, UK.
- Bischoff, J.F., Rehner, S.A. ve Humber, R.A. (2009), A Multilocus Phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* Lineage, Mycologia, 101, 4 512-530
- Boucias, D.G. ve Pendland, J.C., 1998. Principles of Insect Pathology. Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Brichet, O. ve Severin, G., 1903. Le *Dendroctonus micans*. Dégats, Mayens Préventifs et Destructifs, Bulletin de la Société Centrale Forestière de Belgique 10, 244-261.
- Brownbridge, M., Costa, S. ve Jaronski, S.T., 2001, Effects of *in Vitro* Passage of *Beauveria bassiana* on Virulence to *Bemisia argentifolii*, Journal of Invertebrate Pathology, 77, 280-283

- Brown, J.M.B. ve Bevan, D., 1966. The great spruce bark beetle *Dendroctonus micans* innorth west Europe. Forestry Commission Bulletin No. 38, London, Her Majesty's Stationery Office, 41 pp.
- Butt, T.M., Jackson, C.W. ve Magan, N., 2001. Fungi as Biocontrol Agents. CABI Publishing, Wallingford.
- Castrillo, L., A., Roberts. D., W. ve Vandenberg, J., D., 2005. The Fungal Past, Present, and Future: Germination, Ramification, and Reproduction, J. Invertebr. Pathol., 89, 46-56.
- Chelico, L., Haughian, J.L., and Khachatourians, G.G., 2006, Nucleotide excision repair and photoreactivation in the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Beauveria nivea*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus* and *Verticillium lecanii*, J. of Appl. Microbiol., 100, 964-972.
- Christiansen, E. ve Bakke, A., 1997. Does drought enhance *Ips typographus* epidemics? – A Scandinavian perspective. Proceedings: Integrating cultural tactics into the management of bark beetle and reforestation pests, USDA Forest Service General Technical Report NE 236, 163–171.
- Clarkson, J., M. ve Chamley, A., K., 1996. New Insights into the Mechanisms of Fungal Pathogenesis in Insects, Trends Microbiol., 4, 5.
- Daecon, J.W. 1983. Microbial Control of Pest and Diseases. Van Nostrand, New York, s. 43.
- De La Rosa, W., Lopez F.L. and Liedo, P., 2002, *Beauveria bassiana* as a pathogen of the mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions, J. Econ. Entomol., 95, 1, 36-43.
- Demirbağ, Z., Nalçacıoğlu, R., Katı, H., Demir, İ., Sezen, K. ve Ertürk, Ö. 2008. Entomopatojenler ve Mikrobiyal Mücadele. Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon.
- Draganova, S., Takov, D. ve Doychev, D., 2006. Bioassay with Isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Paecilomyces farinosus* (Holm.) Brown & Smith against *Ips sexdentatus* Boerner and *Ips acuminatus* Gyll. (Coleoptera: Scolytidae), Plant Sci., 44, 24-28.
- Driesche, R. G. and Bellows, T. S., 1996. Biological Control. Chapman & Hall, 521 pp.
- Eilenberg, J., Hajek, A. ve Lomer, C., 2001. Suggestions for Unifying the Terminology in Biological Control, Biocontrol, 46, 387-400.
- Eroğlu, M., 1995. *Dendroctonus micans* (Kug.) (Coleoptera, Scolytidae)'ın Populasyon Dinamiğine Etki Eden Faktörler Üzerine Araştırmalar, I. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi, Ekim, Trabzon, Bildiriler Kitabı: 148–159.

- Eroğlu, M., 1997. Interactions between *Rhizophagus grandis* Gyll. (Coleoptera, Rhizophagidae) and *Dendroctonus micans* (Kug.) (Coleoptera, Scolytidae), pp. 195. XI World Forestry Congress Ekim, Antalya, I, 240.
- Eroğlu, M., Aklan-Akinci, H. ve Keskin, S., 2010. Ladin ormanlarımızda *Dendroctonus micans* (Kugelann)'in biyolojik mücadelesinde doğal denge. *Tabiat ve İnsan*, 44, 11-18.
- Fernandes, E.K.K., Rangel, D.E.N., Moraes, A.M.L., Bittencourt, V.R.E.P. ve Roberts, D.W., 2007, Variability in tolerance to UV-B radiation among *Beauveria spp.* isolates, *Journal of Invertebrate Pathology* 96, 237-243.
- Ferron P., 1978. Biological Control of Insects by Entomogenous Fungi, *Annu. Rev. Entomol.*, 23, 409-42.
- Fielding, N. J., Evans, H. F., Williams, J. M. ve Evans, B., 1991. The distribution and spread of the great European spruce bark beetle, *Dendroctonus micans*, in Britain – 1982 to 1989. *Forestry*, 64, 345-358.
- Fielding, N.J. ve Evans, H.F. 1997. 'Biological Control of *Dendroctonus micans* (Scolytidae) in Great European Britain', *Biocontrol News and Information*, 18, 51-60.
- Fuxa, J., R., 1987. Ecological Considerations for the Use of Entomopathogens in IPM, *Annu. Rev. Entomol.*, 32, 225-51.
- Gilbert, M., Fielding, N., Evans, H.F. ve Grégoire, J.C., 2003. Spatial pattern of invading *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae) populations in the United Kingdom, *Can. J. For. Res.* 33, 712–725.
- Grégoire, J.C., Breakman, J. C.ve Tondeur, A., 1982. Chemical Communication Between the Larvae of *Dendroctonus micans* Kug. (Coleoptera: Scolytidae) In *Colloques de l'INRA*, 7. Les médiateurs Chimiques, 253- 257.
- Grégoire, J.C., 1988. Greater European Spruce Beetle. *Dendroctonus micans*. In: *Dynamics of Forest Insect Populations: Pattern, Causes, Implications*. Plenum Press, New York, 455–478.
- Grégoire, J.C., Baisier, M., Merlin, J. ve Naccache, Y., 1989. Interactions Between *Rhizophagus grandis* (Coleoptera: Rhizophagidae) and *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae) in the Field and the Laboratory: Their application for the Biological Control of *Dendroctonus micans* France. In *Potential for Biological Control of Dendroctonus and Ips Bark Beetles*. Stephen F. Austin University, Nagocdoches. Texas, 95- 107.
- Grégoire, J.C., Merlin, J., Pasteels, J. M., Jaffuel R., Vouland, G, ve Schvester, D., 1984. Mass Rearings and Releases of *Rhizophagus grandis* in Lozere. *Proceedings of the EEC Seminar Biological Control of Bark Beetles (Dendroctonus micans)*. 3–4 October 1984, Brussels, Belgium, 122–128.

- Goettel, M., S., Eilenberg, J. ve Glare, T., 2005. Entomopathogenic Fungi and Their Role in Regulation of Insect Populations. In: *Comprehensive Molecular Insect Science*, Gilbert, L., I., Iatrou, K. ve Gill, S., S. (Ed.), Amsterdam, 361-405.
- Hajek, A., E. ve St Leger, R., J., 1994. Interactions Between Fungal Pathogens and Insect Hosts, *Annu. Rev. Entomol.*, 39, 293-322.
- Hasanekoğlu, İ., 1991. Toprak Mikrofungusları. Atatürk Üniv. Yayınları, No, 689, Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Yayınları No: 11, 2, 278 s.
- Hicks, Barry J., Watt, Allan D. ve Cosens, D., 2001, The potential of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) as a biological control agent against to pine beauty moth, *Panolis flammea* (Lepidoptera: Noctuidae). *Forest Ecology and Management* 149, 275-281.
- Humber, R., A., 2008. Evaluation of Entomopathogenity in Fungi, *J. Invertebr. Pathol.*, 98, 262-266.
- Jankevica, L., 2004. Ecological Associations between Entomopathogenic Fungi and Pest Insects Recorded in Litvania, *Latv. Entomol.*, 41, 60-65.
- Keskinalemdar, E., 1986. S.S.C.B. Gürcistan Cumhuriyeti Ormanlarında *Dendroctonus micans* ve Buna Karşı Yapılan Biyolojik Mücadele Usulleri, Urla Seminer Notu, İzmir.
- Khobakhidze, D. N., 1965. Some results and prospects of the utilization of beneficial entomophagous insects in the control of insects pest in Georgian SSR (USSR). *Entomophaga*, 10, 4, 323-330.
- Khobakhidze, D.N., Tvaradze, M.S. ve Kraveishvili, I.K., 1970. Preliminary Results of Introduction, Study of Bioecology, Development of Methods of Artificial Rearing and Naturalization of the Effective Entomophage, *Rhizophagus grandis* NGyll., Against the European Spruce Beetle, *Dendroctonus micans* Kug., in Spruce Plantations in Georgia, Soobshcheniya Akedemii Nauk Gruzinskoi SSR, *Bulletin of the Academy of Science of the Georgian SSR*, 60, 205-208.
- King, C. J. ve Fielding, N.J., 1989. *Dendroctonus micans* in Britain –its biology and Control. Foretry Commission Bulletin No. 85. London; Her Majesty's Stationery Office, 11 pp.
- King, C. J., N. J. Fielding ve T. O'Keefe, 1991. Observations on the life cycle and behavior of the predatory beetle, *Rhizophagus grandis* Gyll. (Col: Rhizophagidae) in Britain. *Journal of Applied Entomology*, 111, 286-296.
- Klingen, I., Eilenberg, J. ve Meadow, R., 2002. Impact of Farming Systems, Field Margins and Bait Insect on the Findings of Insect Pathogenic Fungi in Soil, *Agric. Ecosys. Environ.*, 91, 191-198.

- Konukçu, M., 2001. Ormanlar ve Ormancılığımız, D.P.T., Yayın No: 2630, Ankara.
- Kreutz, J., Vaupel, O. ve Zimmermann, G., 2004. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the Spruce Bark Beetle, *Ips typographus* L., in the Laboratory under Various Conditions, J. Appl. Entomol., 128, 384-389.
- Lacey, L., A. ve Goettel, M., S., 1995. Current Developments in Microbial Control of Insect Pests And Prospects for The Early 21st Century, Entomophaga, 40, 3-27.
- Lacey, L.A., Frutos, R., Kaya, H.K. ve Vail, P. 2001. Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future?, Biological Control, 21, 230-248.
- Lempérière, G., 1994. Ecology of the Great European Spruce Bark Beetle *Dendroctonus micans* (Kug.), Ecologie, 25, 31-38.
- Luz, C., Rocha, L.F.N. ve Nery G.V., 2004, Detection of Entomopathogenic Fungi in Peridomestic Triatomine-Infested Areas in Central Brazil and Fungal Activity Against *Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera: Reduviidae), Neotropical Entomology, 33, 6, 783-791.
- Macleod , D.M., Tyrrell , D. 1979. *Entomophthora crustosa* n. sp. as a pathogen of the forest tent caterpillar, *Malacosoma disstria* (Lepidoptera: Lasiocampidae). Canadian Entomologist, 111, 1137-1144.
- Meyling, N., V. ve Eilenberg, J., 2007. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control, Biol. Cont., 43, 145-155.
- Özcan, G.E., Eroğlu, M. ve Alkan-Akinci, H. 2006. Pest status of *Dendroctonus micans* (Kugelann) (Coleoptera, Scolytidae) and the effect of *Rhizophagus grandis* (Gyllenhal) (Coleoptera, Rhizophagidae) on the population of *Dendroctonus micans* in The Oriental Spruce Forests of Turkey. Turkish Journal of Entomology, 30, 1, 1-12.
- Pignal, M. C., 1973. Some yeasts (Fungi) isolated from *Scolytus rugulosus* Mul. In the Lyon (France) area. Ann. Zool. Ecol. Anim., 5 ,3, 325-333
- Rehner, S.A., Minnis, A.M., Sung, G-H., Luangsa-ard, J.J., Devotto, L. ve Humber, R.A., 2011. Phylogeny and Systematics of the Anamorphic, Entomopathogenic Genus *Beauveria*, Mycologia, 103,5, 1055-1073.
- Roberts, D., W., 1989. Word Picture of Biological Control of Insects by Fungi, Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 84, 89-100.
- Rombach, M. C. and Gilespe, A. T., 1988. Entomogenous *Hyphomycetes* for Insect and Mite Control on Greenhouse Crops. Biocontrol News and Information, 9, 7- 18.

- Roy, H., E., Steinkraus, D., C., Eilenberg, J., Hajek, A., E. ve Pell, J., K., 2006. Bizarre Interactions and Endgames: Entomopathogenic Fungi and Their Arthropod Hosts, Annu. Rev. Entomol., 51, 331-57.
- Quesada-Moraga, E. ve Vey, A., 2003. Intra-specific Variation in Virulence and In Vitro Production of Macromolecular Toxins Active Against Locust among *Beauveria bassiana* Strains and Effects of In Vivo and In Vitro Passage on These Factors, Biocont. Sci. Technol., 13, 323-340.
- Samson, R. A., Evans, H.C. and Latge, J.D., 1988, Atlas of entomopathogenic fungi. Springer Verlag, Berlin. 187.
- Santaro, P.H., Neves, P.M.O.J., Alexandre, P.M., Sartori, D., Alves, L.F.A. ve Fungaro, M.H.P., 2008, Selection of *Beauveria bassiana* isolates to control *Alphitobius diaperinus*, Journal of Invertebrate Pathology, 97, 83- 90.
- Selmi,E., 1998. Türkiye Kabuk Böcekleri ve Savaşı. İ.Ü.Yayın No. 4042, İ.Ü.Fen Bilimleri Enstitüsü Yayın No. 11, İstanbul, 196 s.
- Selmi,E., Scolytidae of Turkey. <http://www.orman.istanbul.edu.tr/node/10552>, 21/05/2012
- Serez, M., 1979. Türkiye 'de *Dendroctonus micans* (Kugelann) Üzerinde Araştırmalar. KTÜ Orman Fakültesi Dergisi 2, 1, 106-134.
- Serez, M, Böcekler Bildiğiniz Gibi Değil. <http://www.evrensel.net/03/01/28/toplum.html#2>, 28 Ocak 2003.
- Sevim, A., Demir, I., Tanyeli, E. ve Demirbag, Z., 2010. Screening of Entomopathogenic Fungi against the European Spruce Bark Beetle, *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae), Biocont. Sci. Technol., 20, 3-11.
- Sevim, A., 2010. Doğu Karadeniz Bölgesi'nden Entomopatojenik Funfusların İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Virülanslarının Belirlenmesi, Doktora Tezi, KTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Shah, P., A. ve Pell, J., K., 2003. Entomopathogenic Fungi as Biological Control Agents, Appl. Microbiol. Biotechnol., 61, 413-423.
- Soper, R.S., Delyzer, A.J. ve Smith, L.F.R., 1976. The genus *Massospora* entomopathogenic for cicadas. Part 2. Biology of *Massospora levispora* and its host *Okanagana rimosa* with notes on *Massospora cicadina* on the periodical cicadas. Ann. Entomol. Soc. Am. 69, 89–95.
- Strasser, H., Vey, A. ve Tariq M., B., 2000. Are There any Risks in Using Entomopathogenic Fungi for Pest Control, with Particular Reference to the Bioactive Metabolites of *Metarhizium*, *Tolypocladium* and *Beauveria* species? Biocont. Sci. Technol., 10, 717-735.

Tanyeli, E., 2011. *Dendroctonus micans*'dan Entomopatojenik Funfusların İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Mikrobiyal Mücadele Potansiyelinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, KTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

URL-1, <http://www.turkiyesel.com/orman-agaclari-ve-orman-varligimiz/16424-ormanda-zararli-bocekler.html> 5 Mart 2012

URL-2, web.ogm.gov.tr/.../FSCOrmanYonetimi/.../286%20Sayılı%20Tebliğ 18 Haziran 2012

URL-3, <http://www.wcrl.ars.usda.gov/cec/insects/ipst.htm> *Ips typographus* (L.), 29 Mayıs 2012

URL4, http://www.science.ulster.ac.uk/envsci/spip.php?page=article&spip.php?page=article&id_article=177&connect=esri 24 Nisan 2012

URL-5, <http://www.ecaa.ntu.edu.tw/weifang/Hort/screens/thrips.files/beauveria.jpg>

Vouland, G., Giraud, M. ve Schvester, D., 1985. La Période Teneral et l'envol Chez *Dendroctonus micans* Kug. (Coleoptera: Scolytidae). In: "Biological Control of Bark Beetles (*Dendroctonus micans*)" (Grégoire, J.-C., Pasteels, J.M., Eds), Commission of the European Communities, Brussels, Belgium 68-79.

Wan, H., 2003. Molecular Biology of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*: Insect-Cuticle Degrading Enzymes and Development of a New Selection Marker for Fungal Transformation, PhD thesis, Combined Faculties for the Natural Sciences and for Mathematics of the Ruperto-Carola University of Heidelberg, Germany.

Weseloh, R.M. ve Andreadis, T.G., 1997. Persistence of resting spores of *Entomophaga maimaiga*, a fungal pathogen of the gypsy moth, *Lymantria dispar*. J. Invertebr. Pathol. 69, 195–196.

White, T., J., Bruns, T., Lee, S. ve Taylor, J., 1990. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In: PCR protocols: a Guide to Methods and Applications, Innis, M., A., Gelfand, D., H., Sninsky, J., J., White, T., J. (Ed.), San Diego, 315–322.

Yılmaz, H., 2004. *Dendroctonus micans*'ın Bakteriyal Florası ve Mikrobiyal Mücadele Etmenlerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, KTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

Yılmaz, H., K. Sezen, H. Katı ve Z. Demirbağ, 2006. 'The first study on the bacterial flora of the European spruce bark beetle, *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae)', Biologia, 61, 6, 679-686.

Yüksel, B., 1997. Dev Soymuk Böceği (*Dendroctonus micans*)'ın Kitle Üremesi ve Doğal Dengenin Kurulmasında *Rhizophagus grandis*'in rolü. III. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, Kırşehir, Bildiriler Kitabı: 133-142.

- Zimmermann, G., 2007a. Review on Safety of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*, Biocont. Sci. Technol., 17, 553-596.
- Zimmermann, G., 2007b. Review on Safety of the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae*, Biocont. Sci. Technol., 17, 879-920.
- Zimmermann, G., 2008. The Entomopathogenic Fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* Species Complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): Biology, Ecology and Use in Biological Control, Biocont. Sci. Technol., 18, 865-901.

8. EKLER

Ek 1. Dm-5'in 18S EF1- α Gen Bölgesinin Baz Sırası

GGTTATCGGGTGCGTTTAAACGCTCAACACCTTTTGACTTTGGCGGACCAATAAT
ACTGACTCCCAGACAGCCACGTTCGATTCCGGCAAGTCTACCACTGTAAGTCTC
TTTCAACGGTCGAGTGGCTCTTAAGCTCTCGAGCCAACAATCTTACCCCGCCTC
GCCGGTGTGTCGAGCGCAAGCAGCTAACTCATATACAGACTGGTCACTTGA
TCTACCAGTGCGGTGGTATTGACAAGCGTACCATTGAGAAGTTCGAGAAGGTA
AGCATATTATCCAATTTTTCTACTGTCAAATGGACCTTGATCGCTTGCTTACA
ACTTTTCTTTCCGTCGTATCGCGCTGGCCCCAGCACTACTACCCCTCCTGGC
TGCGGCAAAAATTTTCAGAGTGCCTTATCATTTTCAGTGGGGCCAGAGAGAATA
CCCCGCCACCTTTGTCGCAAGCTTTCCCCTCATGCCTTGGGTTCGAAGCAGCAGC
AGAAGAAATATCGCGTGCACCTTGGCCAACAGATCGCTAACCTACCGTCTACAG
GAAGCCGCTGAACTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTATGCCTGGGTTCCTTGACAA
GCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATTGATATCGCTCTCTGGAAGT
TCGAGACTCCCAAGTACCAGGTCACCGTCATTGATGCTCCCGGTCACCGTGATT
TCATCAAGAACATGATTACTGGTACTTCCCAGGCCGATTGTGCTATTCTCATCA
TCGCCGCTGGTACTGGTGAGTTCGAGGCTGGTATCTCCAAGGATGGCCAGACC
CGTGAGCACGCTCTGCTCGCTTTCACCCTCGGTGTCAAGCAGCTCATCGTCGCC
ATCAACAAGATGGACACCACCAAGTGGTCCGAGGCTCGTTACCAGGAAATCAT
CAAGGAGACTTCCAACCTTCATCAAGAAGGTCGGCTACAACCCAGGCTGTTGC
CTTCGTCCCCATCTCCGGTTTCAACGGCGACAACATGCTGGAGCCCTCCACCAA
CTGCCCTTGGTACAAGGGTTGGGAGAAGGAGACCAAGGCTGGCAAGTCTACTG
GCAAGACCCTCCTCGAGGCCATCGACGCCATTGAGGCCCCCAAGCGTCCCACC
GACAAGCTCTCCGTCTCCCTCAGATCACAGCTTCCCCTTCAGGAGGCCA

Ek 2. Dm-5'in 18S RPB1 Gen Bölgesinin Baz Sırası

TTTTGGTTTTGGAGATTGTCTGCCACAACCTGCAGCAAAGTTGGCCGATGAAGTT
GGTCTTCCCTTACTCCATGAAGCTTTGGAGCTTGCTGGATGCTAACGTGCATT
ATCAGAGCGATCCCGAATTCGTACAGCTATTCATCCCGCGATCCGAACTTC
GATTC AAGCGCGTTTGGGCCGTATGCAAGAAGAAGCGCAAATGCGAGAATGA
GGAGCGGCAAGACAAGAATAAAGACGAAGAGTTCGCTCCAGGTGTCAAGAAC
GTCGTTCTCGAAGGACATGGCGGATGTGGCAATATGCAGCCGCAGGTGAGACA
GGCCGCGCTGCAACTCAAAGCTGCCTTCGAGGTTACTTCGGAAGAGGGTCCCA
AGAGGAAAGAGACGGTTATCAGCGCCGAGATAACGCATGGTATCCTTCGCCGC
ATCTCTGAGCGCGATCTGCACAACATTGGTCTTAACTCAGACTATGCTCGTCCC
CAGTGGATGATCATCACTGTCCTGCCTGTACCCCTCCTCCCGTGCGTCCTAGT
ATTTCCATGGATGGTACTGGTACTGGCACGAGAAACGAGGATGATCTGACCTA
CAAGCTTGGTGACATTATCCGCGCCAACGGTAATGTCAAGCAGGCCATTCTGTG
AAGGATCTTCTTCAACGGTAATGTCAAGCAGGCCATTCTGTGAAGGATCACCGC
AACACATCGCGCGTGATTTGAGAGCTTGCT

Ek 3. Dm-5'in 18S Bloc Gen Bölgesinin Baz Sırası

ATTGTCCAGCGGTACTCGACCACCATTCGCGGCCTGTTCTTTGGCCACACGCAC
 ATGGATCATTTCGAAGTCAGTACTCGGACTACTCGAAGCGCGACGCATCGCA
 CGCCACGGCCATGTCCTACATCTGCCAGCACTCTTGCCCACGTCTGGGGCCCG
 CTTTCCGCGTATACGACGTCGATCCCGACACCTTTGCCATTCTCGATGCCGTTA
 CCTACATTGCCGACATGACCGATCCTGAGTATCAGAAATCCGGGGCCGACATGG
 AAGAAATACTACTCCGCCAAGGAGTCTACGGCTCACTACTCTCTCCGCCATT
 GCGGCCGAGGCCGAGCTCACACCGGCTTTCTGGCACAATGTCCTTTTGCTTTTG
 AAAGCAACGCCACGCTGTTTGACGAATACGTGTCGCGCAAGAGCCGGGGGTG
 GATCAAAAAAAGTTGCCAGGGAGACTGCAAGAAGGAGGAAATCTGCCAGCTG
 CGTGCCGGTTCAGCCAGAGCAACTGCCACAAGATTAAGCCCGGTGCGACCTTT
 GTCAAAAGGGACAATGGCTTGAGCGACCGAAGCGTGCGCGTTGCGACAATTC
 AGTCATGCCCGATATGCTGCGCCTGCTCGCCTCCCGACAGGATCTGCTGGAGG
 ATCTTCAGGCGAGATTCATTGCGAGCGGCGCCCGAATCAAGCCTTGGAAGCAG
 CAAGATGTCTCTGTTGGGAAGAAGGCATCAGTTTCGCCCAACTCAACAGACAC
 TGGTGCGGAATGCGTGGAGCGCGGCTCGGCCACTTCGGGGAGTGCAAGCGGTA
 CAGCGGCCTTGCCACAGAAACCAACGCGCCAAAGTCATTGGCATTACATTG
 CAGTGTCCAACCGCACTTTCCATCGTCTTTGTACTCGCTCTCACACTAGTCCTC
 CACTGAGAGGGTAATACTCACAGGTCAAATAGTTGAAATTAAACTCACACAGA
 AAGAGAAGCTTGTATAAGTAGATGGTATCAAATGTATTTATGAAATAATTACC
 AAAGCCGGAAAACCATATTTACAAAGCCGGCGAATATAGCTGTGCACTTCCTG
 GAGCCGACCACCTCTTGAGTAGGTCTGATTAAGCCCGAGTAGCGACCCAGG
 CTTGGAGGCAAATCGCCCACCGCGGTCCCCAGTTACTCTCATTCTTCCCCAGC
 GTGAGAACGAGTTCCTTGCCCTCGGTAAAGAATGAGTGGTCAATCCAGTTCTTT
 GTGTAGGGCTTGCCGTTGAGCGTCGCGCTCTGGATATAAATATTCTTGACGCG
 GCGTCAAAGTTGACGTTGCGAATCTTGGCCGTCTTTCCGGTGACGGGGTGCTTG
 ACGGTCACGCTGGGGAAAACCCCGCGGTGATGAGGTAGACGTCTTGCCCCGG
 GTTGGGAAAGAGACCCATCATGCTGAAAGCGACAAAGGAGCCCATGGCGCCG
 CTGTCGTCGTTGCCGGGAAGGCCCGGAGGGGTGCGCTGGAAGAAGCGCGGAA
 TGTAAGAGTGGCTGCGCTTGCCC

Ek 4. Dm-5'in 18S RPB2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

AAACGCCGCGCGAGGAGTCACACCGCGCGGCTCGTACGGGCAGGAGGTGATA
 GAAGTTAATGTGATAATGAATGAGAGGTGTTTTTTTTAGAGTTATCCTCTATGG
 GTAAGCCCACCATGGGTTCTTCTGACAAATTATTCTCGTCGTATGGACACCAT
 GGCAAACATCCTGTACTACCCACAAAAGCCTTTGGCAACGACTAGATCCATGG
 AGTTCTTGAAATCCGAGAATTACCTGCAGGTCAAACGCCATCGTCGCGATC
 GCTTGTTACTCCGTTATAATCAGGAGGATTCTGTGATTATGAATCAAAGCAGT
 ATTGATCGCGGACTCTTCAGAAGTTTGTTCTTTTCGTTTCGTACTCTGATCAAGAG
 AAAAAGGTTGGTTTGAACACACAGAGATATTCGAAAAGCCGTTCCACCAAAG
 CACCCTGCGCATGAAACACGGTACTTACGACAAGCTCGATGAGGACGGTATTG
 TCGCTCCTGGCGTTCGTGTCTCCGGGGAAGACATTATCATTGGCAAAACTGCAC
 CAATCGACCCAGAGACGCAAGATTTGGGCACGCGTACAACCTGCGCATCAGCGC
 CGTGATATCTCTACGCCTCTGCGTAGTACCGAAAATGGTATTGTTGATCAAGTC

ATTGTGACTGTCAACGCCGACAACGTCAAATACGTCAAGGTCAGGGTTCGCAC
GACCAAGATACCCAGATCGGTGACAAATTTGCTTCGCGCATGGTCAAAAAGG
TACTATTGGTGTACATACCGACAGGAAGATATGCCATTCACGAGAGAGGGGG
TCACCCCGGATATCATTATCAACCCGCACGCCATTCCATCTCGAATGACAATTG
CTCATTTGATTGAATGTCTTTTGAGTAAGGTTTCGACTTTAGAAGGTATGGAAG
GCGATGCTACTCCATTTACCGACGTCCTGTCGATTCTGTCTCCGATTGCTTCG
CAAGCACGGCTATCAGTCCC GCGGGTTTGAGATCATGTACAACGGCCACACTG
GTAAAAAACTTGTGCTCAGTCTCTTGACCAACCTTACGTCTCCATTACCAGCG
TCTGCGTCACATGGTTCGAGAAACCAAGATCCAGAATACCAAAAAAATCCGAA
GCGCAGTCTAGATTCTTCGATGTACTCTCTCGTTCCTTCTTCTCCCGTCCTCTCT
CTCTTGTCTGTTGCGCTGCTCTTCCTCGGCCTCTGCGGCTTC

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Ankara'da doğdu. İlköğretimi Halil Naci Mihçiođlu İ.O ve liseyi Ankara Lisesi (Süper lise)'nde tamamladı. 2005 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Rize Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandı ve 2009 yılında mezun oldu. Aynı yıl KTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında Yüksek Lisans eğitime başladı. İyi derecede İngilizce bilmektedir.