

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KURU MEYVE GÜVESİ (*PLODIA INTERPUNCTELLA* (HÜBNER),  
LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)'NDE PATOJENİK BİR MİKROSPORİDYUM  
TÜRÜNÜN KARAKTERİZASYONU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Biyolog F. Pınar GÜNGÖR**

**HAZİRAN 2014**

**TRABZON**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KURU MEYVE GÜVESİ (*PLODIA INTERPUNCTELLA* (HÜBNER),  
LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)’NDE PATOJENİK BİR MİKROSPORİDYUM  
TÜRÜNÜN KARAKTERİZASYONU**

**Biyolog F. Pınar GÜNGÖR**

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

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 03/06/2014  
Tezin Savunma Tarihi : 19/06/2014**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Mustafa YAMAN**

**TRABZON 2014**

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Biyoloji Ana Bilim Dalında**

**F. Pınar GÜNGÖR Tarafından Hazırlanan**

**KURU MEYVE GÜVESİ (*PLODIA INTERPUNCTELLA* (HÜBNER),  
LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)'NDE PATOJENİK BİR MİKROSPORİDYUM  
TÜRÜNÜN KARAKTERİZASYONU**

**Başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 03 / 06 / 2014 gün ve 1556 sayılı  
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
olarak kabul edilmiştir.**

**Jüri Üyeleri**

**Başkan : Prof. Dr. Mustafa YAMAN .....**

**Üye : Prof. Dr. Bilal KUTRUP .....**

**Üye : Prof.Dr. Ümit ÇOBANOĞLU .....**

**Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ**

**Enstitü Müdürü**

## ÖNSÖZ

“Kuru Meyve Güvesi (*Plodia interpunctella* (Hübner), Lepidoptera: Pyralidae)’nde Patojenik Bir Mikrosporidyum Türünün Karakterizasyonu” adlı bu yüksek lisans tezi, gerek dünya gerekse ülkemizde depolanmış ürünlerde büyük zararlara neden olan Kuru Meyve Güvesi (*Plodia interpunctella* (Hübner))’nin biyolojik mücadelesinde kullanılma potansiyeline sahip yeni bir mikrosporidyum türünün karakterizasyonu üzerine önemli bilgiler sunmaktadır. Söz konusu bu yüksek lisans tez çalışmasının bu alanda çalışacak birçok bilim adamına bir örnek teşkil edeceğini ümit ediyorum.

Lisansüstü eğitimim süresince danışmanlığımı üstlenerek, gerek konu seçimi, gerekse çalışmaların yürütülmesi sırasında deneyim ve bilgilerini benimle paylaşan, yardım ve desteğini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Mustafa YAMAN’a, sonsuz şükranlarımı sunuyorum.

Tez çalışması süresince yardımlarını esirgemeyen Zooloji II laboratuvarı çalışanları ve Beyza Gonca Güner’e ve desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen tüm dostlarıma teşekkür ederim.

Tüm hayatım ve tez çalışmam süresince her türlü fedakârlıkla yanımda bulunan, başta sevgili anne ve babam olmak üzere diğer aile bireylerime sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

F. Pınar GÜNGÖR

Trabzon 2014

## TEZ BEYANNAMESİ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Kuru Meyve Güvesi (*Plodia interpunctella* (Hübner), Lepidoptera: Pyralidae)’nde Patojenik Bir Mikrosipridyum Türünün Karakterizasyonu” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Mustafa YAMAN’ın sorumluluğunda tamamladığımı, örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, 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. 19 / 06 / 2014

F. Pınar GÜNGÖR

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ.....	III
TEZ BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET.....	VIII
SUMMARY .....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLolar DİZİNİ.....	XI
SEMBOLLER DİZİNİ.....	XII
1. GENEL BİLGİLER .....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Kuru Meyve Zararlıları .....	5
1.3. <i>Plodia interpunctella</i> (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae).....	5
1.3.1. Tanımı ve Biyolojisi .....	6
1.3.2. Zarar Şekli, Ekonomik Önemi ve Yayılışı.....	9
1.3.3. Mücadele Yöntemleri.....	11
1.3.3.1. Kimyasal Mücadele .....	10
1.3.3.2. Fiziksel Mücadele .....	13
1.3.3.3. Biyoteknik Mücadele .....	14
1.3.3.4. Biyolojik Mücadele.....	15
1.4. Microsporidia .....	16
1.5. Tezin Amacı.....	18
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR .....	19
2.1. Böceklerin Elde Edilmesi .....	19
2.2. Mikroskopik Çalışmalar.....	19
2.2.1. Işık Mikroskobu Çalışmaları.....	20
2.2.1.1. Giemsa Boyama .....	20
2.2.2. Elektron Mikroskobu Çalışmaları.....	21
2.2.2.1. Fiksasyon, Dehidrasyon, Resine Gömme ve Boyama .....	21
2.2.3. Moleküler Çalışmalar.....	22

2.2.3.1.	DNA İzolasyonu .....	22
2.2.3.2.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	22
2.2.4.	<i>Plodia interpunctella</i> 'dan Saf Döl Elde Edilmesi ve Enfeksiyon Geçişlerinin Tespiti.....	23
3.	BULGULAR.....	24
3.1.	<i>Plodia interpunctella</i> 'da Mikrospor Enfeksiyonunun Belirlenmesi.....	24
3.1.1.	Mikrospor Enfeksiyonunun Makroskopik Görünümü.....	24
3.1.2.	Mikrospor Enfeksiyonunun Mikroskopik Olarak Belirlenmesi.....	25
3.1.2.1.	Işık Mikroskobu Çalışmaları ile Mikrospor Enfeksiyonunun Belirlenmesi .	25
3.1.2.2.	Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile Mikrospor Patojeninin İncelenmesi.....	28
3.1.3.	<i>Plodia interpunctella</i> Larvalarında Tespit Edilen Mikrospor Patojeninin Moleküler Yöntemler ile Karakterizasyonu.....	34
3.2.	<i>Plodia interpunctella</i> 'da Mikrospor Patojeninin Varlığı.....	37
3.2.1.	<i>Plodia interpunctella</i> 'dan Saf Döl Elde Edilmesi.....	38
4.	TARTIŞMA.....	40
5.	SONUÇLAR.....	45
6.	ÖNERİLER.....	47
7.	KAYNAKLAR.....	48
ÖZGEÇMİŞ		

Yüksek Lisans

ÖZET

KURU MEYVE GÜVESİ (*PLODIA INTERPUNCTELLA* (HÜBNER),  
LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)'NDE PATOJENİK BİR MİKROSPORİDYUM  
TÜRÜNÜN KARAKTERİZASYONU

F. Pınar GÜNGÖR

Karadeniz Teknik Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. Mustafa YAMAN  
2014, 59 Sayfa,

Bu yüksek lisans tezinde; dünyada ve ülkemizde depolanmış ürünlerde önemli ürün kayıpları meydana getiren Kuru Meyve Güvesi (*Plodia interpunctella* (Hübner); Lepidoptera: Pyralidae)'nde doğal enfeksiyona neden olan bir mikrosporidyum türünün karakterizasyonu yapıldı. 2010 – 2014 yılları arasında Trabzon, Karadeniz Teknik Üniversitesi'nde yürütülen laboratuvar çalışmaları sonucunda yetiştirilen *P. interpunctella* larva ve erginleri üzerinde ışık mikroskobu ile 40X ve 1000X'lik büyütmelemlerde incelemeler yapıldı. Disekte edilen taze preparatlarda patojenin boyu  $4.48 \pm 0.23$  (4.01-4.84; n = 50) µm ve eni  $2.21 \pm 0.15$  (1.91-2.48; n = 50) µm olarak ölçüldü. Enfeksiyon konağın bağırsak, yağ dokusu, malpigi tüpleri ve salgı bezleri gibi birçok doku ve organında gözlendi. Elektron mikroskobisi (TEM) ile patojenin ultrastrüktürel yapısı belirlendi. Spor safhası üzerinde yapılan ultrastrüktürel incelemeler sonucunda patojenin; diplokaryotik, polarfilament sayısı 10 – 12, spor duvarı kalınlığı 150 – 200 nm ve polar filament çapının 80 – 100 nm olduğu tespit edildi. Ultrastrüktürel karakterler bu patojenin, *Plodia interpunctella*'da daha önceden tespit edilen mikrosporidyum cinsi olan *Vairimorpha* olduğunu göstermektedir. Yapılan moleküler çalışmaların sonuçları da elektron mikroskobisi sonuçlarını desteklemektedir. Yapılan ışık, elektron mikroskobisi ve moleküler çalışmalar neticesinde *P. interpunctella* larva ve erginlerinde tespit edilen bu patojenin *Vairimorpha plodiae* olduğu Türkiye'den ilk kez bildirilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Plodia interpunctella* (Hübner), biyolojik mücadele, mikrosporidyum, *Vairimorpha plodiae*, karakterizasyon, Türkiye



Master Thesis

SUMMARY

CHARACTERIZATION OF NEW MICROSPORIDIUM (Protista) FROM INDIAN  
MEAL MOTH (*Plodia interpunctella* (Hubner); Lepidoptera: Pyralidae)

F. Pinar GUNGOR

Karadeniz Technical University  
The Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Biology Graduate Program  
Supervisor: Prof. Mustafa YAMAN  
2014, 59 Pages,

A microsporidium species detected from Indian meal moth (*Plodia interpunctella* (Hubner); Lepidoptera: Pyralidae) which cause important product loses in stored products in our country and worldwide was characterized in this master thesis. The larvae and adults were produced in Black Sea Technical University in the provience of Trabzon in between the years 2010 – 2014. Fresh preparations were dissected and examined under the light microscope with magnifications 40x-1000x. Pathogen dimensions were measured as  $4.48 \pm 0.23$  (4.01-4.84; n = 50) x  $2.21 \pm 0.15$  (1.91-2.48; n = 50) in fresh preparations dissected. Infection was observed in many tissues and organs such as glands, malpighian tubules, adipose tissue, intestine of host and the life cycle of the microsporidian. Ultrastructural features of the pathogen were determined with electron microscopy. According to ultrastructural studies on pathogen spore; this pathogen is diplocharyotic and it has 10 – 12 polar filament, 150 – 200 nm spore wall thickness and 80 – 100 nm polar filament dimension. Ultrastructural details showed that the microsporidian is a *Vairimorpha* genus previously characterized from *Plodia interpunctella*. Molecular studies were also completed in order to confirm the microsporidian pathogen . According to light, electron microscopy and molecular studies, this pathogen is the species of *Vairimorpha plodiae* detected in *P. Interpunctella* larvae and adults. In the present study, *Vairimorpha plodiae* is reported for the first time from Turkey.

**Key Words:** *Plodia interpunctella* (Hubner), biological control, microsporidium, *Vairimorpha plodiae*, characterization, Turkey

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. <i>Plodia interpunctella</i> 'ya ait yumurta, larva, pupa ve ergin hayat safhaları.....	8
Şekil 2. <i>P. interpunctella</i> 'nın iç fındıktaki zarar durumu .....	10
Şekil 3. <i>P. interpunctella</i> 'nın Malpighi tüplerinde mikrosporidyum patojenine ait serbest sporlar .....	26
Şekil 4. <i>P. interpunctella</i> 'da tespit edilen mikrosporidyum patojenine ait serbest sporlar.....	27
Şekil 5. <i>P. interpunctella</i> 'da tespit edilen mikrosporidyum patojenine ait oktosporlar.....	27
Şekil 6. <i>P. interpunctella</i> 'da tespit edilen mikrosporidyum patojenine ait giemsa boyalı serbest ve oktosporlar.....	28
Şekil 7. <i>P. interpunctella</i> 'da tespit edilen mikrosporidyum patojenine ait spor keseleri ve serbest spor.....	29
Şekil 8. <i>P. interpunctella</i> 'da tespit edilen mikrosporidyum patojenine ait sporoblastlar ve serbest spor.....	30
Şekil 9. <i>P. interpunctella</i> 'da tespit edilen mikrosporidyum patojenine ait spor.....	31
Şekil 10. <i>P. interpunctella</i> 'da tespit edilen mikrosporidyum patojenine ait hücre sel yapı.....	32
Şekil 11. <i>P. interpunctella</i> 'da tespit edilen mikrosporidyum patojenine ait sporun anteriöründeki hücre sel yapı.....	33
Şekil 12. <i>P. interpunctella</i> 'da tespit edilen mikrosporidyum patojenine ait rDNA'nın ssrRNA genine ait agaroz jel görüntüsü (PL – M).....	34
Şekil 13. <i>P. interpunctella</i> 'da tespit edilen mikrosporidyum patojeninin diğer türler ile olan filogenetik ilişkisi.....	36

## TABLULAR DİZİNİ

### Sayfa No

Tablo 1.	TİM'e göre Ülkemizin 2014 Ocak-Nisan dönemi sektörel bazda ihracat kayıt rakamları (URL-1, 2014).....	2
Tablo 2.	<i>Plodia interpunctella</i> 'nın mücadelesi için önerilen kimyasal ilaçlar (Yıldırım vd., 2001).....	12
Tablo 3.	Laboratuarda yetiştirilen <i>P. interpunctella</i> larvalarındaki mikrospor enfeksiyonu.....	37
Tablo 4.	Laboratuarda yetiştirilen <i>P. interpunctella</i> erginlerindeki mikrospor enfeksiyonu.....	38
Tablo 5.	Saf döl elde etme çalışmaları sonucunda <i>P. interpunctella</i> larva ve erginlerindeki mikrospor enfeksiyonu.....	39
Tablo 6.	Lepidoptera Takımında tanımlanan <i>Vairimorpha</i> türleri ve Morfolojik ve Ultrastürüktürel Özellikleri.....	42

## SEMBOLLER DİZİNİ

DNA	Deoksiribonükleik Asit
kGy	İyonlaştırıcı radyasyonun maddenin birim kütlesinde soğurduğu enerji miktarı
ml	mililitre
mm	milimetre
$\mu$ l	Mikrolitre
$\mu$ m	Mikrometre
M	Molar
nm	Nanometre
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rpm	Dakikadaki devir sayısı
rRNA	Ribozomal RNA
SSU	Küçük alt birim
UV	Ultra Violet

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Giriş

Hızla artan dünya nüfusuna yeterli ve dengeli beslenebilmeleri amacıyla ihtiyaç duydukları besin maddelerinin, Uluslar Arası Gıda Standartları Komisyonu kriterlerine uygun olarak sağlıklı ve güvenilir bir şekilde sağlanması günümüzün önde gelen sorunlarından biri olarak dikkat çekmektedir (Ferizli ve Emekçi, 2014).

Ülkemizin kullanılabilir tarım alanları nüfus artışına paralel olarak artmamakta, aksine her geçen gün azalmaktadır. Bu nedenle birim alandan elde edilen ürün miktarının artırılması birinci derecede öne çıkmakla birlikte; üretimden tüketime kadar ürünün uygun bir şekilde korunması da çok büyük önem arz etmektedir (Ferizli ve Emekçi, 2014).

Dünyada ve Türkiye’de özellikle nem içeriği düşük gıda ürünleri beslenme, tohumluk ve ihtiyaç fazlası gibi değişik amaçlarla kısa veya uzun süreli olarak depolanmakta ve tüm yıl boyunca gerek iç ve gerekse dış pazarda piyasaya sunulmaktadır.

Ülkemiz hububat, bakliyat, yağlı tohum ve mamülleri, fındık ve mamülleri ve kuru meyve ve mamülleri gibi ürünlerin dünya üretim ve ihracatında önemli bir yere sahiptir. İç tüketim ve dış satımda son derece önemli olan bu ürünler T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Gıda Koruma Genel Müdürlüğü onayı ile özel olarak kurulmuş tesis ve işletmelerde depolanmaktadır.

Türkiye İhracatçılar Meclisi (TİM) verilerine göre, ülkemizin 2014 Ocak-Nisan dönemi sektörel bazda ihracat kayıt rakamları toplamda 110,107,255 lira, tarım sektörü genelinde 16,381,369 lira, bitkisel ürünler kategorisinde ise 11,412,166 liradır. Aynı döneme ait, depolanmış ürünler olarak nitelendirilen hububat, bakliyat, yağlı tohum ve mamülleri, fındık ve mamülleri ve kuru meyve ve mamülleri ihracat rakamları ise sırasıyla 5,223,145, 1,408,428 ve 974,023 liradır (Tablo 1).

Tablo 1. TİM'e göre Ülkemizin 2014 Ocak-Nisan dönemi sektörel bazda ihracat kayıt rakamları (URL-1, 2014).

<b>SEKTÖRLER</b>	<b>2014 OCAK-NİSAN İHRACAT KAYIT RAKAMLARI (1000 TL)</b>
<b>TARIM</b>	<b>16,381,369</b>
<b>Bitkisel Ürünler</b>	<b>11,412,166</b>
Hububat, Bakliyat ve Yağlı Tohum ve Mamülleri	5,223,145
Yaş Sebze-Meyve ve Mamülleri	1,733,095
Fındık ve Mamülleri	1,408,428
Meyve ve Sebze Mamülleri	1,020,451
Kuru Meyve ve Mamülleri	974,023
Tütün ve Mamülleri	766,377
Zeytin ve Zeytin Yağı Mamülleri	198,863
Süs Bitkileri ve Mamülleri	87,784
<b>Hayvansal Ürünler</b>	<b>1,741,415</b>
<b>Ağaç ve Orman Ürünleri</b>	<b>3,227,788</b>
<b>SANAYİ</b>	<b>90,427,343</b>
<b>MADENCİLİK</b>	<b>3,298,543</b>
<b>TOPLAM</b>	<b>110,107,255</b>

Bu veriler depolanmış ürünlerinin ülkemiz ekonomisine ne denli önemli bir katkı sağladığını ortaya koymaktadır. Bu bakımdan, vurgulamak gerekirse, tarımsal ürünlerin

hasattan hem iç tüketim ve piyasada hem de dış piyasada satışa sunulana kadar en az düzeyde kayıpla korunması bir zorunluluktur. Artan tüketici bilinci de ürünlerde herhangi bir zararı kabul etmemektedir (Ferizli ve Emekçi, 2014). Ancak, tarım ve ülke ekonomisi açısından göz ardı edilemeyecek derecede öneme sahip olan depolanmış ürünlerin üretimini ve dolayısıyla ihracatını etkileyen birtakım olumsuz etmenler mevcuttur. Bu olumsuzluklar içerisinde verimsiz alanlarda yapılan ekim işlemleri, bitkilerin doğal hastalıkları, olumsuz iklim ve depolama şartları ve özellikle büyük kayıplara neden olabilen zararlı böcek salgınları yer almaktadır.

Depolanmış ürün zararlısı olan böcekler genel olarak Baklagil Tohum Böcekleri, Depolanmış Hububat ve Mamüllerinin Zararlıları, Kuru Meyve Zararlıları, Mısır Depo Zararlıları, Patates Güvesi ve Tütün Depo Zararlıları olmak üzere altı grupta toplanmaktadır (TAGEM, 2008). İklim ve ekolojik koşulların optimal düzeye ulaşması durumunda hemen hemen her yere yayılabilen bu zararlılar, popülasyon yoğunluklarını arttırabilmekte ve salgınlar yapabilmektedirler. İlâveten, depolanmış ürünlerde zararlı olan birçok böcek türünün tropik ya da yarı tropik kaynaklı olduğu ve dünyanın diğer kesimlerine ticaret yoluyla yayıldığı bilinmektedir (URL-2, 2014).

Kuru meyve güvesi (*Plodia interpunctella*, (Lepidoptera; Pyralidae)), hem kuru meyve zararlılarının ve hem de depolanmış hububat ve mamüllerinin en önemli zararlılarından biridir. Gerek *Plodia interpunctella* ve gerekse diğer depolanmış ürün zararlıları bulaştıkları gıda ürünlerine doğrudan ya da dolaylı bir şekilde zarar vermektedirler. Bunun sonucu olarak da ürünlerde ağırlık kayıplarına, tohumluluk özelliklerinin düşmesine, kalite ve besin değerlerinde olumsuz değişimlere yol açarak ticari değerlerinin azalmasına neden olmaktadır (Boxall, 2001). Ayrıca, bulaşma görülen gıda ürünlerinin insanlar tarafından tüketilmesinin de sağlık yönünden sakıncalar taşıdığı saptanmıştır. Bu tür gıda ürünlerinin yenilmesi ile solunum yolları alerjisi, kaşıntı, astım, iştahsızlık, gelişim bozukluğu gibi belirtiler ve bakteriyel enfeksiyonlar ortaya çıkmaktadır. Yine, bu böceklerin kemik hastalıkları, şerit ve veba gibi hastalık etmenlerini de taşıdıkları belirlenmiştir (URL-2, 2014).

Depolanmış ürün zararlılarının insanların gelişimi için gerekli olan karbonhidrat, protein ve yağ gibi organik bileşikleri ve vitamin ve mineraller gibi inorganik bileşikleri içeren besin kaynaklarında salgınlar yaparak insan sağlığı ve ülke ekonomisi üzerinde tehdit unsuru oluşturmaları bu zararlılarla mücadelenin ne kadar gerekli olduğunu gözler önüne sermektedir. Bu bağlamda depolanmış ürün zararlıları ile mücadele yöntemleri

geliştirilmiş ve temel ilke temiz depoya temiz ürün koymak ve ürünü depolama süresince bulaşmalardan korumak olmuştur. Bu amaca ulaşmak için kültürel, mekanik, kimyasal, fiziksel, biyoteknik, biyolojik ve karantina önlemlerinin entegre bir biçimde uygulanması yoluna gidilmektedir.

Dünyada ve ülkemizde depolanmış ürün zararlıları ile yaygın olarak kimyasal mücadele yöntemi tercih edilmekte olup fumigasyon uygulamaları yapılmaktadır. Gıda ürünlerinde zararlı olan organizmaların zehirli gaz kullanımı yoluyla öldürülmesi anlamına gelen fumigasyon uygulamalarında sıklıkla tercih edilen fumigantlar metil bromit (MeBr) ve fosfin (PH<sub>3</sub>)'dir. Türkiye'de ilk defa 1987 yılında ruhsatlandırılan metil bromidin, aynı yıl 160 ülkenin katılımı ile imzalanan ve ülkemizin de 1991 yılında taraf olduğu Montreal Protokolü gereğince, ozon tabakasını inceltici özelliğe sahip olması ve ürünlerde brom (Br) kalıntısı nedeniyle zirai karantina ve taşıma öncesi kullanımlar dışında, kullanımının ve ithalatının kademeli olarak azaltılması kararı benimsenmiştir (T.C. Resmi Gazete, 2000; 2004). Mevcut uygulamaya ülkemizde 2004 yılında başlanmıştır (Ferizli ve Emekçi, 2014). Metil bromidin, hali hazırda gelişmiş ülkelerde 2005 ve gelişmekte olan ülkelerde ise 2015 yılına kadar kullanımdan kaldırılması planlanmıştır (UNEP, 1995).

Fumigasyonun, bulaşık ürüne doğrudan uygulanabilmesi, ürünün her yerinde ve zararlıının tüm yaşam aşamalarında etkili olması, kısa sürede kesin sonuç ve geniş çaplı uygulamalara olanak vermesi ve diğer mücadele yöntemlerine göre daha az girdi ve iş gücü gerektirmesi ilk bakışta avantaj gibi görünmektedir. Fakat kullanılan fumigantların zamanla zararlıların direnç mekanizmalarını geliştirmeleri ve daha önce belirtildiği üzere ozon tabakasını inceltme potansiyeline sahip olmaları, besinlerde kalıntı oluşturabilmeleri ve insan sağlığı açısından da önemli riskler taşımaları birçok bilim adamı ve devlet çalışanını diğer alternatif mücadele yöntemleri üzerinde yoğunlaştırmaktadır. Söz konusu mücadele yöntemlerinin insan sağlığı, argoekosistem, çevre ve biyolojik dengenin korunarak sürdürülmesini desteklemeleri bir zorunluluktur. Bu amaçla son yıllarda biyolojik mücadele yöntemleri önem kazanmıştır. Biyolojik mücadele yöntemlerinde zararlı böcek üzerinde doğal hastalık oluşturan etmenler ilgi odağı olmuştur.

Bu yüksek lisans tezinde Türkiye'de ve dünyada önemli bir depolanmış ürün zararlısı olan kuru meyve güvesi *Plodia interpunctella* zararlısına karşı kimyasal kullanımını ekarte ederek çevreye, ekonomiye ve insan sağlığına daha duyarlı olabileceği düşünülen mücadele yöntemleri araştırılmıştır. Bu bakımdan, böcekte doğal hastalık oluşturan bir



patojenin varlığı, doğadan izolasyonu, zararlı böcek popülasyonundaki varlığı ve nesiller arası dağılımı çalışılmıştır.

## 1.2. Kuru Meyve Zararlıları

Sorun olan zararlılar aşağıda verilmiştir;

Ekşilik Böcekleri	[ <i>Carpophilus</i> spp.]	(Coleoptera: Nitidulidae)]
Testereli Böcek	[ <i>Oryzaephilus surinamensis</i> (L.)	(Coleoptera: Cucujidae)]
Kuru Meyve Akarı	[ <i>Carpoglyphus lactis</i> (L.)	(Acarina: Carpoglyphidae)]
İç Fındık Güvesi	[ <i>Paralipsa gularis</i> (Zell.)	(Lepidoptera: Galleridae)]
Kuru Üzüm Güvesi	[ <i>Ephestia figuliella</i> (Greg.)	(Lepidoptera: Pyralidae)]
Kuru İncir Güvesi	[ <i>Ephestia cautella</i> (Walk.)	(Lepidoptera: Pyralidae)]
Kuru Meyve Güvesi	[ <i>Plodia interpunctella</i> (Hübner)	(Lepidoptera: Pyralidae)]

*Plodia interpunctella* (Hübner) kuru meyve zararlısı olmasının yanı sıra aynı zamanda depolanmış hububat ve mamüllerinin zararlıları listesinde de yer almaktadır (TAGEM, 2008).

## 1.3. *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae)

Alem: Animalia (Hayvanlar)

Şube: Arthropoda (Eklembacaklılar)

Alt Şube: Hexapoda

Sınıf : Insecta (Böcekler)

Takım: Lepidoptera (Pulkanathılar)

Familya: Pyralidae

Altfamilya: Phycitinae

Cins: *Plodia*

Tür: *Plodia interpunctella* (Hübner)

### 1.3.1. Tanımı ve Biyolojisi

*Plodia interpunctella* (Hübner), kuru meyve güvesi, Lepidoptera takımı, Pyralidae familyasına ait Pyralid bir güvedir. *P. interpunctella*, depolanmış ürünlerin dünya çapında ekonomik açıdan önemli bir zararlısıdır (Sedlacek vd., 1996; Yoon vd., 2001; Mohandass vd., 2007; Fasulo ve Knox, 2014).

*Plodia interpunctella*'nın birinci derecede tercih ettiği besin kaynakları incir, üzüm, erik, kayısı ve hurma gibi kuru meyvelerdir. Bunların yanı sıra kestane, ceviz, iç fındık, antep fıstığı, yer fıstığı, badem, susam ve ayçiçeği gibi yağlı tohumlar; pirinç, mercimek ve fasülye gibi hububat mamülleri; un ve mamülleri; çikolata, kakao, süt tozu ve baharat gibi ürünler de tercih edilen diğer besin kaynaklarıdır (TAGEM, 2008). Görüldüğü gibi *P. interpunctella* besin seçiciliği sergilememektedir. Bu durum pek çok gıda ürünüde kuru meyve güvesi istilalarını kaçınılmaz kılmaktadır.

Kuru meyve güvesi yumurta, larva, pupa ve ergin gelişim aşamalarını geçirerek tam başkalaşım gösterir.

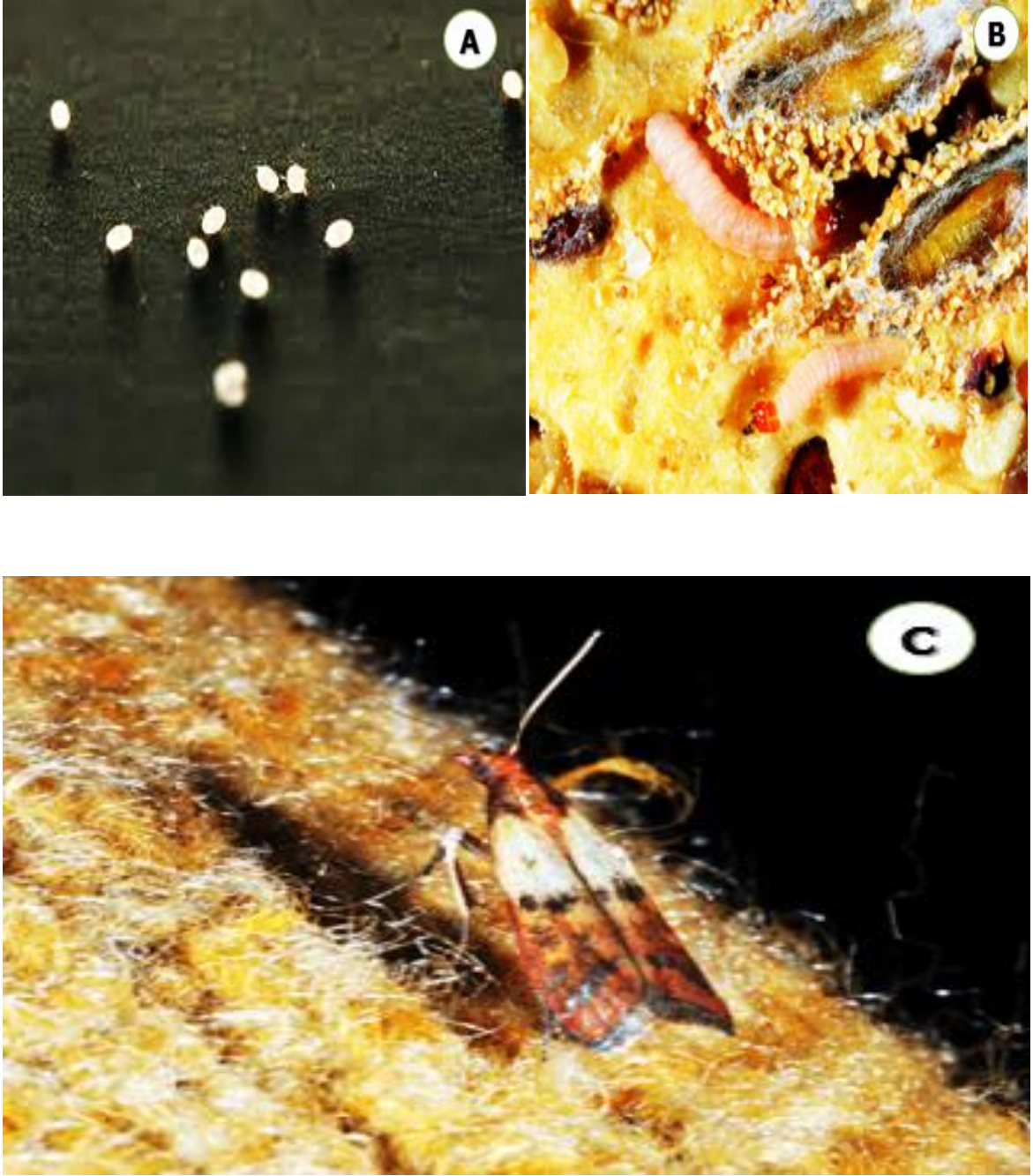
Kuru meyve güvesinin yumurtaları kirli beyaz renkte, hafif oval ve 0,3-0,5 mm uzunluğundadır (Yıldırım vd., 2001; Fasulo ve Knox, 2014). 2-4 haftalık yaşamı süresince ortalama 300-400 kadar yumurta bırakma potansiyeline sahip olan ergin dişi yumurtalarını besin yüzeyinin yakınına veya üzerine, tek tek ya da küme halinde bırakır (Müllen ve Argobast, 1977; Argobast ve Müllen, 1978; TAGEM, 2008) (Şekil 1 A).

Oda sıcaklığında yumurtadan larva çıkışı bir hafta sonra gerçekleşir. Yapılan laboratuvar çalışmaları *Plodia interpunctella*'nın yumurtlama potansiyelinin besin çeşidi, ortam sıcaklığı, ışık ve nispi neme bağlı olarak değişebileceğini göstermiştir (Bell, 1975; Mbata, 1985; Allotey ve Goswami, 1990; Johnson vd., 1992, 1995; Nansen ve Phillips, 2003; Argobast, 2007).

Yumurtadan çıkan larva hızlı bir şekilde besin bulmaya yönelir (Sedlacek vd., 1996). Kuru meyve güvesi larvası 10-12 mm uzunluğundadır ve kirli beyazdan pembemsi kreme kadar değişen renklere sahiptir. Genellikle larva büyüdükçe rengi açılır. Larva beş gömlek değiştirir; ürünlerde küçümsenemeyecek derecedeki zararı en aktif olduğu ikinci ve üçüncü gömlek değiştirme dönemlerinde gerçekleştirir (Oluwafemi vd., 2009) (Şekil 1 B).

Dördüncü veya beşinci gömlek değiştirme dönemlerinde diyapoz gerçekleşir, daha sonra beslenme durur, fakat çevresel faktörler gelişimi daha erken vuku buldurabilir. Larva bir sonraki gelişim aşaması olan pupaya geçebileceği uygun bir yer bulmak için genellikle besin yüzeyinden uzaklaşır. (Mbata ve Osuji, 1983; Mohandass vd., 2007). Larva beş gömlek değiştirdikten sonra kokon öreerek pupa haline geçer. Pupa kokon içerisinde, kahverengimsi ve 6-8 mm uzunluğundadır (Şekil 1 B).

Pupadan çıkan erginin ön kanatlarının dip kısmı sarı, diğer kısımları ise kırmızımsı kahverengindedir. Sarı renkli olan dip kısım koyu kahve renkli bir çizgi ile uç kısımdan ayrılır. Arka kanatlar sarımsı gri renkli ve ortalama 9 mm uzunluğunda olup kanat açıklığı 18 mm'dir. Erginleri arasında eşeyssel dimorfizm bulunur. Dişileri erkeklerine göre daha uzun boya ve daha koyu renge sahiptir. Gelişme süresi uygun koşullarda 37-52 gündür. Yılda, koşullara göre 2-5 döl verir (TAGEM, 2008) (Şekil 1 C).



Şekil 1. *Plodia interpunctella*'ya ait yumurta, larva, pupa ve ergin hayat safhaları  
A.Yumurta, B. Larva - Pupa, C. Ergin (Fotoğraflar: A. URL-3, 2014, B. URL-4,  
2014, C. URL-5, 2014)

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

*Plodia interpunctella* eksternal bir beslenicidir (Mohandass vd., 2007). Yalnız larva döneminde beslenir ve zarar yapar. Larvalar buldukları gıda ortamında beslenerek ürün kayıplarına neden olurlar. Buna ek olarak, çıkardıkları dışkı, değiştirdikleri gömlek ve baş kapsülü kalıntıları ve yaydıkları hoş olmayan koku ile de ürünün nicelik ve niteliğini bozarlar (Yıldırım vd., 2001; TAGEM, 2008). Ayrıca, hem besin yüzeyinin üzerinde hem de içerisinde ipeksi ağ örürler (Şekil 2 A, B, C).

*Plodia interpunctella* istilaları zararlı kontrol maliyetleri, nicelik ve nitelik kayıpları ve tüketici şikayetleri nedeniyle doğrudan ürün kaybına ve dolaylı ekonomik maliyetlere sebebiyet verebilmesi açısından önemlilik arz etmektedir (Phillips vd., 2000a). Kuru meyve güvesi, kuru incir güvesi ve incir kurdunun Ege Bölgesi'nde kuru incirin sergi döneminde % 12-23, depolarda ise % 39-68 oranında kayıplara neden oldukları belirlenmiştir. Yine, kuru meyve güvesi iç fındık güvesi ve diğer güvelerle birlikte Karadeniz Bölgesi fındık depolarında % 20 dolayında bulaşmaya yol açmaktadır (TAGEM, 2008).

Kuru meyve güvesi *Plodia interpunctella* Antartika hariç her kıtada yayılış göstermektedir (Rees, 2004). *Plodia interpunctella*'nın kıtasal uzaklıkların ötesinde göç edebildiği ve yayılabildiğini ileri süren kayıtlar yoktur (Mohandass vd., 2007). Ancak, ticari gemi yükü taşımacılığı ile böceklenmiş ürünlerin içerisinde görülmüştür (Schulten ve Roorda, 1984).



Şekil 2. *Plodia interpunctella*'nın iç fındıktaki zarar durumu. A. Zararın başlangıç dönemi, B. Zararın ilerleme dönemi, C. Zararın son dönemi; böcek istilasına uğramış ürün (Fotoğraflar: F. Pınar GÜNGÖR)

### 1.3.3. Mücadele Yöntemleri

Kuru meyve güvesi *Plodia interpunctella* ile savaşım için kimyasal, fiziksel, biyoteknik ve biyolojik mücadele yöntemleri ayrı ayrı veya birlikte uygulanmaktadır.

#### 1.3.3.1. Kimyasal Mücadele

Dünyada ve ülkemizde *Plodia interpunctella* popülasyonlarını kontrol altında tutmak için sıklıkla kimyasal kullanımı ve yaygın olarak fumigasyon uygulamaları tercih edilmektedir. Fumigasyon uygulamalarında ise öncelikle metil bromit ve fosfin kullanılmaktadır.

Metil bromit depolanmış ürün ilaçlamalarında kullanılan tek mevcut geniş spektrumlu bir fumigant olmasına karşın ozon tabakasını inceltme potansiyeline sahiptir. Montreal Protokolüne göre; ozon tabakasını inceltme potansiyeline sahip tüm kimyasal materyallerin kullanımı çevre güvenliği açısından kademeli olarak durdurulmalıdır (Özyardımcı vd., 2006).

Yapılan çalışmalar *P. interpunctella* nesillerinin organofosfat malatoin ve diğer birkaç organofosfata direnç geliştirdiğini göstermiştir (Attia, 1977, 1981; Zettler vd., 1973, 1989; Zettler, 1982; Arthur vd., 1988; Sumner vd., 1988; Schaafsma, 1990; Subramayam ve Hagstrum, 1996; Arthur ve Phillips, 2003). İlaveten, organofosfat kloroprifos-metilli ve pretroit siflutrinli çalışmalar gezgin dönemdeki larvaları öldürmek için gerekli olan insektisit miktarının kırmızı un kurdu *Tribolium castaneum*'u öldürmek için gerekli olan miktardan 10-20 kat daha fazla olacağını göstermektedir (Arthur, 1989b, 1994, 1995). Ayrıca, bazı *P. interpunctella* nesilleri fosfin içerikli fumigantlara da düşük seviyeli direnç geliştirmiştir (Zettler, 1982; Zettler vd., 1989; Chaudhry, 1997).

Yıldırım vd., (2001), kuru meyve güvesi *P. interpunctella*'nın mücadelesi için önerilen kimyasal ilaçların etken madde ve miktarlarını, formülasyonlarını ve kullanım şekillerini içeren bir liste hazırlamışlardır (Tablo 2).

Tablo 2. *Plodia interpunctella*'nın mücadelesi için önerilen kimyasal ilaçlar (Yıldırım vd., 2001).

<b>Etken madde/miktarı</b>	<b>Formülasyon</b>	<b>100 lt suya preparat</b>
Alüminyum fosfit %57	Tablet	3 g/1 m <sup>3</sup> hacime
Bromofos 360 g/lt	EC	275 ml/100 m <sup>2</sup> alana (su miktarı kalibrosyanla)
Klorprifos metil 235 g/lt	EC	425 ml/100 m <sup>2</sup> alana (su miktarı kalibrosyanla)
Diklorvos 550 g/lt	EC	0,150 ml/1 m <sup>3</sup> hacime 1 m <sup>3</sup> su için 10 ml su
Malation % 25	WP	500 g/100 m <sup>2</sup> alana (su miktarı kalibrosyanla)
Malation 190 g/lt	EC	650 ml/100 m <sup>2</sup> alana (su miktarı kalibrosyanla)
Metil bromit % 98*	Gaz	40 g/1 m <sup>3</sup> hacime (24 saat atmosferik fumigasyon)
Metil bromit % 98*	Gaz	30 g/1 m <sup>3</sup> hacime (24 saat)

g: Gram, lt: Litre, ml: Mililitre, m<sup>2</sup>: Metre kare, m<sup>3</sup>: Metre küp, EC: Sıvı konsantrasyonlar, WP: Islanabilir toz konsantrasyonlar, \*: Montreal Protokolü gereğince ülkemizde 2004 yılından itibaren uygulanması kademeli olarak durdurulmuştur



### 1.3.3.2. Fiziksel Mücadele

Fiziksel mücadele kapsamında sıcaklık manipülasyonları, modifiye atmosfer (Adler, 2001) ve radyoaktivite uygulamaları yer almaktadır.

Bilindiği üzere *Plodia interpunctella*'nın gelişimi sıcaklıktan etkilenmektedir. Optimal sıcaklık düzeyinde gelişim hızlanmakta, bu düzeyin altındaki sıcaklıklarda ise yavaşlamaktadır. Bu nedenle depolama tesislerinin düşük ve yüksek sıcaklık uygulamaları mevcut zararlının kontrolü için bir potansiyeldir (Fields, 1992). Kuru meyve güvesinin mücadelesinde çoğunlukla düşük sıcaklıklar (0-10,5 C°) tercih edilmektedir. Bu sıcaklıklar ergin güve üzerinde bir stres faktörü oluşturmakta ve ergin ölüm oranı artmaktadır. Bunun yanı sıra, hayatta kalan erginler düşük yumurta üretimi sergilemekte ve bu yumurtalar daha düşük yaşama yeteneğine sahip olmaktadır (Johnson vd., 1997). Ayrıca, düşük sıcaklıklarda *P. interpunctella*'nın 2-3 günlük yumurtaları 1 günlük yumurtalarına göre ölüme daha fazla direnç gösterirken, yüksek sıcaklıklarda (42-48 C°) 1 günlük yumurtalarının 2-3 günlük yumurtalarına göre daha toleranslı olduğu görülmüştür (Lewthwaite vd., 1998). Roesli vd., (2003) ise yüksek sıcaklığın pilot bir yem değirmeninde farklı depo ürünü böcekleri yok ettiğini, fakat birkaç hafta sonra *P. interpunctella* popülasyonunun giderek arttığını belirlemiştir

Son yıllarda, düşük enerjili elektron ve gamma radyasyon uygulamalarını içeren radyoaktivite çalışmaları ile de *P. interpunctella* popülasyonlarını kontrol altında tutma çabaları olumlu sonuçlar vermiştir (Hayashi vd., 2004; Özyardımcı vd., 2006). İrradyasyonun, metil bromidin ihraç ürünü olarak kullanımını ve kimyasal kalıntı problemini ortadan kaldıracak önemli ve cazip bir alternatif olarak önerilebildiği bildirilmiştir (Ahmed, 1991; Marcotte, 1993). Besin irradyasyonunun ticari uygulamasının ekonomisi kapsamlı bir şekilde çalışılmaktadır. Bu teknoloji daha düşük radyasyon dozu kullanılırsa ekonomik açıdan çok daha uygundur (Borsa ve Iverson, 1993; Kunstadt ve Steeves, 1993; Hargitai vd., 1993). Uluslar arası Gıda Standartları Komisyonu tüm besin ve zirai ürünlerin ilaçlaması için 1 kGy dozu tavsiye etmektedir (Codex Alimentarius, 1984). İrradyasyon ilaçlamaları düşük dozlarda başarı gösteriyor olsa da, radyasyon duyarlılığının farklı böcek takımlarında ve hatta aynı böceğin farklı gelişim evrelerinde bile değişiklik gösterebileceği unutulmamalıdır (Ahmed, 2001).

### 1.3.3.3. Biyoteknik Mücadele

Biyoteknik mücadele yönteminin hedefi zararlıları doğrudan öldürmek yerine, onların doğal davranışları, fizyolojileri ve biyolojileri üzerine etkili olan bazı yarı kimyasal maddeler kullanarak popülasyonlarını azaltmaktır.

Depolanmış ürün zararlıları için yarı kimyasal maddelerin kullanımı önemli bir alternatif olmuştur (Phillips, 1997; Jones, 1998; Phillips vd., 2000b, Cox, 2004). Yarı kimyasal olarak daha çok attraktantlar (cezbediciler) ve feromonlar tercih edilmektedir. Buna karşın, böcek büyüme regülatörü hidroprenin de *Plodia interpunctella*'nın yumurta bırakma ve larva gelişimini sınırladığı bilinmektedir (Argobast vd., 2002; Mohandass vd., 2006a, b). İlâveten, yarı kimyasal maddeler, besin tesislerinin içerisinde ve çevresinde *P. interpunctella* ve diğer depolanmış ürün zararlı popülasyonlarının erken dönemde belirlenmesi ve izlenmesi için yaygın olarak feromon tuzaklarında kullanılmaktadır (Nansen ve Phillips, 2004).

*Plodia interpunctella* dişi feromonunun temel bileşeni Brady vd., (1971) ve Kuwahara vd., (1971) tarafından tespit edilmiş ve ZETA [(Z,E)-9,12-tetradecadienyl asetat (Z9,E12-14:Oac)] olarak adlandırılmıştır. Daha sonra *P. interpunctella* dişi feromonunun üç ilave bileşeni kaydedilmiştir (Kuwahara ve Casida, 1973; Sower vd., 1974; Soderstrom vd., 1980; Teal vd., 1995; Zhu vd., 1999). Fakat ticari *P. interpunctella* tuzaklarının çoğu sadece ZETA içermektedir (Nansen ve Phillips, 2004). Nansen ve Phillips, (2004) tarafından yapılan bir çalışmada yarı kimyasal bir attraktant ve ZETA'ya maruz kalan *P. interpunctella* erginleri üzerine toksite analizi yapılmış ve attraktant verilen ergin erkeklerin dişilerin yumurtlama potansiyellerine önemli bir etki yaptığı, ZETA verilen ergin erkeklerin ise böyle bir etki göstermediği bulunmuştur. Ayrıca, Slovenya'da gerçekleştirilen bir çalışmada *P. interpunctella*'nın da dahil olduğu üç depolanmış ürün zararlısına karşı feromon tuzağı kullanımında olumlu sonuç elde edilmiştir (Trdan vd., 2010).

#### 1.3.3.4. Biyolojik Mücadele

Kuru meyve güvesi *Plodia interpunctella*'yı da içeren pek çok depolanmış ürün zararlısı böceği kontrol altında tutmak amacıyla doğal ürünlerin kullanımı diğer mücadele yöntemlerine ve özellikle de kimyasal uygulamalara ve fumigasyona karşı bir alternatif olarak görülmektedir (Arthur, 1996). Çevreye ve insanlara olan zararlı etkisinin minimum olmasının yanı sıra maliyetinin de düşük olması biyolojik mücadele yöntemlerini çok daha tercih edilir duruma getirmektedir.

*Plodia interpunctella*'nın birçok doğal düşmanı mevcuttur. Kuru meyve güvesinin parazit ve predatör türleri arasında *Habrobracon hebetor* (Oluwafemi vd., 2009; Mbata ve Ilan, 2010), *Xylocoris flavipes* (Press vd., 1974; Kraszpulski ve Davis, 1988), *Venturia canescens* (Harvey ve Thompson, 1995; Said vd., 1995, 1996), *Tricogramma deion*, *T. ostrinia*, *T. pretiosum* (Grieshop vd., 2006, 2008), *Nemeritis canescens* (Waage, 1978; Yıldırım vd., 2001), *Bracon hebetor*, *Apanteles serula*, *Phoneteroma fravitestacea*, *Diadegma chrysosticta*, *D. ohryacetieta*, *Hessestorun tranfuga*, *Leucopis puncticornis*, *Pachycrepoideus vindemiae* (Yıldırım vd., 2001) yer almaktadır. Bunlara ilaveten, entomopatojenik nematodlar *Heterorhabditis indica* (Mbata ve Ilan, 2010) ve *Steinernema riobrave* (Rodríguez vd., 2007); entomopatojenik mantarlar *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium (Verticillium) lecanii*, *Metarhizium anisopliae* var *anisopliae* ve *Paecilomyces farinosus* (Būda ve Pečiulytė, 2008); bakteri *Bacillus thuringiensis* (Alaoglu, 1989; Oluwafemi vd., 2009) ve granülovirüsler (Vail vd., 1991; Vail ve Tebbets, 1993; Boots ve Begon, 1995; Saejeng vd., 2010) kuru meyve güvesine karşı kullanılmıştır. Görüldüğü gibi söz konusu zararlının mücadelesinde biyolojik mücadele ajanlarının kullanımı kaçınılmazdır.

Ancak, yapılan çalışmalar *P. interpunctella*'nın bakteri *Bacillus thuringiensis*'e de direnç geliştirebileceğini göstermiştir (Johnson vd., 1990; Van-Rie vd., 1990; McGaughey ve Johnson, 1992; Subramanyam ve Hagstrum, 1996; Herrero vd., 2001).

Bu bilgiler ışığında *P. interpunctella*'nın farklı doğal patojen ve parazitlerinin tespiti ve popülasyonun kontrol altına alınması zararlı ile mücadelede en başarılı sonucu verecektir.

Bu yüksek lisans tezinde kuru meyve güvesi *Plodia interpunctella*'da doğal hastalık oluşturan bir mikrosporidium patojeni tespit edilmiş ve zararlı böceğin popülasyonuna etkisi çalışılmıştır.

#### 1.4. Microsporidia

Mikrosporidialar, fungus alemine ait olan zorunlu hücre içi parazitleridir. Mitokondri, golgi membranları ve diğer tipik ökaryotik organellerinin yokluğu nedeniyle ilkel ökaryot organizma olarak kabul edilmektedirler (Yaman ve Radek, 2003; Türk ve Doğruman-AI, 2009).

Mikrosporların gelişimi merogoni (vejetatif çoğalma) ve sporogoni (sporların oluşması) şeklindedir. Merogoni kısa bir süreye sahiptir ve dikkatli incelenmediği zaman gözden kaçabilir. Sporogoni ise kalıcı ve belirgin sporlar ile sonuçlanır. Doğadan toplanmış materyal ile yapılan çalışmalarda elde edilen mikrospor patojenleri genellikle spor aşamasındadır (Yaman vd., 2005; Yaman vd., 2009).

Konak hücreyi enfekte eden mikrosporların ilk vejetatif hayat safhası, meront safhasıdır. Küre şeklinden oval şekle kadar değişiklik gösterebilen merontlar ince bir hücre duvarına sahiptir. Merontlar hızla ve çok sayıda mitoz bölünme geçirerek sporontları oluştururlar. Küre ya da uzun şekilli sporontların hücre duvarının kalınlaşmaya başladığı gözlenir. Bir sonraki safhada organelleri belirginleşen, hücre duvarı oldukça kalın sporoblastlar göze çarpar. Sporoblastlar, patojenin tanımlanmasında karakteristik özelliğe sahip olan olgun sporları oluşturan son vejetatif safhadır (Yaman vd., 2005; Yaman, 2007).

Yaygın olarak oval veya kayık şekilli olmalarının yanı sıra bazen çubuk veya dairesel şekilli de olabilen sporlar genellikle 2-7 µm uzunluğundadır. Spor duvarları kalındır ve kitin içeren koruyucu bir tabakaya sahiptir (Erickson ve Blanquet, 1969; Vavra, 1976b). Sporlar tek veya çift çekirdekli olabilir. Çekirdek ökaryotik özellikte ve çift katlı zar ile çevrili olup, küresel veya oval, nadiren de at nalı şeklindedir (Vivier ve Schrevel, 1973; Larsson, 1982). Sitoplazmada serbest ribozomlar ve karakteristik olarak yerleşmiş endoplazmik retikulum bulunur. Polar filament ise sarmal yapıda olup, anchoring disk polar filamentin tek katlı zarının devamı olan polar kese içinde yer almaktadır (Petri ve Schiødt, 1966). Pek çok mikrospor patojeninde posterior kutba yakın ve zarla çevrili olarak

bulunan posterior vakuolün golgi aparatına karşılık geldiği düşünülmektedir (Vernick vd., 1977).

Mikrosporlar iki çeşit spor oluşturmaktadırlar. Bunlardan birincisi daha kalın spor duvarına sahip olan ve konak tarafından vücuda ağız yoluyla alınan eksternal sporlardır. Besin yoluyla alınan bu taşınım vertikal taşınım olarak adlandırılır. İkincisi ise konak içinde farklı dokulara bulaşmaya yarayan ve hastalıklı dişi tarafından yumurta aracılığıyla bulaştırılan internal sporlardır. Sporların bu yolla bulaştırılmasına da horizontal taşınım denir.

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

Mikrosporlar, konak spesifitesi olan canlılardır, yani doğada tek bir konağı tercih ederler. Bununla birlikte, enfeksiyona neden oldukları zararlının ölümüne sebep olmazlar. Bunun yerine buldukları konağın hayat süresinde kısılma, hareket kabiliyetlerinde yavaşlama, iştah ve kilo kaybı ve aynı zamanda üreme potansiyellerinde azalma gibi belirtileri olan kronik bir hastalığa yol açarlar. Mikrosporlar genel olarak tek bir konağa özgü olmaları nedeniyle biyolojik mücadelede kullanıma uygun patojenlerdir. Böylelikle sadece hedef organizmayı etkilerler, çevreye ve diğer organizmalara zarar vermezler.

Mikrosporlar böceklerde, balıklarda ve insanlarda enfeksiyonlara neden olmaktadır. Böceklerde sıklıkla görülen mikrosporlar *Burenella*, *Canningia*, *Larsoniella*, *Nosema*, *Ovavesicula*, *Tuzetia*, *Unikaryon*, *Pleistophora*, *Thelohania*, *Endoreticulatus* ve *Vairimorpha* cinslerine aittir (Weiser ve Purrini, 1985; Brooks vd., 1988; Undeen ve Vavra, 1997; Weiser vd., 1998; Yaman ve Radek, 2003; Yaman vd., 2005; Weiser vd., 2006; Vávra vd., 2006; Yaman, 2007; Yaman vd., 2009; Hoch vd., 2009).

Görüldüğü gibi mikrosporidialar böcek patojenlerinin önemli bir grubu olarak mikrobiyal kontrolde kullanım açısından en gelecek vaat eden mikroorganizmalardır (Tanada ve Kaya, 1993). Bu nedenle mikrosporidiaların kesin teşhisi ve karakterizasyonu son derece önemlidir. Bunun için çekirdeğin belirgin bir olarak boyanmasını sağlayan Giemsa boyama yöntemi uygulanmaktadır. Bu yöntemle belirlenen mikrosporların elektron mikroskobu incelemeleri ile de detaylı karakteristik yapıları görülmektedir.

### 1.5. Tezin Amacı

Hazırlanan bu yüksek lisans tezinde, depolanmış ürünlerin önemli bir zararlısı olan, Lepidoptera takımı, Pyralidae familyasına mensup kuru meyve güvesi, *Plodia interpunctella* (Hübner)'da doğal bir şekilde hastalık oluşturan bir mikrospor patojeninin teşhisi, izolasyonu ve farklı yöntemler aracılığıyla karakterizasyonunun gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Tez çalışmaları süresince, 2010-2014 yılları arasında, kuru meyve güvesinde mikrosporidyum enfeksiyonunun varlığı araştırılmıştır. Kuru meyve güvesinde gerçekleştirdiği enfeksiyonlarla, zararlının yaşam kalitesini düşüren ya da ölüme neden olan bir mikrosporidyum patojeninin izolasyonu, kuru meyve güvesinin larva ve erginlerine geçişi ve ayırt edici özelliklerinin belirlenebilmesi için çalışmalar yapılmıştır.

### 2.1. Böceklerin Elde Edilmesi

Mevcut çalışmanın konusunu oluşturan *Plodia interpunctella*'nın larva ve erginleri, çalışma boyunca Trabzon, K.T.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji II Laboratuvarında yetiştirilmiştir. Ayrıca çevrede böceğin bulaştığı farklı depo ürünlerinde zararlıya ait larvalar ve erginler de toplanarak incelenmiştir.

Laboratuar çalışmaları sırasında besin kaynağı olarak tarhana, fındık, bulgur ve pestil kullanılmış ve bulaşmaya bırakılmıştır. Çalışmalar süresince *P. interpunctella*'nın larva ve erginleri tesadüfi olarak elde edilmiştir. Enfeksiyon dağılım oranını etkilememek ve olası kontaminasyonu önlemek için her besin kaynağının larva ve erginleri ayrı ayrı yetiştirme kaplarında muhafaza edilmiş, besin kaynağı ve tarih bilgileri etiketlenmiştir.

Laboratuar ortamında steril yetiştirme kaplarında muhafaza edilen böcekler oda sıcaklığında bulundurulmuşlardır.

### 2.2. Mikroskopik Çalışmalar

*P. interpunctella*'nın larva ve erginlerinde enfeksiyon tespit edilen mikrosporidyumun morfolojik, anatomik ve histopatolojik özelliklerini açığa kavuşturmak ve tür tespitini yapmak için bir seri ışık ve elektron mikroskobu (TEM) çalışmaları ile moleküler çalışmalar yapılmıştır.

### 2.2.1. Işık Mikroskobu Çalışmaları

Laboratuvar çalışmaları sonucunda elde edilen larva ve erginler hazırlanan Ringer solüsyonu içerisinde disekte edilmiştir. 8,0 g Sodyum klorür (NaCl), 0,25 g Kalsiyum klorür (CaCl<sub>2</sub>), 0,25 g Potasyum klorür (KCl) ve 0,25 g Sodyum bikarbonat (NaHCO<sub>3</sub>)'ın 1000 ml saf su içerisinde çözülmesiyle elde edilen Ringer solüsyonu böcek dokuları için en ideal izotonik ortamı oluşturması açısından diseksiyon işlemlerinde kullanılmaktadır. Diseksiyon; ergin böcekte abdomenin böceğin vücudundan ayrılması ile, larvada ise abdomenin son segmentinden açılan bir kesi ile gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan taze preparatlar ışık mikroskobu (Olympus CX41) altında 40x'ten 1000x'e kadar olan büyütmelemlerle incelenmiştir. Enfeksiyon görülen preparatlar DP-25 dijital kamera ve DP2-BSW resim sistemine sahip Olympus BX51 ışık mikroskobu kullanılarak yeniden incelenmiş, patojenin ve enfekte ettiği dokuların fotoğrafları çekilmiş ve karakterizasyonu için gerekli ölçümler yapılmıştır.

Mikrospor enfeksiyonlarının, hazırlanan preparatlarda görülmesi muhtemel besin artıkları ve böcek dokularında enfeksiyona neden olabilen diğer patojenlerden ayırt edilebilmeleri için Giemsa boyama tekniği uygulanmıştır.

#### 2.2.1.1. Giemsa Boyama

Giemsa boyası hücrenin çekirdek ve sitoplazmasındaki yapıların ayırt edilmesini sağlar. Öyle ki, sitoplazma açık mavi veya kırmızıya boyanırken, çekirdek pembe renkte boyanır. İlaveten, sporların çekirdeğini boyayıp, spor duvarının beyaz kalmasını sağlayarak da mikrospor patojenlerinin teşhisinde etken bir görev üstlenmiştir. Ayrıca, Giemsa boyası ile patojen ya da parazitin hayat döngüsü safhaları da ortaya konulabilmektedir.

Enfeksiyon tespit edilen preparatların boyama işlemi şu şekildedir: öncelikle preparat oda sıcaklığında kurutulur, muhtemel kontaminasyonu engellemek için % 100'lük metil alkolde 3 dakika bekletilir, daha sonra tekrar oda sıcaklığında kurutulur, saf su ile hazırlanan % 5'lik Giemsa boyasında 16 saat boyanmaya bırakılır. Boyanan preparat akan musluk suyunda yıkanır, oda sıcaklığında kurumaya bırakılır ve incelenmeye hazır hale getirilir. İmmersiyon yağı kullanılarak 100x'lik büyütmede incelenir (Togebaye vd., 1988; Undeen ve Vavra, 1997).



Mikrospor enfeksiyon varlığı belirlenen tüm preparatlar yukarıda bahsi geçen işlemlerden geçirilerek Giemsa ile boyanmıştır. Boyanan preparatlar incelenmiştir. Var olan sporların boyanma şekilleri ile ayırt edilip ölçümlerinin tekrar yapılmasının yanı sıra, hem sporların hem de hayat döngüsü safhalarının fotoğrafları da çekilmiştir.

### **2.2.2. Elektron Mikroskobu Çalışmaları**

Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) çalışmaları, incelenmesi istenen yapıların morfolojik ve anatomik özelliklerinin kapsamlı bir şekilde ortaya koyulması ve dolayısıyla da tez çalışmaları sırasında gözlemlenen mikrosporun tür seviyesinde teşhis edilebilmesini mümkün kılması bakımından muazzam bir öneme sahiptir. Kuru meyve güvelerinden izole edilen mikrosporidyumun detaylı yapısı Almanya, Berlin Üniversitesi Laboratuvarı'nda Philips JM 208 elektron mikroskobu kullanılarak incelenmiş ve fotoğraflanmıştır.

#### **2.2.2.1. Fiksasyon, Dehidrasyon, Resine Gömme ve Boyama**

Işık mikroskobu altında enfeksiyon varlığı tespit edilen preparattaki dokular dikkatli bir şekilde alınarak fiksasyon, dehidrasyon, resine (ERL) gömme ve boyama işlemlerinden geçirilmiştir.

Dokuların elektron mikroskobunda incelenebilecek duruma getirilebilmesi için izlenen aşamalar şunlardır: ayrılan doku materyali pH 7,2'de 0,1M kakodilat tamponu ile seyreltilen % 2,5'lik glutaraldehit içinde iki saat boyunca fiske edilmiş ve takiben pH 7,2'de 0,1 M cacodylate tamponu içerisinde üç kez 10'ar dakika yıkanmıştır. Daha sonra OsO<sub>4</sub> (Osmium tetroksit) ile 2 saat süreyle muamele edilmiş (Karnovsky, 1971), yeniden pH 7,2'de 0,1 M cacodylate tamponu içerisinde üç kez 10'ar dakika yıkanmıştır (Becnel, 1997).

Numuneler sırasıyla % 30'lük, % 50'lik ve % 70'lik etanolla 15'er dakika, % 90'lık, % 96'lık ve % 100'lük etanol ile 10'ar dakika üçer kez muamele edilip dehidrasyona uğratılmıştır. Ertesi güne bırakılması gerektiğinde ya da 1-2 gün ara verileceği zaman numuneler %70 etanolde veya %25 resinde bırakılmıştır (Becnel, 1997).

Daha sonra 1:1 oranında hazırlanan ERL: etanol karışımı ile 1 saat, 3:1 oranında hazırlanan ERL: etanol karışımı ile 4 saat muamele edilen numuneye Epoxy resin emdirilmiştir. Saf ERL içerisinde bir gece süreyle bekletilmiştir. Taze saf ERL ile beem

tüplerine aktarılmış ve ortalama 48 saat 70°C'de etüv içerisinde sertleşmeye bırakılmıştır. Resinlerden ultra mikrotom kullanılarak kesitler alınmış, bu kesitler Pioloform kaplı bakır ızgaralar üzerine yerleştirilmiş ve doymuş uranil asetat ve Reynold's kurşun sitrat (Reynolds, 1963) boya ile boyanmıştır.

### **2.2.3. Moleküler Çalışmalar**

#### **2.2.3.1. DNA İzolasyonu**

Yoğun enfeksiyon gözlenen preparatlardaki spor içeren solüsyonlar cam pastör pipet vasıtasıyla toplandı. Saflaştırılan spor örneklerinden 50 µl alınarak bir ependorf tüp içerisine aktarıldı, üzerine 50 µl % 0,3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Hidrojen peroksit) eklenip 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi (Higes vd., 2006). 1 mm çapında 0,1 gramlık cam bilyeler ependorf tüplerine eklendi ve vortexde 3000 rpm de 1 dakika bekletildi (Hylis vd., 2005). Ticari DNA izolasyon kiti (QIAGEN, No; 69504) kullanılarak kit içerisinde direktiflere uygun şekilde DNA izole edildi (Hylis vd., 2005).

#### **2.2.3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu**

DNA izolasyonu tamamlandıktan sonra Multiplex PZR tekniği kullanılarak rDNA amplifikasyonu gerçekleştirildi. Multiplex PZR çalışmalarında 18F 5'-CACCAGGTTGATTCTGCC-3' ve 1537R 5'-TTATGATCCTGCTAATGGTTC-3' primerleri kullanıldı. PZR reaksiyonları, Qiagen Multiplex PCR Kit, No: 206143 kullanılarak toplam hacim 50 µl olacak şekilde ayarlanarak gerçekleştirildi.

PZR amplifikasyonundaki döngüler şu şekilde gerçekleştirildi; 95°C' de 15 dakika, her biri 45 döngü olacak şekilde 94 °C' de 30 saniye, 61°C' de 90 saniye, 72 °C' de 90 saniye ve son döngüyü takiben son uzama reaksiyonu 72 °C' de 10 dakika olarak gerçekleştirildi.

Elde edilen PZR ürünleri standart buffer içinde % 0,9'luk, etidyum bromür (EtBr) ilaveli agaroz jelde yürütülerek, UV transilliminatörde varlığı belirlendi. Bütün PZR reaksiyonlarında negatif kontrol kullanıldı. Elde edilen PZR ürününün büyüklüğü

hesaplanırken, 100 baz çiftinden (bp) başlayıp 10 kilo baza (kb) varan 16 bantlı bir skala oluşturan DNA ladder kullanıldı (Hylis vd., 2005).

Elde edilen PZR ürünü, baz dizin analizleri için Macrogen Inc. firmasının Hollanda şubesine gönderildi ve baz dizin analiz sonuçları, GenBank' taki verilerle karşılaştırıldı ve sonuçlar değerlendirildi.

#### **2.2.4. *Plodia interpunctella*'dan Saf Döl Elde Edilmesi ve Enfeksiyon Geçişlerinin Tespiti**

Kuru meyve güvesi *Plodia interpunctella*'da, enfeksiyona neden olduğu belirlenen, ışık ve elektron mikroskobu çalışmaları ile de varlığı kanıtlanan mikrosporidyumun nesiller arası geçiş oranı irdelenmiştir. Bu amaçla *P. interpunctella*'dan saf döl elde etme çalışmaları yapılmıştır.

Yürütülen çalışmalarda, toplam iki ayrı saf döl elde edilmiştir. Şöyle ki, 1. nesil tez çalışmasının ilk aşamasında yetiştirilen *P. interpunctella* erginlerinden, 2. nesil ise ilk nesilden elde edilen erginlerden sağlanmıştır.

Çalışmalar süresince, yoğun enfeksiyon görülen ve besin kaynağı olarak fındık ile beslenen ergin dişi ve erkek *P. interpunctella* bireyleri tercih edilmiştir. Seçilen bireylerin tümü, temiz besin bulunan steril yetiştirme kaplarına aktarılmış ve oda sıcaklığında bulundurulmuşlardır.

Çalışmalar sırasında ölen larva ve erginler hemen alınıp diseksiyonları yapılarak mikroskop altında incelenmiş ve ölüm oranı günlük olarak kaydedilmiştir.

### **3. BULGULAR**

Bu yüksek lisans tezinde ülkemizde önemli bir depo zararlısı olan *Plodia interpunctella*'nın larva ve erginlerinde hastalık oluşturan mikrosporidyum patojenlerinin varlığı ve karakterizasyonu çalışılmıştır. Çalışmalar sonucunda ülkemiz için ilk kayıt olan bir mikrosporidyum patojeni tespit edilmiş ve detaylı karakterizasyonu yapılarak, tür seviyesinde tanımlanmıştır. Tanımlanan patojen literatürde mevcut, sistematik olarak birbirine yakın türler ile karşılaştırılmıştır. Tez süresince elde edilen bulgular sırasıyla aşağıda verilmektedir.

#### **3.1. *Plodia interpunctella*'da Mikrospor Enfeksiyonunun Belirlenmesi**

*P. interpunctella*'da enfeksiyon yapan mikrosporidyum patojeni makroskobik, mikroskobik (morfolojik, anatomik; ışık ve elektron mikroskobu) ve moleküler yöntemler kullanılarak karakterize edilmiştir.

##### **3.1.1. Mikrospor Enfeksiyonunun Makroskobik Görünümü**

Mikrospor enfeksiyonunun konağı üzerinde makroskobik olarak gözlenebilen birtakım semptomlar mevcuttur. Bunlar arasında aşırı genişlemiş vücut kısımları, deride renk değişimi, hareket yeteneğinde azalma, iştahsızlık, kütikül üzerinde belirgin leke benzeri renklenmeler ve larvaların gömlek değişimindeki anormallikler sayılabilir. Ayrıca dişi böceklerin yumurtlama veriminde azalmanın gerçekleştiği de bilinmektedir (Joudrey ve Bjørnson, 2007). Çalışmalar sırasında, enfekte olmuş böceklerin hareket yeteneklerinde azalma görülmüştür. Ayrıca, diseksiyon sırasında bazı böceklerin hemolenfinin süt beyazı bir renk aldığı gözlemlenmiştir. Mikrospor enfeksiyonunun preparat üzerinde konakçı hemolenfini süt beyazı bir renge dönüştürdüğü bilinmektedir. Her ne kadar şüphelenilen enfeksiyonun belirlenmesinde makroskobik bulgular önemli olsa da, kesin yargıya varabilmek için mikroskobik düzeydeki bulguların değerlendirilmesi bir zorunluluktur.

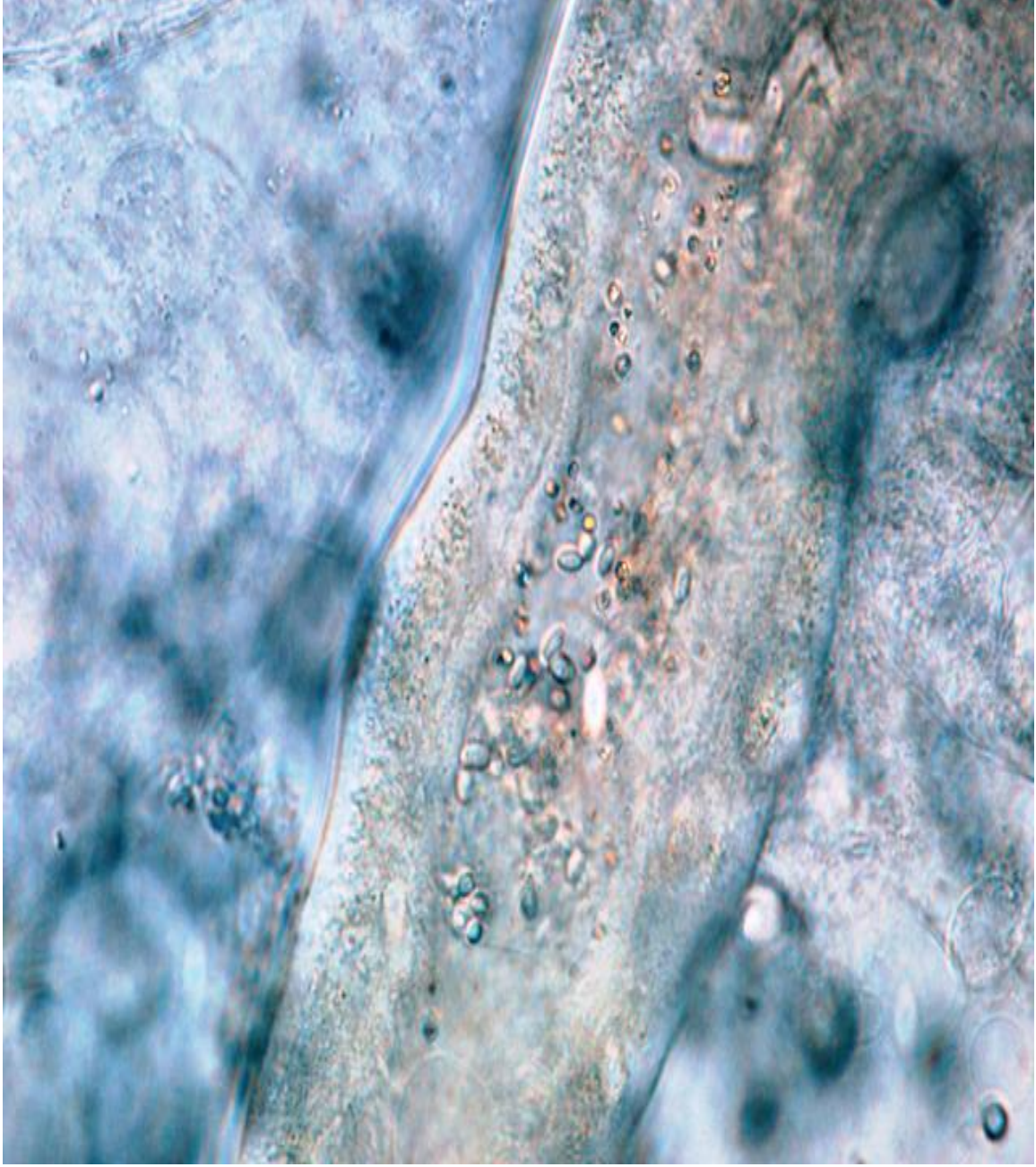
### **3.1.2. Mikrospor Enfeksiyonunun Mikroskopik Olarak Belirlenmesi**

Bu tez çalışmasında, tespit edilen mikrospor patojeninin mikroskopik olarak belirlenmesi için ışık ve elektron mikroskobu (TEM) çalışmaları olmak üzere iki temel yol izlenmiştir. Tespit edilen mikrospor patojeni, önce ışık mikroskobu altında saptanmıştır. Taze preparatlardaki mikrospor patojeninin karakteristik hayat safhası olan ve ışığı farklı açıdan kıran sporlar incelenmiştir. Daha sonra entomopatojenlerin detaylı bir şekilde ele alınmasında yaygın olarak kullanılan Giemsa boyama tekniği uygulanmış, spor yapıları tekrar incelenmiş ve mikrospor varlığı teyit edilmiştir. TEM çalışmaları ile mikrospor patojeninin ultrastrüktürel yapısı ortaya çıkarılmış ve karakteristik özelliklerinin belirlenmesi açısından detaylı olarak irdelenmiştir. Bu çalışmalar sayesinde tür tespiti sağlanmıştır.

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

Işık mikroskobu çalışmalarında incelenmek üzere diseksiyonu yapılan örneklerde mikrospor patojenine ait önemli hayat safhaları dikkatli bir şekilde tespit edilmeye çalışılmıştır. Doğrudan taze dokuların incelenmesi sırasında, mikrospor enfeksiyonunun bulunduğu dokulardaki morfolojik farklılıklar, normal dokular ile karşılaştırılarak enfeksiyon varlığı saptanmıştır. Taze preparatlarda konağın dokularında gerçekleşen tahribat gözlemlenmiştir. Işık mikroskobu çalışmaları sonucunda mikrospor enfeksiyonunun böceğin bağırsak, malpighi tüpleri ve hemolenfide enfeksiyon yaptığı belirlenmiştir (Şekil 3). Özel kamera ve resim sistemlerine sahip mikroskop kullanılarak, daha önce ışık mikroskobunda tespit edilen mikrosporların enfekte ettiği dokular fotoğraflanmıştır. Patojenin mikroskop altında tespitinde en temel safha olan spor safhası birçok diseksiyonda gözlenmiş ve sporlarının ölçümü yapılmıştır.

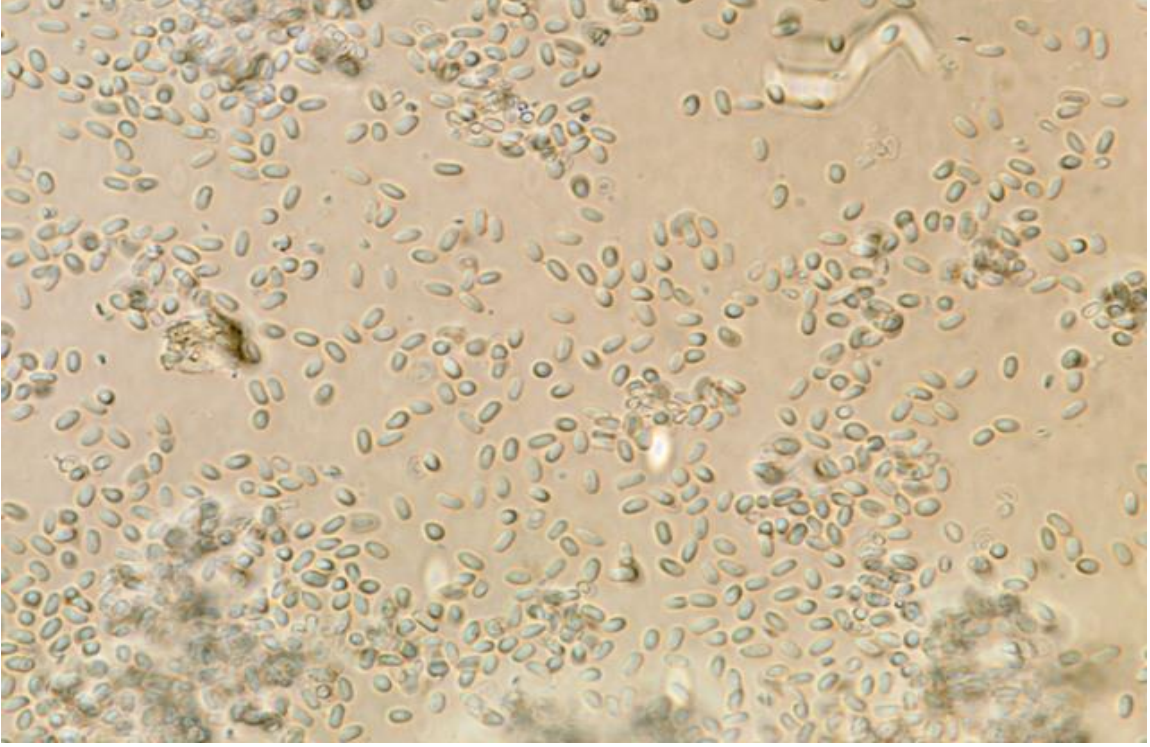
Mikrosporidyum patojeninin karakteristik özelliklerini taşıyan sporlar ışığı farklı şekilde kırmaları, aynı boyut ve şekle sahip olmaları bakımından konakçının diğer dokularından ayırt edilmektedir. Enfeksiyon konağa ait bağırsak, yağ dokusu, malpighi tüpleri ve salgı bezleri gibi birçok doku ve organda gözlendi (Şekil 3).



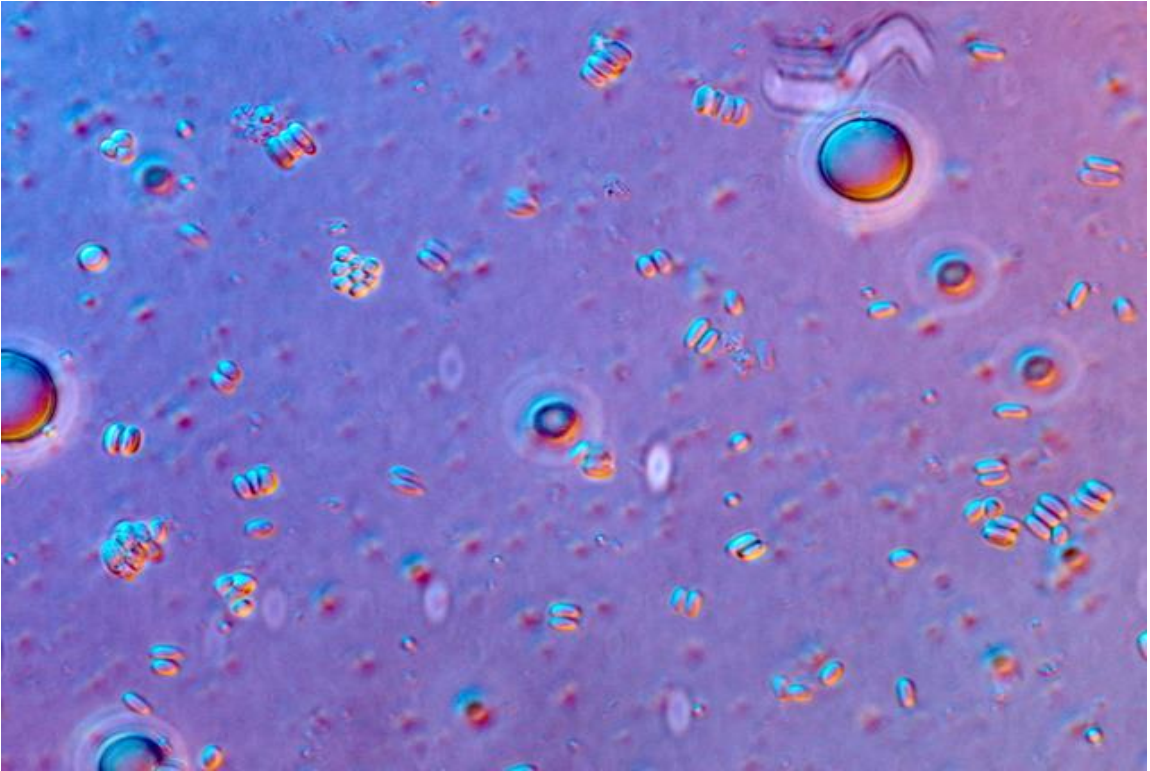
Şekil 3. *P.interpunctella*'nın Malpighi tüplerinde mikrosporidyum patojenine ait serbest sporlar, (100X)

Mikroskobik çalışmalar sonucunda patojene ait serbest sporlar ve kese içerisinde sporlar (oktosporlar) olmak üzere iki farklı spor tipi gözlenmiştir (Şekil 4 ve 5). Serbest sporlar  $4.48 \pm 0.23$  (4.01-4.84)  $\mu\text{m}$  uzunlukta ve  $2.21 \pm 0.15$  (1.91-2.48) genişlikte ölçüldü (n = 50). İkinci tip keseli sporlar bir spor kesesi içinde (oktosporlar), nispeten daha küçük olup,  $3.48 \pm 0.33$   $\mu\text{m}$  uzunlukta ve  $2.48 \pm 0.36$   $\mu\text{m}$  genişlikte ölçüldü (n = 50). Spor keselerin ortalama çapı 11.2-13.5  $\mu\text{m}$  olarak belirlendi.



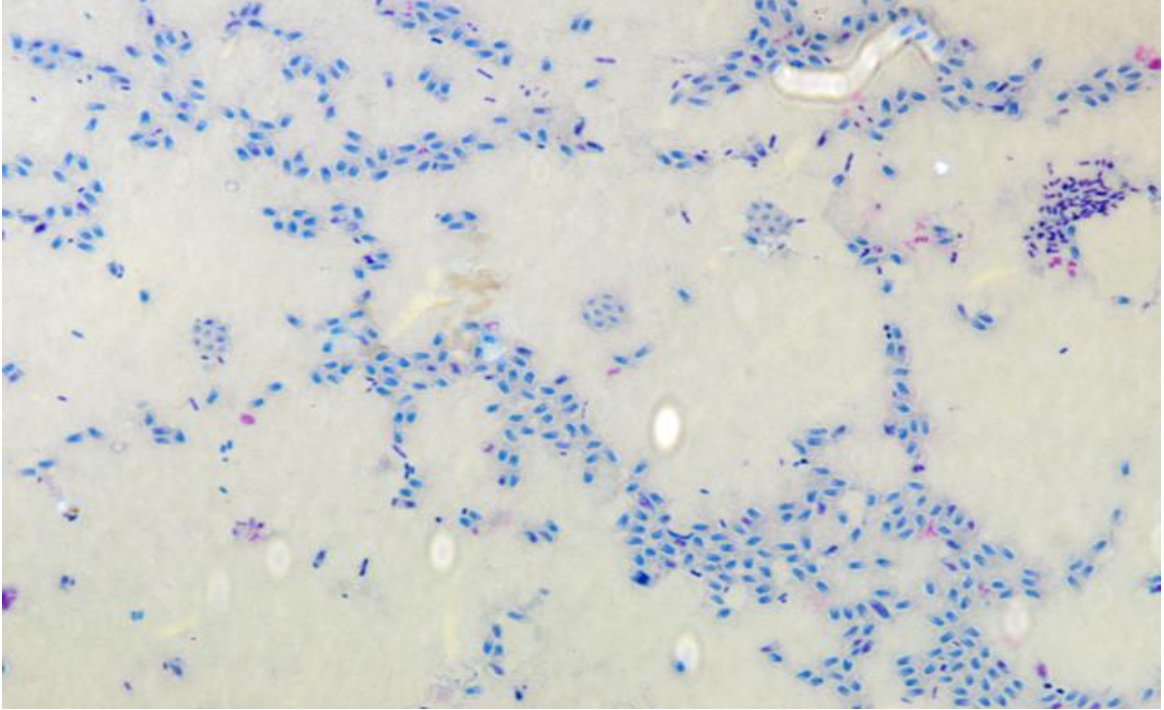


Şekil 4. *P.interpunctella* 'da tespit edilen mikrosporidyum patojenine ait serbest sporlar,  
(100X)



Şekil 5. *P.interpunctella* 'da tespit edilen mikrosporidyum patojenine ait oktosporlar,  
(100X)

Mikrosporidyum varlığı giemsa boyamasıyla da teyit edildi (Şekil 6) ve boyama sonucunda serbest sporlar  $3.89 \pm 0.31$  (3.06-4.45)  $\mu\text{m}$  uzunlukta ve  $2.19 \pm 0.17$  (1.70-2.38)  $\mu\text{m}$  genişlikte ölçüldü (n = 50).



Şekil 6. *P.interpunctella* 'da tespit edilen mikrosporidyum patojenine ait giemsa boyalı serbest ve oktosporlar, (40X)

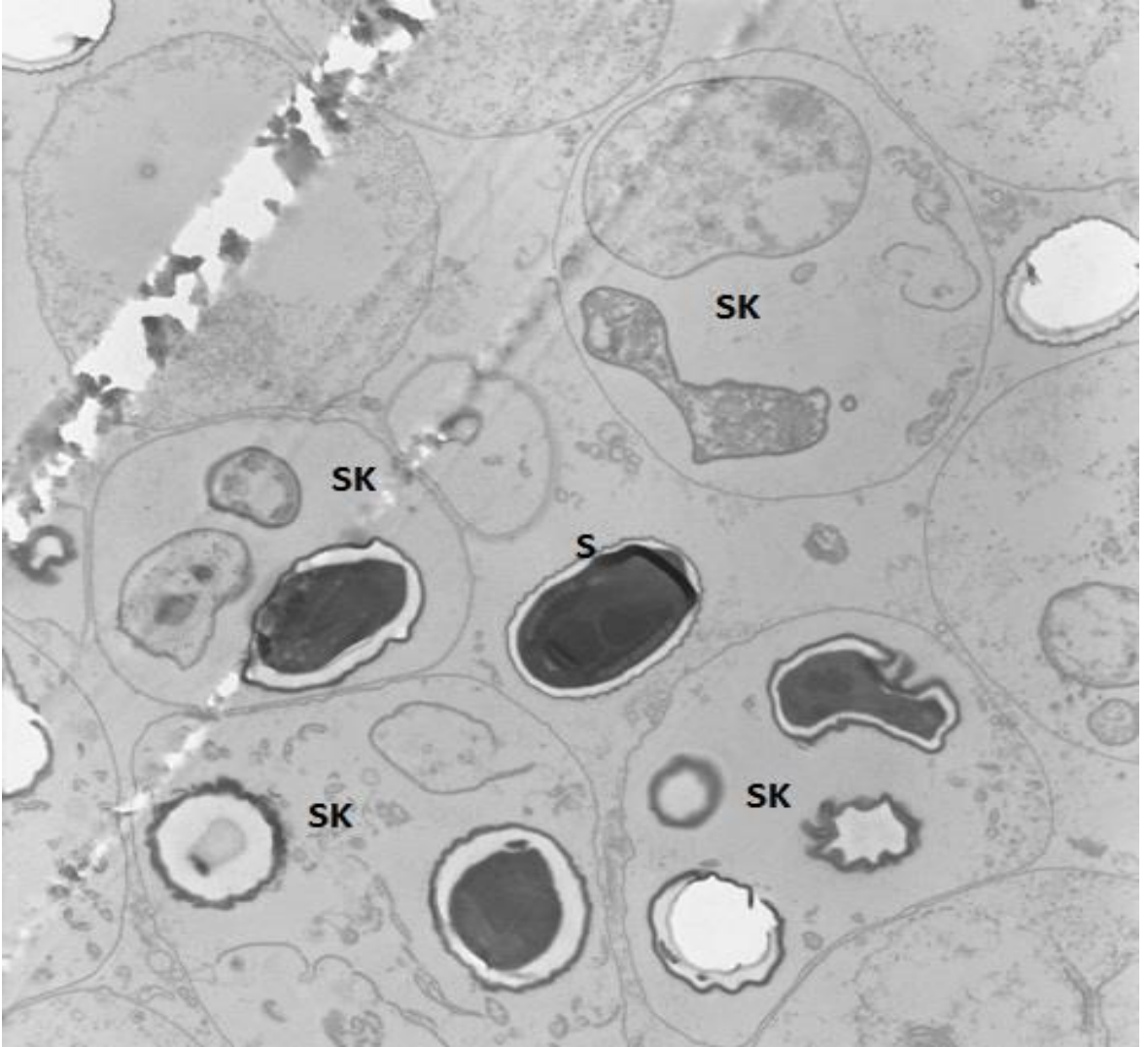
### 3.1.2.2 Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile Mikrospor Patojeninin İncelenmesi

Yukarıda bahsedildiği gibi *Plodia interpunctella*'da hastalık oluşturan patojenin ışık ve giemsa boyalı incelemeleri sonrasında patojenin mikrospor olduğu tespit edilmiştir. TEM çalışmaları sayesinde tespit edilen patojenin diğer patojenlerden ayırt edilebilmesi sağlanmış ve tür seviyesinde tespiti yapılmıştır. Günümüzde mikrosporların sınıflandırılmasında; spor şeklinin yanı sıra; çekirdek sayısı, spor duvarı kalınlığı, polar filament sayısı, polar filament çapı, polaroplast şekli, spor büyüklüğü ve hayat döngüsü gibi farklı sistematik karakterler önem arz etmektedir (Larsson, 1986).

TEM mikroskobu ile yapılan incelemelerde patojene ait sporlu keseler (Şekil 7), sporoblast (Şekil 8 ) ve spor (Şekil 8) safhaları tespit edildi. Ultrastrüktürel çalışmalar



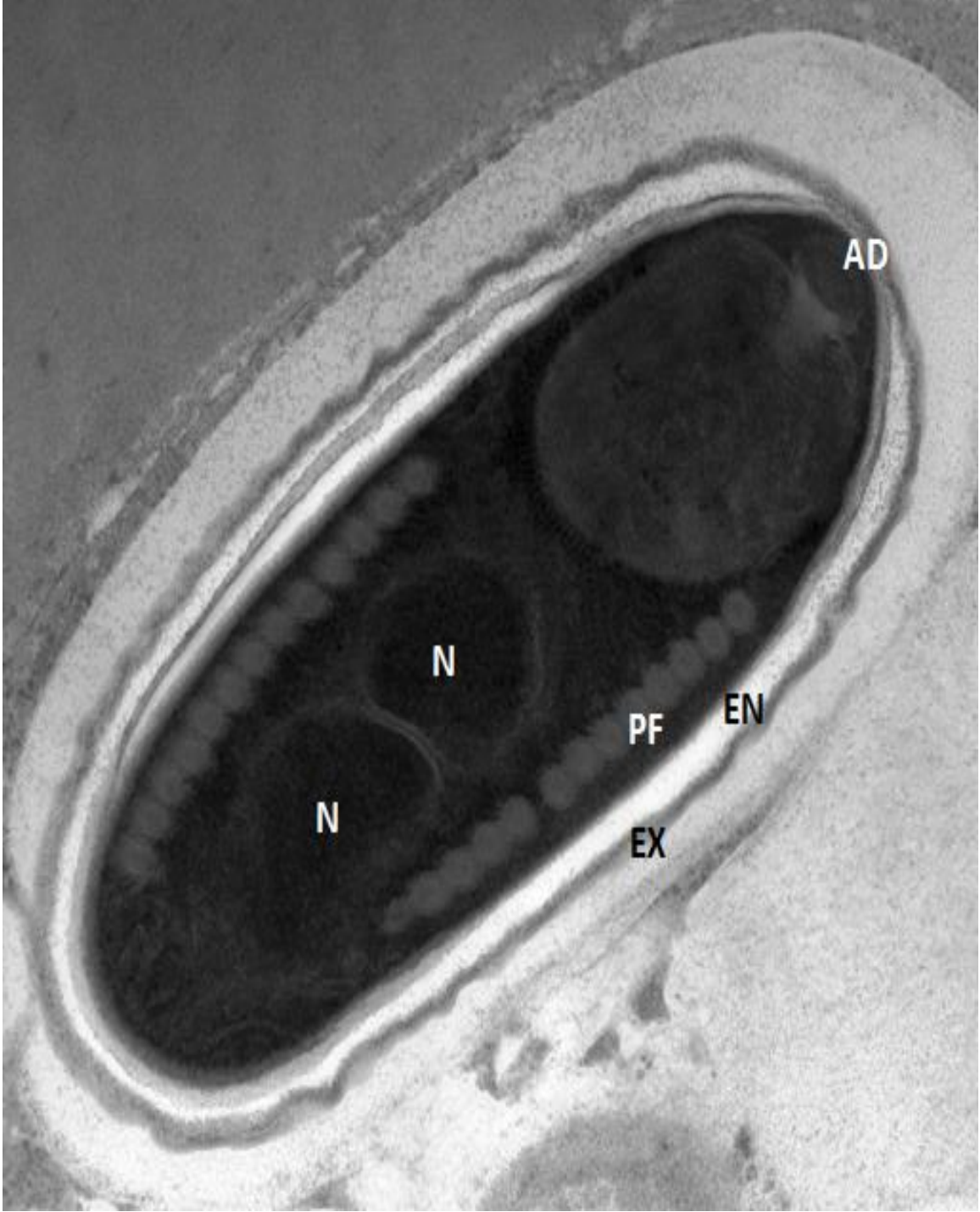
serbest oval sporların iki çekirdekli (Şekil 9), diplokaryotik olduğunu gösterdi. Çekirdek çapları 500-600 nm olarak belirlendi. Spor duvarı nispeten kalın ve 150-200 nm olarak tespit edildi. Spor duvarı ekzospor ve endospor olmak üzere iki tabakan oluşurken, endosporun 125-150 nm, ekzosporun ise 30-50 nm olarak belirlendi (Şekil 9). Mikrosporidyum patojeninin polar filamenti 10-12 kıvrımlı ve izofilar polar filament tipinde belirlendi (Şekil 10). Polar filament çapı 80-100 nm olarak belirlendi. Patojene ait polaroplastın lamellar tip olduğu ve anteriörde ince ve posteriörde düzensiz kalın lamellar tip polaroplast gözlemlendi (Şekil 11).



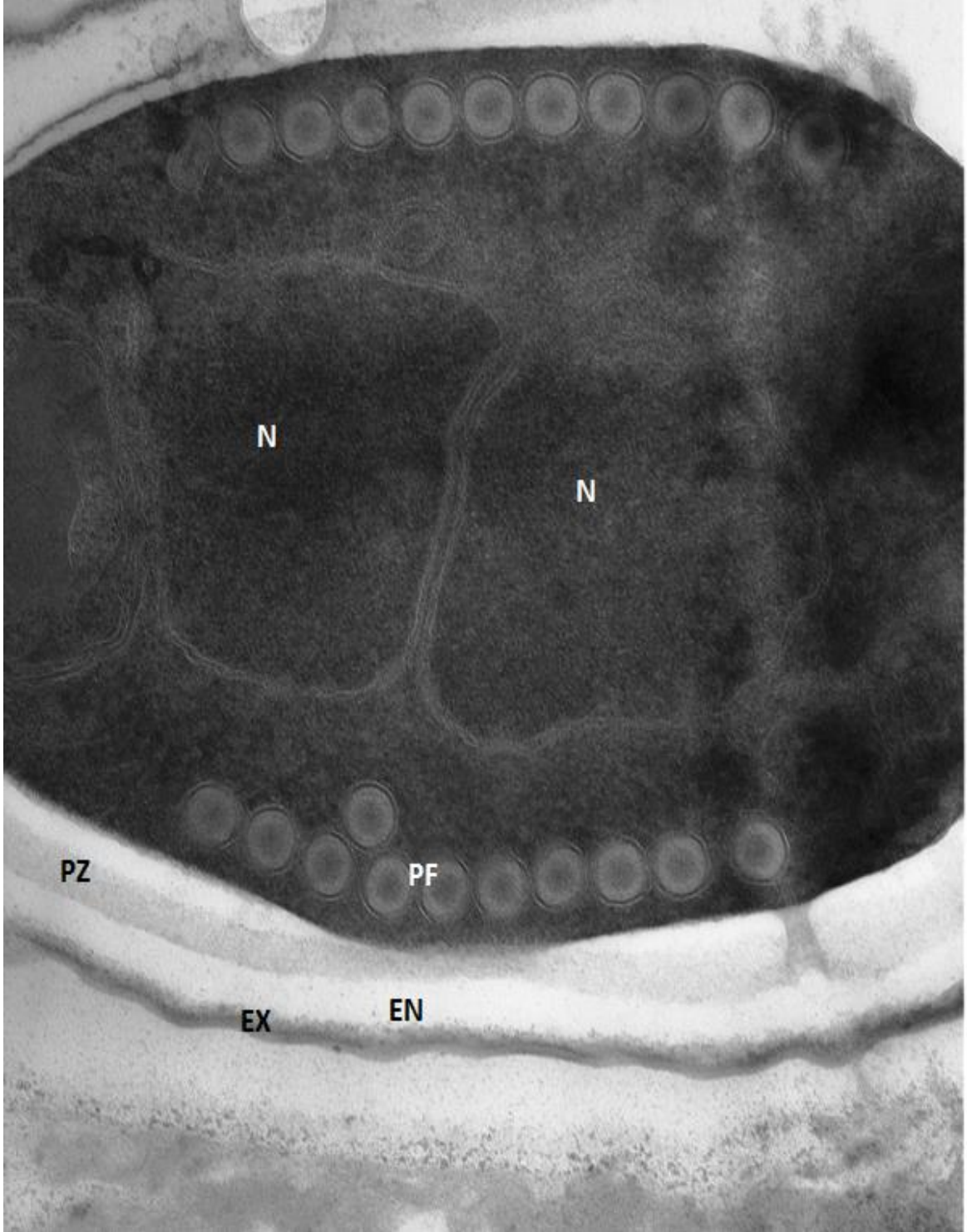
Şekil 7. *P.interpunctella*'da tespit edilen mikrosporidyum patojenine ait spor keseleri ve serbest spor, SK: Spor keseleri, S: Serbest spor, (6300X)



Şekil 8. *P.interpunctella*'da tespit edilen mikrosporidyum patojenine ait sporoblastlar ve serbest spor, SB: Sporoblastlar, S: Serbest spor, (25000X)

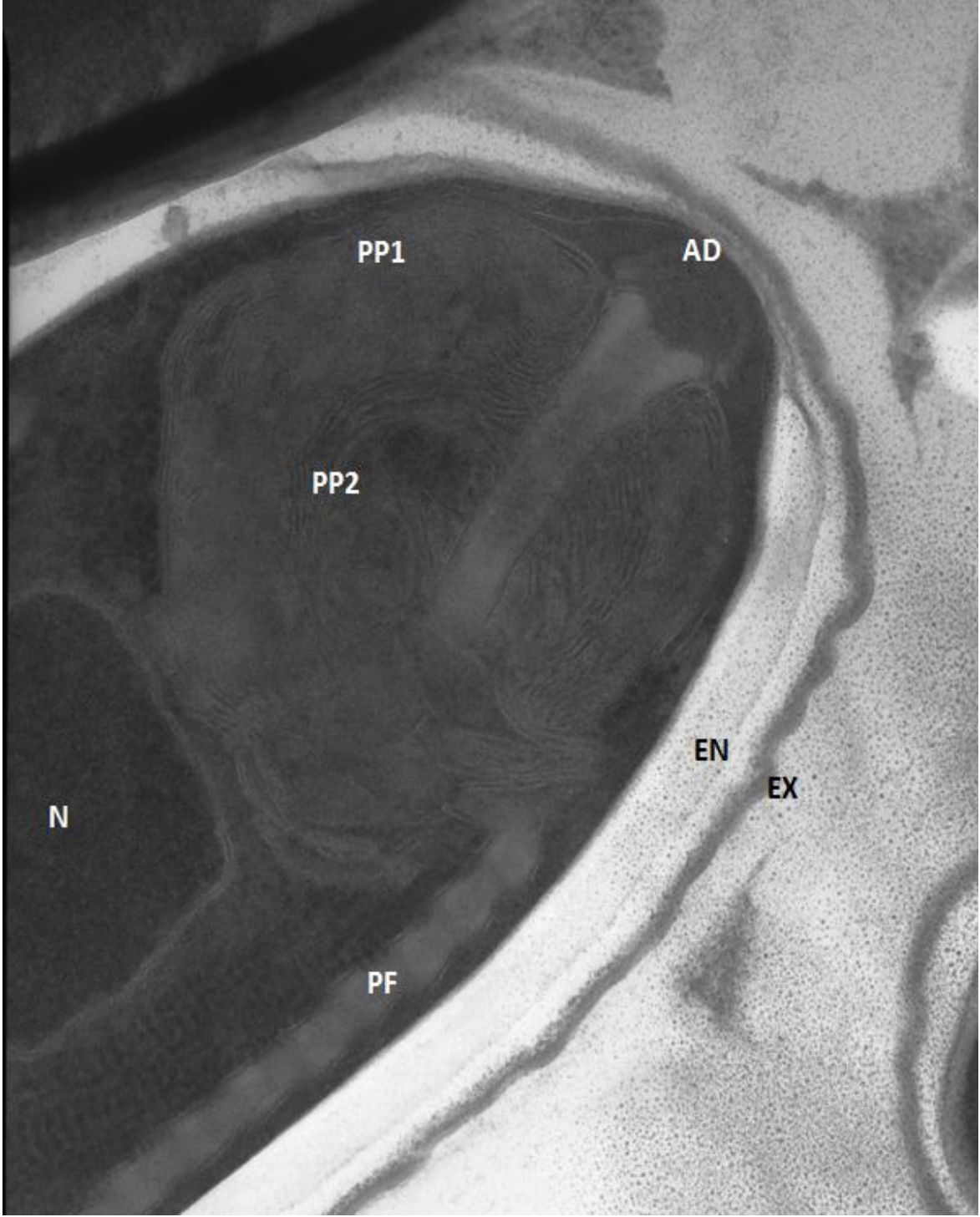


Şekil 9. *P.interpunctella*'da tespit edilen mikrosporidyum patojenine ait spor, EX: Ekzospor, EN: Endospor, PF: Polar filament, AD: Anchoring disk, N: Nukleus, (25000X)



Şekil 10. *P.interpunctella*'da tespit edilen mikrosporidyum patojenine ait hücresel yapı, EX: Ekzospor, EN: Endospor, PZ: Plazma zarı, PF: Polar filament, N: Nukleus, (50000X)

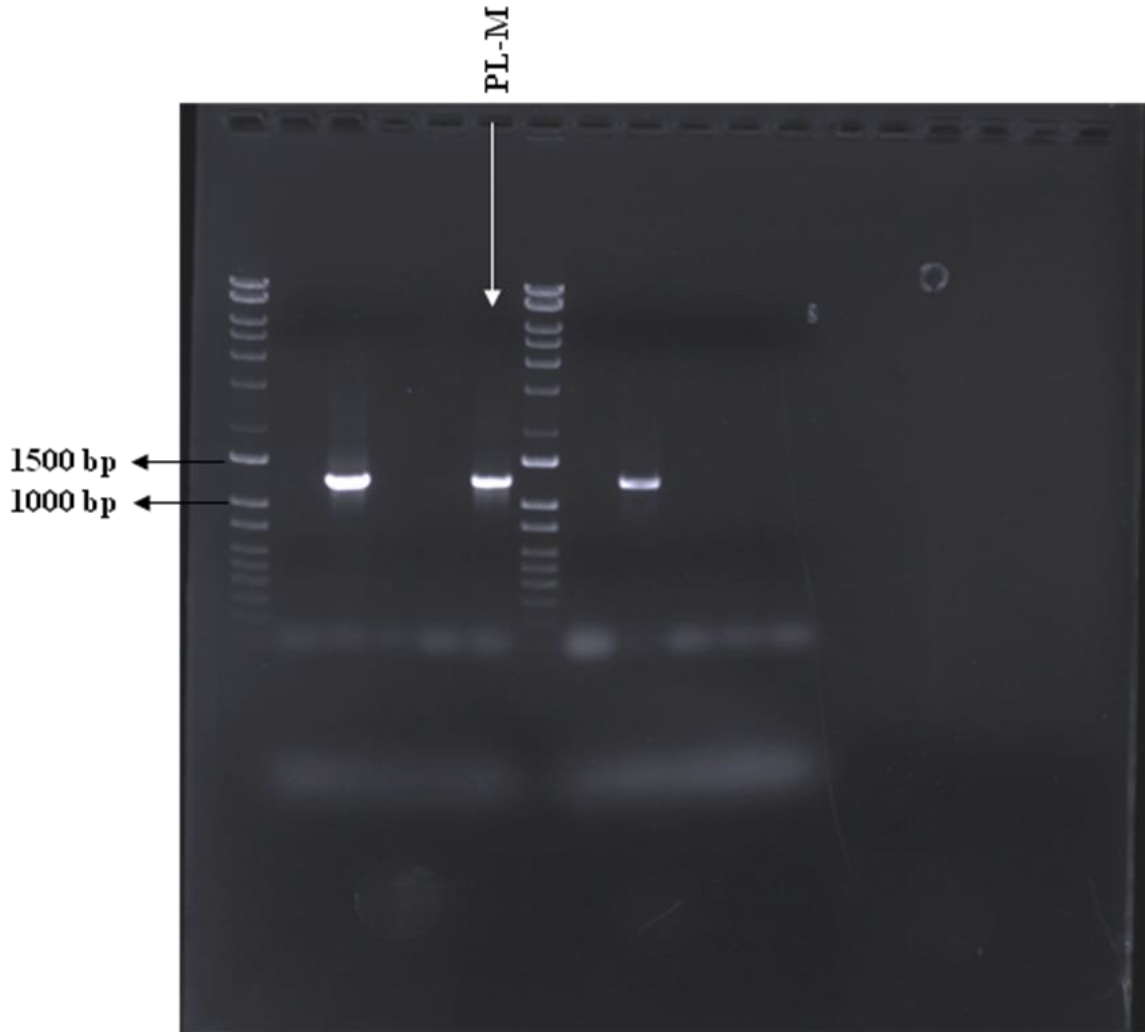




Şekil 11. *P.interpunctella*'da tespit edilen mikrosporidyum patojenine ait sporunun anteriöründeki hücresel yapı, EX: Ekzospore, EN: Endospore, PF: Polar filament, PP1: İnce lamellar tip polaroplast, PP2: Kalın lamellar tip polaroplast, AD: Anchoring disc yapısı N: Nukleus, (40000X)

### 3.1.3. *Plodia interpunctella* Larvalarında Tespit Edilen Mikrospor Patojenin Moleküler Yöntemler ile Karakterizasyonu

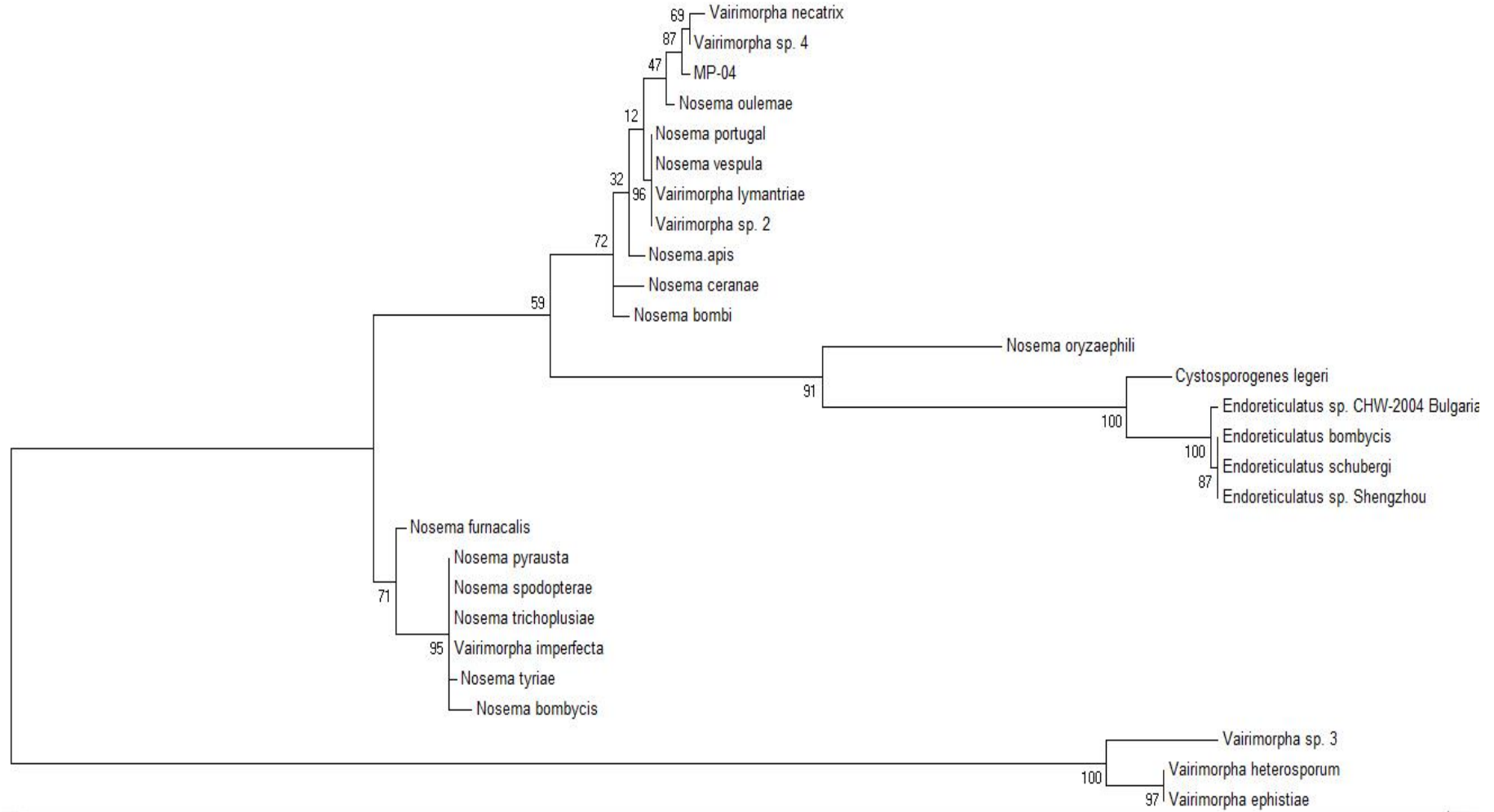
*P. interpunctella*'da tespit edilen mikrospor patojenine ait sporelerden elde edilen total DNA'ya ait 16S SSU rDNA'nın PCR ile primerler kullanılarak çoğaltılması sonucunda mikrospor patojenine ait rDNA'nın 1000 bp ile 1500 bp arasında bir büyüklüğe sahip olduğu belirlendi (Şekil 12).



Şekil 12. *P. interpunctella*'da tespit edilen mikrosporidyum patojenine ait rDNA'nın ssrRNA genine ait agaroz jel görüntüsü (PL-M)

Tespit edilen mikrospor patojeninin literatürdeki, sistematik olarak diğer yakın türlerle ilişkisini kıyaslamak için ssrRNA geninin baz dizin analizi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem MacroGen Inc. firmasına (Hollanda) doğrudan okutularak gerçekleştirildi.

*P. interpunctella*'da tespit edilen mikrospor patojeninin baz dizilimi, sistematik olarak yakın mikrospor türleri ile MEGA 5.0 programı kullanılarak MaximumLikelihood ağaç topolojisi elde edildi. Elde edilen filogenetik ağaç dört ana grup oluşturdu; *Endoreticulatus*, *Vairiomorpha* ve iki tane *Nosema-Vairiomorpha* grupları. *Nosema-Vairiomorpha* türleri birinci ve üçüncü gruplarda yer alırken, *Endoreticulatus* türleri ikinci grupta ve *Vairiomorpha* türleri dördüncü grupta yer aldı. Bu tezde tanımlanan patojen konak ile yakın türlerden elde edilen *Nosema-Vairiomorpha* türlerinin yer aldığı birinci grupta yer aldı. Tespit edilen patojen *Vairiomorpha necatrix* ve *Vairiomorpha* sp. ile yakın bir ilişki kurdu (Şekil 13).



Şekil 13. *P. interpunctella*'da tespit edilen mikrosporidyum patojeninin diğer türler ile olan filogenetik ilişkisi



### 3.2. *Plodia interpunctella*'da Mikrospor Patojeninin Varlığı

Laboratuarda yetiştirilen böcekler ergin çıkışları gözlemlendikten ortalama iki hafta sonra disekte edilmiştir. Ayrıca, saf döl elde etme çalışmaları sırasında üçüncü veya dördüncü gömlek değiştirme dönemlerine geçmeden kendiliğinden ölü bulunan larvaların varlığı görülmüş, bunların diseksiyonları ise günlük olarak gerçekleştirilmiş ve kaydedilmiştir. Çalışmalar boyunca saf döl elde etme çalışmaları da dahil olmak üzere toplam 435 larva ve 261 ergin disekte edilmiştir.

İlk aşamada disekte edilen larvaların sayısı 307'dir ve 194'ünde (% 63,19) mikrospor enfeksiyonu tespit edilmiştir. Laboratuar çalışmalarından elde edilen larvalardaki enfeksiyon oranı fındık ile beslenenlerde % 96,66, tarhana ile beslenenlerde % 93,90, bulgur ile beslenenlerde % 1,25'tir. Pestil ile beslenen larvalarda ise enfeksiyona rastlanmamıştır (Tablo 3).

Tablo 3. Laboratuarda yetiştirilen *P. interpunctella* larvalarındaki mikrospor enfeksiyonu

<b>Besin Kaynağı</b>	<b>Disekte Edilen Larva Sayısı</b>	<b>Enfekte Olan Larva Sayısı</b>	<b>Mikrospor (%)</b>
Fındık	120	116	96,66
Tarhana	82	77	93,90
Bulgur	80	1	1,25
Pestil	25	-	-
<b>TOPLAM</b>	<b>307</b>	<b>194</b>	<b>63,19</b>

Dört farklı besin kaynağı kullanılarak elde edilen 209 ergin bireyin 104'ünde (% 49,76) mikrospor enfeksiyonu kaydedilmiştir. En yüksek enfeksiyon oranı, larvalarda olduğu gibi, % 81,69 ile fındık ile beslenen erginlerde tespit edilmiştir. Bu oran tarhana ile beslenenlerde % 75,43, bulgur ile beslenenlerde % 3,07 ve pestil ile beslenenlerde % 6,25'tir (Tablo 4).

Tablo 4. Laboratuarda yetiştirilen *P. interpunctella* erginlerindeki mikrospor enfeksiyonu

Besin Kaynağı	Disekte Edilen Ergin Sayısı	Enfekte Olan Ergin Sayısı	Mikrospor (%)
Fındık	71	58	81,69
Tarhana	57	43	75,43
Bulgur	65	2	3,07
Pestil	16	1	6,25
<b>TOPLAM</b>	<b>209</b>	<b>104</b>	<b>49,76</b>

### 3.2.1. *Plodia interpunctella*'dan Saf Döl Elde Edilmesi

Saf döl elde etme çalışmaları ile, araştırma süresince laboratuvar ortamında yetiştirilen böceklerden izole edilen mikrospor patojeninin, kuru meyve güvesi *P. interpunctella*'nın üreme ve nesilleri arası geçiş potansiyeli üzerine ne şekilde etki edebileceği ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Yapılan çalışmalarda besin kaynağı olarak, *P. interpunctella* larva ve erginlerinde en yüksek oranda mikrospor enfeksiyonu görüldüğü için fındık kullanılmıştır. Çalışmalar sonucunda iki ayrı saf döl elde edilmiştir. 1. nesilde 113 larva, 2. nesilde ise 15 larva olmak üzere, toplamda 128 larva sağlanmış olup, söz konusu patojenin her iki nesilde mikrospor enfeksiyon oranı % 100'dür. Ayrıca, 1. nesil sonunda elde edilen 52 ergin bireyin 51'inde (% 98,07) mikrospor enfeksiyonu kaydedilirken, 2. nesil sonunda ergin çıkışı gözlemlenememiştir (Tablo 5).

Tablo 5. Saf döl elde etme çalışmaları sonucunda *P. interpunctella* larva ve erginlerindeki mikrospor enfeksiyonu

	Disekte Edilen Larva Sayısı	Enfekte Olan Larva Sayısı	Disekte Edilen Ergin Sayısı	Enfekte Olan Ergin Sayısı	Mikrospor (%)	
					Larva	Ergin
<b>1. Nesil</b>	113	113	52	51	100	98,07
<b>2. Nesil</b>	15	15	-	-	100	-
<b>TOPLAM</b>	<b>128</b>	<b>128</b>	<b>52</b>	<b>51</b>	<b>100</b>	<b>98,07</b>

#### 4. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, önemli bir depo zararlısı olan *P. interpunctella*'da tespit edilen protist patojeni Microspora şubesine ait bir patojendir. Ultrastrüktürel çalışmalar, patojenin polar filament ve polaroplast yapısına sahip olduğunu, bununla birlikte mitokondri içermediğini göstermiştir (Şekil 9). Bu karakterler Mikrospora grubunun temel karakterleri olup sadece bu grup üyelerinde bulunur (Larsson 1986, 1988, 1999; Canning ve Vavra, 2000). Bu nedenle tespit edilen patojenin bir mikrosporidyum olduğu kesindir. Bu mikrosporidyum ülkemizde *P. interpunctella*'da tespit edilen ilk ve tek mikrosporidyumdur.

Tespit edilen mikrosporidyum patojeni üzerinde yapılan morfolojik, ultrastrüktürel ve moleküler çalışmalar patojenin *Vairimorpha* cinsine ait bir patojen olduğu göstermiştir. *Vairimorpha* cinsi biri serbest diplokaryotik, diğeri bir spor kesesi içinde 8 sporlu (oktopor) olmak üzere disporoblastik bir gelişim göstermesiyle karakterize edilir (Malone, 1984). Bu tez süresince, hem serbest diplokaryotik sporlar (Şekil 4, 9) hem de 8 sporlu spor keseleri gözlenmiş (Şekil 5), bu yapılar ışık ve TEM çalışmaları ile gösterilmiştir. İzolatın *Vairimorpha* cinsine ait bir tür olduğu moleküler yöntemler ile de teyit edilmiştir. Literatürde, *P. interpunctella*'dan *Vairimorpha* cinsine ait bir tür kaydı mevcuttur. Bu tür *V. plodiae* olarak isimlendirilmiş; disporoblastik özelliğinden dolayı, ilk olarak *Nosema plodiae* (Kellen ve Lindegren, 1968) olarak, sonra da *Thelohania nana* (Kellen ve Lindegren, 1969) olarak tanımlanmıştır. Daha sonra, sistematiktaki yeri *Vairimorpha plodiae* olarak düzeltilmiştir (Malone ve Canning, 1982).

Bu tez çalışmalarında tespit edilen mikrosporidyumun çoğunlukla konakta yağ doku, malpigi tüpleri (Şekil 3), bağırsak, salgı bezleri gibi doku ve organları enfekte ettiği gözlenmiştir. Doku seçiciliğinde, tespit edilen patojen, *P. interpunctella*'da tespit edilen *V. plodiae* (Kellen ve Lindegren, 1968; Malone, 1984) ile benzerlik göstermektedir. Mikrosporidyumlar için spor morfolojisi ve boyutları türler arasında ve aynı türün farklı coğrafik izolatlarının karşılaştırılmasında önemli bir karakterdir. Bizim tespit ettiğimiz patojen spor ebatları açısından ( $4.48 \pm 0.23 \times 2.21 \pm 0.15 \mu\text{m}$ ) ilk teşhis olan *N. plodiae* ( $4.09 \pm 0.24 \mu\text{m} \times 1.89 \pm 0.74 \mu\text{m}$ ) (Kellen ve Lindegren, 1968)'den ve sonraki düzeltilmiş tür olan *V. plodiae* ( $5.12 \pm 0.05 \mu\text{m} \times 2.90 \pm 0.03 \mu\text{m}$ ) (Malone, 1984)'den

kayda değer oranda farklılık göstermektedir. Ülkemizde tespit ettiğimiz patojen orijinal deskripsiyondan önemli derecede büyük iken, Malone (1984) tarafından kaydedilen iki *V. plodiae* izolatından ( $5.12 \pm 0.05 \mu\text{m} \times 2.90 \pm 0.03 \mu\text{m}$ - *P. interpunctella* ve  $4.86 \pm 0.03 \mu\text{m} \times 2.60 \pm 0.02 \mu\text{m}$ -*Galleria mellonella*) ise küçüktür.

Diğer taraftan filogenetik ilişkiye bakıldığında, tespit ettiğimiz patojen *Vairiomorpha necatrix* ve *Vairiomorpha* sp. ile yakın bir grup oluşturmuştur (şekil 13). *Vairiomorpha plodiae*'nin *V. necatrix* ile bazı benzerlikler gösterdiği belirlenmiştir (Malone, 1984). Bununla birlikte, tespit edilen patojen *Vairiomorpha necatrix* yerine *Vairiomorpha* sp. ile yakın ilişki kurmuştur (şekil 13). Diğer taraftan, *V. plodiae*'nin SSU rRNA genine ait baz sırası hakkında literatürde bir bilgi yoktur. Bu tez çalışmasında, ilk kez *V. plodiae*'nin SSU rRNA genine ait baz sırası belirlenmiştir.

Mikrosporidyumlara ait sporların ultrastrüktürel yapılarına ait karakterler, özellikle yakın türlerin karşılaştırılmasında önemli faydalar sağlamaktadır (Yaman vd., 2005; 2011). Birçok *Vairiomorpha* türünün ultrastrüktürel yapısı detaylı bir şekilde çalışılmıştır (Canning vd., 1999; Vavra vd., 2006). Buna rağmen, *V. plodiae* sporlarının ultrastrüktürel yapısı ile ilgili bir veri yoktur. Orijinal teşhis olan *N. plodiae* o zamanlarda ışık mikroskobu kullanılarak yapılmıştır (Kellen ve Lindegren, 1968). Malone ve Canning (1982) *V. plodiae*'ya ait meront, sporont ve sporoblast safhalarını elektron mikroskobunda detaylı çalışmış, fakat olgun bir spora ait sonuçlara ulaşamamışlardır. *V. plodiae*'ya ait olgun bir sporun ultrastrüktürel yapısı ilk kez bu tez çalışmasında aydınlatılmıştır. Elde edilen bilgiler, yine lepidopterleri enfekte eden literatürdeki yakın diğer *Vairiomorpha* türlerine ait özellikler ile karşılaştırılmıştır.

Ultrastrüktürel çalışmalar, tespit edilen patojene ait sporların 10-12 kıvrımlı polar filamente sahip olduğunu göstermiştir. Mikrosporidyumların sahip oldukları polar filament kıvrım sayısı türlerin karşılaştırılmasında önemli bir taksonomik kriterdir. Bu tezde tanımlanan patojenin polar filament kıvrım sayısı (10-12) Lepidoptera kaynaklı diğer *Vairiomorpha* türlerinden, örneğin *V. necatrix* (10-15 kıvrımlı) (Maddox ve Sprengel, 1978), *V. ephestiae* (14-16 kıvrımlı) (Weiser ve Purrini, 1985) ve *V. imperfecta* (15,5 kıvrımlı) (Canning vd., 1999)'dan belirgin bir şekilde, *V. mesnili* (10-13 kıvrımlı) (Malone ve McIvor, 1996) ve *V. disparis* (11-13 kıvrımlı) (Vavra vd., 2006)'den ise nispeten farklılık göstermektedir (Tablo 6).

Tablo 6. Lepidoptera Takımında Tanımlanan *Vairimorpha* Türleri ve Morfolojik ve Ultrastrüktürel Özellikleri

<i>Vairimorpha</i> Türü	Konak	Spor Ölçümleri	Polar Filament	Referans
<i>Vairimorpha necatrix</i>	<i>Pseudaletia unipunctata</i>	----	10 -15 kıvrımlı	Maddox ve Sprenkel, 1978
<i>Vairimorpha ephestiae</i>	<i>Ephestia küheniella</i>	4,0 × 2,0	14 -16 kıvrımlı	Weiser ve Purrini, 1985
<i>Vairimorpha mesnili</i>	<i>Pieris rapae</i>	3,84 × 1,82	10-13 kıvrımlı	Malone ve McIvor, 1996
<i>Vairimorpha imperfecta</i>	<i>Plutella xylostella</i>	4,3 × 2,0	15,5 kıvrımlı	Canning vd., 1999
<i>Vairimorpha disparis</i>	<i>Lymantria dispar</i>	5,1 × 2,6	11-13 kıvrımlı	Vavra vd., 2006
<i>Vairimorpha plodiae</i>	<i>Plodia interpunctella</i> <i>Galleria mellonella</i>	5,12 × 2,90 4,86 × 2,60	----	Malone, 1984
<i>Vairimorpha plodiae</i>	<i>Plodia interpunctella</i>	4,48 × 2,21	10 -12 kıvrımlı	Tez çalışması

Elde edilen morfolojik, ultrastrüktürel ve moleküler çalışmalara ait veriler ülkemizde *P. interpunctella*'dan tespit edilen mikrosporidyumun, dünyada yine bu zararlıdan izole edilen *Vairimorpha plodiae* ile temel taksonomik karakterlerde benzerlik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu zamana kadar ülkemizde *P. interpunctella*'dan herhangi bir mikrosporidyum kaydı mevcut değildir. Bu tez çalışmasında tanımlanan mikrosporidyum patojeni, ülkemizde *P. interpunctella*'da tespit edilen ilk mikrosporidyum olmasının yanı sıra, aynı zamanda ülkemizde *Vairimorpha* cinsine ait ilk mikrosporidyum türüdür. Bu nedenle tespit edilen patojen, *V. plodiae*'nin bir Türk izolatu olarak belirlenmiştir. Türkiye yedi farklı coğrafik bölgesiyle farklı coğrafik şartlara sahiptir. Literatürde, aynı türün farklı coğrafik izolatlarının farklı insektisidal etki gösterdiği birçok çalışma ile teyit edilmiştir. Bu açıdan bu tez çalışmasında tanımlanan mikrosporidyum ayrı bir değere sahiptir.

Bunun yanı sıra, *Vairimorpha* cinsine ait ilk tür teşhisleri ışık mikroskobu ile yapılan çalışmalara dayandırılmıştır. Bazı önemli türlerin hala ultrastrüktürel özellikleri aydınlatılamamıştır. Bu tez çalışmasında, önemli bir depo zararlısı olan *P.interpunctella*'da hastalık oluşturan *V. plodiae*'nin ultrastrüktürel yapısı ilk kez sunulmuş, diğer mevcut türler ile kıyaslamalarda kullanılmak üzere burada sunulmaktadır. Böylece gereksiz yeni tür tayinlerinin önüne geçilmesine katkı sağlayacaktır.

Mevcut çalışmada, laboratuarda yetiştirilen *P.interpunctella* larvalarında mikrospor enfeksiyonu % 63,19 (Tablo 3) iken, erginlerinde % 49, 76 (Tablo 4) olarak saptanmıştır. Bu oranlar mikrosporidyum patojeninin, kuru meyve güvesinin üreme ve nesilleri arası geçiş potansiyeli üzerinde küçümsenmeyecek bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir. Nitekim, saf döl oluşturulması yoluyla elde edilen 1. ve 2. nesil *P.interpunctella* larvalarında enfeksiyon oranı, çarpıcı bir şekilde, % 100 bulunmuştur (Tablo 5), erginlerinde ise bu oran % 98, 07'dir (Tablo 5). İlâveten, söz konusu mikrosporidyum patojeni esas öldürücü darbesini ise, 2. nesil larvaların tamamından ergin çıkışına ket vurarak yapmıştır (Tablo 5). Literatürde, enfeksiyon oranı ile ilgili Kellen ve Lindegren (1971) tarafından yapılan bir çalışmada, sağlıklı dişilerle çiftleştirilen enfekte erkeklerin nesillerinin % 27'sinde transovaryal olarak enfeksiyon geçişi görülmüştür. Benzer bir diğer çalışmada ise, enfekte dişilerin bıraktıkları yumurtalardan transovaryal olarak en yüksek enfeksiyon taşınımı % 51,8, en düşük ise % 2,3 bulunmuştur (Kellen ve Lindegren, 1973).

Entomopatojenik protistlerin taşınımı, ya solunum veya temas yoluyla hayvandan hayvana gerçekleşen Horizontal Taşınım ya da yumurtadan ergin birey oluşuncaya kadar

ki hayat safhalarını kapsayan Vertikal (Transovaryal) Taşınım yollarıyla gerçekleşir. Bu çalışmada elde edilen bulgular, ülkemizde önemli bir depo ürünü zararlısı olan *P.interpunctella*'da hastalık etmeni olan mikrosporidyum patojeninin, horizontal taşınımın yanı sıra, nesiller arası geçiş gösterdiği için daha çok vertikal taşınım yoluyla bulaşma yaptığını göstermektedir.



## 5. SONUÇLAR

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

1. Lepidoptera takımına ait olan kuru meyve güvesi (*Plodia interpunctella* Lep: Pyralidae) ile biyolojik mücadelede kullanılmak üzere doğal hastalık etmeni mikrospor patojeninin varlığı araştırılmış ve 2010 - 2014 yılları arasında Trabzon, K.T.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji II Laboratuvarında yetiştirilen larva ve erginlerde bir mikrosporidyum patojenine rastlanmıştır.
2. *P. interpunctella*' da tespit edilen mikrosporun morfolojik ve ultrastrüktürel özellikleri, ışık mikroskobu, Giemsa boyama ve elektron mikroskobu (TEM) çalışmaları ile belirlenmiş ve bu patojenin *Vairimorpha* cinsine ait *Vairimorpha plodiae* olduğu saptanmıştır. Bu mikrosporidyum, ülkemizde *P. interpunctella*'da tespit edilen ilk ve tek kayıttır.
3. Tespit edilen mikrosporidyum patojeninin sporları üzerinde yapılan moleküler çalışmalarla bu patojenin *Vairimorpha* cinsine ait, daha önce Malone and Canning (1982) tarafından sistematikteki yeri düzeltilen ve Malone (1984) tarafından tanımlanan *Vairimorpha plodiae* olduğu kanıtlanmış ve mevcut çalışmada, ilk kez *V. plodiae*'nin SSU rRNA genine ait baz sırası belirlenmiştir .
4. Tespit edilen mikrospor ışık mikroskobu, Giemsa boyama ve TEM çalışmaları sonucunda spor ebatları açısından, ilk teşhis olan *Nosema plodiae* (Kellen and Lindegren, 1968) ve sonraki düzeltilmiş tür olan *V. plodiae* (Malone, 1984)'den kayda değer oranda farklılık göstermiştir. Ayrıca, *V. plodiae*'ya ait olgun bir sporun ultrastrüktürel yapısı ilk kez bu tez çalışmasında aydınlatılmıştır.
5. Giemsa boyama yöntemi ve TEM çalışmaları sonucunda elde edilen hayat döngüsü safhaları ve ultrastrüktürel yapı bulguları ve moleküler çalışmalar tespit edilen *V. plodiae*'nin, Lepidoptera kaynaklı diğer *Vairimorpha* türlerinden nispeten farklı olduğunu göstermiştir.
6. Laboratuvarda yetiştirilen *P. interpunctella* larvalarında mikrospor enfeksiyonu % 63,19 iken, erginlerinde % 49, 76 olarak saptanmıştır. Saf döl oluşturulması yoluyla elde edilen 1. ve 2. nesil *P.interpunctella* larvalarında ise enfeksiyon oranı % 100'dür ve 2. nesil sonunda ergin çıkışı gözlemlenememiştir.

7. Mikrospor patojeninin konak spesifitesinin yüksek olması, doğal hastalık oluşturup çevreye ve diğer canlılara zarar vermeden, ekolojik dengeyi koruyarak yalnızca hedef zararlı popülasyon yoğunluğunu azaltması, biyolojik mücadelede bu patojenlerin tercih edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

8. Bu tez çalışmasında tanımlanan mikrosporidyum patojeni, ülkemizde *Plodia interpunctella*'da tespit edilen ilk mikrosporidyum olmasının yanı sıra, aynı zamanda ülkemizde *Vairimorpha* cinsine ait ilk mikrosporidyum türü olması bakımından da büyük önem arz etmektedir . Bu nedenle tespit edilen patojen, *Vairimorpha plodiae*'nin bir Türk izolatu olarak belirlenmiştir.

Bu yüksek lisans tez çalışması ile Türkiye için ilk kez kuru meyve güvesi, *Plodia interpunctella* (Hübner)'da doğal hastalık oluşturan bir mikrosporidyum patojeni tespit edilmekte, karakterizasyonu ve varlığı açıklanmaktadır.

## 6. ÖNERİLER

Dünyada ve ülkemizde depolanmış ürün zararlılarıyla mücadele yaygın olarak kimyasal ilaçlarla yapılmaktadır. Kimyasalların hedef zararlı dışında, çevreye, doğadaki diğer yararlı canlılara ve insan sağlığına olumsuz yöndeki etkileri endişe verici bir durumdur. İstenmeyen bu etkileri ortadan kaldırmak ya da minimum seviyeye indirmek için alternatif mücadele yöntemleri geliştirilmektedir. Sadece kontrol altına alınması ve etkisinin azaltılması gereken zararlıya etki eden, kalıntı ve direnç geliştirme sorunu gibi olumsuzluklar barındırmayan, insan sağlığı, argoekosistem, çevre ve biyolojik dengenin korunarak sürdürülmesini sağlayan biyolojik mücadele yöntemi, tercih edilmesi gereken yöntemlerin başında gelir. Bu yüksek lisans tez çalışması sırasında tespit edilen *Vairimorpha plodiae* patojeni, ülkemiz ve çeşitli dünya ülkeleri için önemli bir besin ve ekonomik kaynak olan depolanmış ürünlerde çok ciddi zararlara neden olan kuru meyve güvesi *Plodia interpunctella* ile mücadelede kimyasal mücadeleye alternatif olarak kullanılmalıdır. Bu amaçla bu mikrosporidyum patojeninin kitle üretimi yapıp patojenite testlerinden geçirildikten sonra gerek çiftçilere gerekse tüzel kişilere ticari şekilde sunulmalıdır. Söz konusu patojenin kullanılmasıyla hem zararlı ile biyolojik mücadele gerçekleştirilmiş hem de kimyasal ilaçların çevreye ve canlılara verdiği zararlı etkilerin de önüne geçilmiş olacaktır. Dar bir alanda sürdürülen arazi çalışmaları ile gerçekleşen bu tez çalışmasının kapsamı genişletilerek tüm Karadeniz Bölgesi'nde ve hatta Türkiye'de depolanmış ürün tesislerinde zarar yapan böceklerde patojen varlığı araştırılabilir. Patojenin larva gelişimine, beslenmeye ve yumurta bırakma gibi faaliyetlerine etkisi araştırılmalıdır. Ayrıca, TEM çalışmaları ile patojenin tüm hayat safhaları çalışılmalıdır. Zararlının larva ve ergin formlarına bioassay deneyleri yapılarak söz konusu mikrospor patojeninin patojenitesi ve konak üzerinde meydana getirdiği semptomlar tespit edilmelidir. Vertikal yolla bulaşma özelliği belirlenen patojenin, horizontal bulaşma potansiyelleri de araştırılabilir. Aynı zamanda bu patojenin başta Pyralidae familyası olmak üzere diğer Lepidoptera takımına ait familya ve türlerde enfeksiyon gerçekleştirip gerçekleştirmediği de çalışılabilecek konular arasındadır. Bu tez çalışmasının ülkemiz için ilk kayıt olması, bu alanda yapılacak olan diğer çalışmalara kaynak olacaktır. Bu çalışma aracılığı ile sunulan bilgiler kullanılarak, diğer depolanmış ürün zararlılarıyla mücadelede yeni patojenik ajanların tespiti mümkün olabilir.

## 7. KAYNAKLAR

- Adler, C., S., 2001. Comparative Efficacy of Modified Atmospheres against Diapausing Larvae of *Plodia interpunctella* and other insects in Durable Products. Donahaye, E., J., Navarro, S. and Leesch J., G. [Eds.]. Proc. Int. Conf. Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, Fresno, CA. Executive Printing Services, Clovis, CA, U.S.A. 17-24.
- Ahmed, M., S., H., 1991. Irradiation disinfestation and packaging of dates. Insect Disinfestation of Food and Agricultural Products by Irradiation. IAEA, Vienna, 7-26.
- Ahmed, M., 2001. Disinfestations of stored grains, pulses, dried fruits and nuts, and other dried foods. In: Molins, R. (Ed.), Food Irradiation Principles and Applications. Wiley, New York, 77-112.
- Alaoğlu, Ö., 1989. *Bacillus thuringiensis*'in Depolanmış Tahıllardaki Lepidoptera Larvalarının Mücadelesinde Kullanılması. Atatürk Ü. Zir. Fak. Der., 144-155.
- Allotey, J. ve Goswami, L., 1990. Comparative biology of two phycitid moths, *Plodia interpunctella* (Hübner) and *Ephestia cautella* (Wlk.) on some selected food media. Insect Science and its Application, 11, 209-215.
- Argobast, R., T. ve Müllen, M., A., 1978. Spatial distribution of eggs by ovipositing Indianmeal moths, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). Researches on Population Ecology, 19, 148-154.
- Arbogast, R., T., Kendra, P., E., Mankin, R., W. ve McDonald, R., C., 2002. Insect infestation of a botanicals warehouse in north-central Florida. Journal of Stored Products Research, 38, 349-363.
- Argobast, R., T., 2007. A wild strain of *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) from farm-stored maize in South Carolina: Development under different temperature, moisture, and dietary conditions. Journal of Stored Products Research, 43, 160-166.
- Arthur, F., H., Zettler, J., L. ve Halliday, W., R., 1988. Insecticide resistance among populations of almond moth and Indianmeal moth, (Lepidoptera: Pyralidae) in stored peanuts. Journal of Economic Entomology, 81, 1283-1287.
- Arthur, F., H., 1989b. Pests of stored peanuts: toxicity and persistence of chlorpyrifos-methyl. Journal of Economic Entomology, 82, 660-664.
- Arthur, F., H., 1994. Efficacy of cyfluthrin, cyfluthrin + piperonyl butoxide, cyfluthrin + piperonyl butoxide +chlorpyrifos-methyl as protectants of stored peanuts. Peanut Science, 21, 44-48.

- Arthur, F., H., 1995. Susceptibility of 5th instar Indianmeal moth and almond moth (Lepidoptera: Pyralidae) to cyfluthrin residues on peanuts. Journal of Entomological Science, 30, 318–323.
- Arthur, F., H., 1996. Grain protectants: current status and prospects for the future. Journal of Stored Products Research, 32, 293–302.
- Arthur, F., H. ve Phillips, T., W., 2003. Stored-product insect pest management and control. In: Hui, Y.H., Bruinsma, B.L., Gorham, J.R., Nip, W.K., Tong, P.S., Ventresca, P. (Eds.), *Food Plant Sanitation*. Marcel Dekker, New York, 341–358.
- Attia, F., I., 1977. Insecticide resistance in *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in New South Wales, Australia. Journal of Australian Entomological Society, 16, 149–152.
- Attia, F., I., 1981. Insecticide resistance in pyralid moths of grain and stored products. General and Applied Entomology, 13, 3–8.
- Ayvaz, A., Albayrak, S. ve Karaborklu, S., 2008. Gamma radiation sensitivity of the eggs, larvae and pupae of Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). Pest Management Science, 64, 505–512.
- Ayvaz, A., Sağdıç, O., Karaborklu, S. ve Öztürk, İ., 2010. Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. 13pp. Journal of Insect Science, 10, 1-13.
- Becnel, J., J., 1997. Complementary Techniques: Preparations of Entomopathogens and Diseased Specimens for more Detailed Study using Microscopy. In: “Manual of Techniques in Insect Pathology” (L. A. Lacey, ed), Academic Press., 337-353.
- Bell, C., H., 1975. Effects of temperature and humidity on development of four pyralid moth pests of stored products. Journal of Stored Products Research, 11, 167-175.
- Boots, M. ve Begon, M., 1995. Strain differences in the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*, in response to a granulosis virus. Researches on Population Ecology, 37, 37–42.
- Borsa, J. ve Iverson, S., L., 1993. Cost and benefits of grain disinfestation and poultry and shrimp decontamination using 10-mev electron accelerators. In: *Cost–Benefit Aspect of Food Irradiation Processing*. IAEA, Vienna, 233–241.
- Boxall, R., A., 2001. Post-harvest losses to insect a world overview. International Biodeterioration&Biodegradation 48, 137-152.

- Brady, U., E., Tumlinson III, J., H., Brownlee, R., G. ve Silverstein, R., M., 1971. Sex stimulant and attractant in the Indian meal moth and in the almond moth. Science, 171, 802–804.
- Brooks, W., M., Becnel, J., J. ve Kennedy, G., G., 1988. Establishment of *Endoreticulatus* n. g. for *Pleistophora fidelis* (Hostounsky and Weiser, 1975) based on the ultrastructure of a microsporidium in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). J. Protozool., 35, 481–488.
- Büda, V. ve Peciulyte, D., 2008. Pathogenicity of four fungal species to Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). EKOLOGIJA, 54, 265-270.
- Canning, E., U., Curry, A., Cheney, S., LaFranchi-Tristem, N., J. ve Haque, M., A., 1999. *Vairimorpha imperfecta* n. sp., a microsporidian exhibiting an abortive octosporous sporogony in *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae). Parasitology, 119, 273–286.
- Canning, E., U. ve Vavra, J., 2000. Phylum Microsporida. In: (Eds. J.J. Lee, G.F. Leedale and P. Bradbury), *The Illustrated Guide to The Protozoa*, Allen Press Inc., Lawrence, 39-126.
- Chaudhry, M., Q., 1997. A review of the mechanisms involved in the action of phosphine as an insecticide and phosphine resistance in stored product insects. Pesticide Science, 49, 213–228.
- Codex Alimentarius, 1984. Codex general standards for irradiated foods and recommended international code of practice for the operation of radiation facilities used for the treatment of foods. Codex Alimentarius, 15. Codex Alimentarius Commission, FAO, Rome.
- Cox, P., D., 2004. Potential for using semiochemicals to protect stored products from insect infestation. Journal of Stored Products Research, 40, 1–25.
- Erickson, B., W., Jr. ve Blanquet, R., S., 1969. The occurrence of chitin in the spore wall of *Glugea weissenbergi*. J. Invertebr. Pathol., 14, 358-364.
- FAO ., 1992. Pesticide residues in food. Report no. 116, 146.
- Fasulo, T., R. ve Knox, M., A. Indianmeal Moth, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae). University of Florida Featured Creatures. [http://entnemdept.ufl.edu/creatures/urban/stored/indianmeal\\_moth.htm](http://entnemdept.ufl.edu/creatures/urban/stored/indianmeal_moth.htm) . 04.05. 2014.
- Ferizli, A., G. ve Emekçi, M., Depolanmış Ürün Zararlılarıyla Savaşım, Sorunlar ve Çözüm Yolları. [http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/19fec2f129fbdba\\_ek.pdf](http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/19fec2f129fbdba_ek.pdf). 03.05. 2014.
- Fields, P., G., 1992. The control of stored-product insects and mites with extreme temperatures. Journal of Stored Products Research, 28, 89–118.

- Grieshop, M., J., 2005. Evaluation of three species of *Trichogramma* egg parasitoids for biological control of the Indian meal moth in warehouses and retail stores. Ph.D. Thesis, Kansas State University, 227 pp.
- Grieshop, M., J., Flinn, P., W. ve Nechols, J., W., 2006. Biological control of Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) on finished stored products using eggs and larval parasitoids. Journal of Economic Entomology, 99, 1080–1084.
- Grieshop, M., J., Flinn, P., W. ve Nechols, J., W., 2008. Effects of fine-grain habitat complexity on egg parasitism by three species of *Trichogramma*. Biological Control, 45, 328–336.
- Hargitai, P., L., Kovacs, A., V. ve Stevko, M., 1993. Results of a feasibility study on grain disinfestation by an accelerator. In: Cost–Benefit Aspects of Food Irradiation Processing: Proceedings of an International Symposium on Cost–Benefit Aspects of Food Irradiation Processing. IAEA, Vienna, 223–232.
- Harvey, J., A. ve Thompson, D., J., 1995. Developmental interactions between the solitary endoparasitoid *Venturia canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae), and two of its hosts, *Plodia interpunctella* and *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae). Eur. J. Entomol., 92, 427–435.
- Hayashi, T., Imamura, T., Todoriki, S., S., Miyanoshita, A. ve Nakakita, H., 2004. Soft Electron Treatment as a Phytosanitary Measure for Stored Product Pests. [http://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/te\\_1427\\_web.pdf#page=74](http://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/te_1427_web.pdf#page=74). 04.05. 2014.
- Hazard. E., I., Fukuda, T. ve Becnel, J., J., 1984. Life cycle of *Culicosporella lunata* (Hazard ve Savage, 1970) Weiser, 1977 (Microspora) as revealed in the light microscope with a redescription of the genus and species, J. Protozool., 31, 385–391.
- Hazard, E., I., Fukuda, T. ve Becnel, J., J., 1985. Gametogenesis and plasmogamy in certain species of Microspora, J. Invertebr. Pathol., 46, 63–69.
- Herrero, S., Oppert, B. ve Ferre, J., 2001. Different mechanisms of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in the Indianmeal moth. Applied and Environmental Microbiology, 67, 1085–1089.
- Hoch, G., Pilarska, D., K. ve Dobart, N., 2009. Effect of midgut infection with the microsporidium *Endoreticulatus schubergi* on carbohydrate and lipid levels in *Lymantria dispar* larvae. J Pest Sci, 82, 351–356.
- Hylis, M., Weiser J., Oborník, M., J. ve Vavra, J., 2005. DNA isolation from museum and type collection slides of microsporidia. Journal of Invertebrate Pathology, 88, 257–260.

- Johnson, D., E., Brookhart, G., L., Kramer, K., J., Barnett, B., D. ve McGaughey, W., H., 1990. Resistance to *Bacillus thuringiensis* by the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*: comparison of midgut proteinases from susceptible and resistant larvae. Journal of Invertebrate Pathology, 55, 235–244.
- Johnson, J., A., Wofford, P., L. ve Whitehand, L., C., 1992. Effect of diet and temperature on development rates, survival and reproduction of the Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Economic Entomology, 85, 561-566.
- Johnson, J., A., Wofford, P., L. ve Gill, R., F., 1995. Developmental thresholds and degree-day accumulations of Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) on dried fruits and nuts. Journal of Economic Entomology, 88, 734-741.
- Johnson, J., A., Valero, K., A. ve Hannel, M., M., 1997. Effect of low temperature storage on survival and reproduction of Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae). Crop Protection, 16, 519–523.
- Jones, O., T., 1998. Practical applications of pheromones and other semiochemicals. In: House, P.E., Stevens, I.D.R., Jones, O.T. (Eds.), *Insect Pheromones and their Use in Pest Management*. Chapman & Hall, London, 263–355.
- Joudrey, P. ve Bjørnson, S., 2007. Effects of an unidentified microsporidium on the convergent lady beetle, *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville (Coleoptera: Coccinellidae), used for biological control, J. Invertebr. Pathol., 94, 140-143.
- Karnovsky, M., J., 1971. Use of ferrocyanide-reduced osmium tetroxide in electron microscopy. In: Proc. 14th Ann. Meet. Am. Soc. Cell Biol., 146.
- Kellen, W., R. ve Lindegren J., E., 1968. Biology of *Nosema plodiae* sp. n., a Microsporidian Pathogen of the Indian-Meal Moth, *Plodia interpunctella* (Hübner), (Lepidoptera:Phycitidae). Journal of Invertebrate Pathology, 11, 104-111.
- Kellen, W., R. ve Lindegren J., E., 1969. Host-Pathogen Relationships of Two Previously Undescribed Microsporidia from the Indian-Meal Moth, *Plodia interpunctella* (Hübner), (Lepidoptera: Phycitidae). Journal of Invertebrate Pathology, 14, 328-335.
- Kellen, W., R. ve Lindegren J., E., 1971. Modes of transmission of *Nosema plodiae* Kellen and Lindegren, a pathogen of *Plodia interpunctella* (Hübner). Journal of Stored Products Research, 7, 31–34.
- Kellen, W., R. ve Lindegren J., E., 1973. Transovarian transmission of *Nosema plodiae* in the Indian-meal moth, *Plodia interpunctella*. Journal of Invertebrate Pathology, 21, 248-254.
- Kıvan, M. ve Karsavuran, Y., 1991. Effect of the food on the larval development of *Plodia interpunctella* (Hübner), (Lepidoptera:Phycitidae). Türk. entomol.derg., 15, 113-116 (In Turkish).



- Kraszpulski, P. ve Davis, R., 1988. Interactions of a parasite, *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae), and a predator, *Xylocoris flavipes* (Hemiptera: Anthocoridae), with populations of *Tribolium castaneum* and *Plodia interpunctella*. Am. Midl. Nat., 119, 71-76.
- Kunstadt, P. ve Steeves, C., 1993. Economics of food irradiation. In: Cost-Benefit Aspects of Food Irradiation Processing: Proceedings of an International Symposium on Cost-Benefit Aspects of Food Irradiation Processing. IAEA, Vienna, pp. 395-416.
- Kuwahara, Y. ve Casida, J., E., 1973. Quantitative analysis of the sex pheromone of several phycitid moths by electroncapture gas chromatography. Agric. Biol. Chem., 37, 681-684.
- Kuwahara, Y., Kitamura, C., Takahashi, S., Hara, H., Ishii, S. ve Fukami, H., 1971. Sex pheromone of the Almond moth and the Indian Meal moth: cis-9, trans-12-Tetradecadienyl Acetate. Science, 171, 801-802.
- Larsson, R., 1982. Cytology and taxonomy of *Helmichia aggregata* gen. et sp. nov. (Microspora, Thelohaniidae), a parasite of *Endochironomus* larvae (Diptera, Chironomidae), Protistologica, 18, 355-370.
- Larsson, J., I., R., 1986. Ultrastructure, function, and classification of microsporidia. Progress in Protistology, 1, 325-390.
- Larsson, J., I., R., 1988. Identification of microsporidian genera (Protozoa, Microspora) - a guide with comments on the taxonomy. Archiv für Protistenkunde, 136, 1-37.
- Larsson, J., I., R., 1999. Identification of microsporidia. Acta Protozoologica, 38, 161-197.
- Lewthwaite, S., E., Dentener, P., R., Alexander, S., M., Bennett, K., V., Rogers, D., J., MainDonald, J., H. ve Connolly, P., G., 1998. High temperature and cold storage treatments to control Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner). Journal of Stored Products Research, 34, 141-150.
- Maddox, J., V. ve Sprenkel, R., K., 1978. Some enigmatic microsporidia of the genus *Nosema*. Misc. Publ. Entomol. Soc. Am., 11, 65-84.
- Malone, L., A. ve Canning, E., U., 1982. Fine structure of *Vairimorpha plodiae* (Microspora: Burenellidae), a pathogen of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Phycitidae) and infectivity of the dimorphic spores. Protistologica, 18, 503-516.
- Malone, L., A., 1984. A comparison of the development of *Vairimorpha plodiae* and *Vairimorpha necatrix* in the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*. Journal of Invertebrate Pathology, 43, 140-149.
- Malone, L., A. ve McIvor, C., A., 1996. Use of nucleotide sequence data to identify a microsporidian pathogen of *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae). J. Invertebr. Pathol., 68, 231-238.

- Marcotte, M., 1993. United Nations Environment Programme Methyl Bromide Technical Options Committee. Food Irradiation Newsletter, 17, 27–32.
- Mbata, G., N. ve Osuji, F., N., C., 1983. Some aspects of the biology of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) a pest of stored groundnuts in Nigeria. Journal of Stored Products Research, 19, 141–151.
- Mbata, G., T., 1985. Some physical and biological factors affecting oviposition by *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Phycitidae). Insect Science and its Application, 6, 597-604.
- Mbata, G., N. ve Shapiro-Ilan, D., I., 2010. Compatibility of *Heterorhabditis indica* (Rhabditida: Heterorhabditidae) and *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) for biological control of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). Biological Control, 54, 75–82.
- McGaughey, W., H. ve Johnson, D., E., 1992. Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) resistance to different strains and mixtures of *Bacillus thuringiensis*. Journal of Economic Entomology, 85, 1594–1600.
- Mohandass, S., Arthur, F., H. ve Zhu, K., Y. ve Throne, J.E., 2006a. Hydroprene prolongs developmental time and increases mortality of Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) eggs. Journal of Economic Entomology, 99, 1007–1016.
- Mohandass, S., Arthur, F., H. ve Zhu, K., Y. ve Throne, J.E., 2006b. Hydroprene prolongs developmental time and increases mortality in wandering-phase Indianmeal Moth (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. Journal of Economic Entomology, 99, 1509–1519.
- Mohandaas, S., Arthur, F., H., Zhu, K., Y. ve Throne, J., E., 2007. Biology and management of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in stored products. Journal of Stored Products Research, 43, 302-311.
- Müllen, M., A. ve Argobast, R., T., 1977. Influence of substrate on oviposition by 2 species of stored product moths. Environmental Entomology, 6, 641-644.
- Nansen, C. ve Phillips, T., W., 2003. Ovipositional responses of the Indianmeal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) to oils. Annals of the Entomological Society of America, 96, 524-531.
- Nansen, C. ve Phillips, T., W., 2004. Attractancy and toxicity of an attracticide for Indianmeal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Economic Entomology, 97, 703–710.
- Oluwafemi, A., R., Rao, Q., Wang, X., Q. ve Zhang, H., Y., 2009. Effect of *Bacillus thuringiensis* on *Habrobracon hebetor* during combined biological control of *Plodia interpunctella*. Insect Science, 16, 409-416.

- Özyardımcı, B., Çetinkaya, N., Denli, E., İç, E. ve Alabay, M., 2006. Inhibition of egg and larval development of the Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) and almond moth *Ephestia cautella* (Walker) by gamma radiation in decorticated hazelnuts. Journal of Stored Products Research, 42, 183-196.
- Petri, M. ve Schiødt, T., 1966. On the ultrastructure of *Nosema cuniculi* the cells of the Yoshida rat *Ascites sarcoma*, Acta path. microbiol. scand., 66, 437-446.
- Phillips, T., W., Berbert, R., C. ve Cuperus, G., W., 2000a. Post-harvest integrated pest management. In: Francis, F.J. (Ed.), Encyclopedia of Food Science and Technology. 2nd ed. Wiley Inc., New York, 2690–2701.
- Phillips, T., W., Cogan, P., M. ve Fadamiro, H., Y., 2000b. Pheromones. In: Subramanyam, B., Hagstrum, D., W. (Eds.), Alternatives to Pesticides in Stored-product IPM. Kluwer Academic Publishers, London, 273–302.
- Press, J., W., Flaherty, B., R. ve Arbogast, R., T., 1974. Interactions among *Plodia interpunctella*, *Bracon hebetor* and *Xylocoris flavipes*. Environmental Entomology, 3, 183–184.
- Ramos-Rodríguez, O., Campbell, J., F. ve Ramaswamy, S., B., 2007. Efficacy of the entomopathogenic nematode *Steinernema riobrave* against the stored-product insect pests *Tribolium castaneum* and *Plodia interpunctella*. Biological Control, 40, 15–21.
- Reynolds, E., S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy, J. Cell Biol., 17, 208–212.
- Roesli, R., Subramanyam, B., Fairchild, F., J. ve Behnke, K., C., 2003. Trap catches of stored-product insects before and after heat treatment in a pilot feed mill. Journal of Stored Products Research, 39, 521–540.
- Saejeng, A., Tidbury, H., Siva-Jothy, M., T. ve Boots, M., 2010. Examining the relationship between hemolymph phenoloxidase and resistance to a DNA virus, *Plodia interpunctella* granulosis virus (PiGV). Journal of Insect Physiology, 56, 1232-1236.
- Sait, S., M., Andreev, R., A., Begon, M., Thompson, D., J., Harvey, J., A. ve Swain, R., D., 1995. *Venturia canescens* parasitizing *Plodia interpunctella*: host vulnerability - a matter of degree. Ecol. Entomol., 20, 199-201.
- Sait, S., M., Begon, M., Thompson, D., J. ve Harvey, J., A., 1996. Parasitism of baculovirus-infected *Plodia interpunctella* by *Venturia canescens* and subsequent virus transmission. Funct Ecol, 10, 586–591.
- Schaafsma, A., W., 1990. Resistance to malathion in populations of Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). Proceedings of the Entomological Society of Ontario, 121, 101–104.

- Schöller, M. ve Flinn, P., W., 2000. Parasitoids and predators. In: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (Eds.), *Alternatives to Pesticides in Stored-product IPM*. Kluwer Academic Publishers, Norwell, MA, pp. 229–271.
- Schulten, G., G., M. ve Roorda, F., A., 1984. Storage insects in imported products mainly of tropical origin. Entomologische Berichten, 44, 65–69.
- Sedlacek, J., D., Weston, P., A. ve Barney, J., 1996. Lepidoptera and Psocoptera. In: Subramanyam, B., Hagstrum, D., W. (Eds.), *Integrated Management of Insects in Stored Products*. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 41-70.
- Shojaaddini, M., Lopez, M., J., Moharramipour, S., Khodabandeh, M., Talebi, A., A., Vilanova, C., Latorre, A. ve Porcar, M., 2012. A *Bacillus thuringiensis* strain producing epizootics on *Plodia interpunctella*: A case study. Journal of Stored Products Research, 48, 52-60.
- Soderstrom, E., L., Brandl, D., G., Vick, K., W. ve Coffelt, J., A., 1980. Evaluation of synthetic sex pheromone. *Insecticide Acaricide Tests*, 5, 207-208.
- Sower, L. L., Vick, K., W. ve Tumlinson, J., H., 1974. (Z,E)- 9,12-Tetradecadien-1-ol: a chemical released by female *Plodia interpunctella* that inhibits the sex pheromone response of male *Cadra cautella*. Environ. Entomol., 3, 120-122.
- Subramanyam, B. ve Hagstrum, D., W., 1996. Resistance measurement and management. In: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (Eds.), *Integrated Management of Insects in Stored Products*. Marcel Dekker, Inc., New York, 331–397.
- Sumner, W., A., Harein, P., K. ve Subramanyam, B., 1988. Malathion resistance in larvae of some southern Minnesota USA populations of the Indian meal moth *Plodia interpunctella*, (Lepidoptera: Pyralidae) infesting bulk-stored shelled corn. Great Lakes Entomologist, 21, 133–138.
- T.C. Resmi Gazete, Metil Bromür'ün Tarımda Kullanımının Azaltılması Hakkında Yönetmelik. (24088), 23.06.2000, 20-29.
- T.C. Resmi Gazete, Metil Bromür'ün Tarımda Kullanımının Azaltılması Hakkında Yönetmelikte Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik. (25427), 08.04.2004.
- TAGEM, 2008, Zirai Mücadele Teknik Talimatları. Cilt 1, Başak Matbaacılık ve Tan. Hiz. Ltd. Şti., Ankara, 283 s.
- Tanada, Y. ve Kaya, H., K., 1993. Protozoan infection: Apicomplexa, Microspora. In: *Insect Pathology*, Academic Press, San Diego, 414-458.
- Teal, P., E., A., Heath, R., R., Dueben, B., D., Coffelt, J., A. ve Vick, K., W., 1995. Production and release of (Z,E)-9,12- Tetradecadienal by sex pheromone glands of female *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). J. Chem. Ecol., 21, 787-800.

- Toguebaye, B. S., Marchand, B. ve Bouix, G., 1988. Microsporidia of *Chrysomelidae*, pp. 399-416 in: Petitpierre E., Hsiao T.H., Jolivet P.H. (eds), *Biology of Chrysomelidae*. Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Trdan, S., Kač, M., Vidrih, M. ve Laznik, Z., 2010. Seasonal Dynamics of three lepidopteran stored grain pests in Slovenia. 10<sup>th</sup> International Working Conference on Stored Product Protection. *Julius-Kühn-Archiv*, 425, 197-201.
- Tunç, İ., Berger, B., M., Erler, F. ve Dağlı, F., 2000. Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-products insects. Journal of Stored Products Research, 36, 161-168.
- Turanlı, F., 2003. Studies on infestation levels of pests on dried fig in Aydın and İzmir Provinces. Türk. Entomol.derg., 27, 171-180 (In Turkish).
- Türk, S. ve Doğruman-Al, F., 2009. *Microsporidia*: Genel Özellikleri ve Güncel Laboratuvar Tanısı. İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection), 23, 89-95.
- Undeen, A. ve Vavra, J., 1997. Research methods for entomopathogenic protozoa. *Manual of Techniques in Insect Pathology*, Academic Press, San Diego. 117-151.
- UNEP, 1995. Montreal Protocol on substances that deplete the ozone layer. 1994 Report of the Methyl Bromide Technical Options Committee. 1995 Assessment. UNEP, Nairobi, Kenya, 304pp. ISBN 92- 807-1448-1448-1.
- URL-1, <http://www.tim.org.tr/tr/ihracat-ihracat-rakamlari-tablolar.html>. 3 Mayıs 2014.
- URL-2, <http://kutluilaclama.com.tr/tr/Ambar-Zararlilari-Ile-Mucadele> . 3 Mayıs 2014.
- URL-3, [http://en.wikipedia.org/wiki/Indianmeal\\_Moth](http://en.wikipedia.org/wiki/Indianmeal_Moth) . 6 Mayıs 2014.
- URL-4,  
<http://extension.entm.purdue.edu/radicalbugs/images/pests/larva/indianMealMothLarva.jpg> . 6 Mayıs 2014.
- URL-5,  
<http://extension.entm.purdue.edu/radicalbugs/images/pests/adult/indianMealMothAdult.jpg> . 6 Mayıs 2014.
- Vail, P., V., Tebbets, J., S., Cowan, D., C. ve Jenner, K., E., 1991. Efficacy and persistence of a Granulosis virus against infestations of *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) on raisins. Journal of Stored Products Research, 27, 103–107.
- Vail, P., V., D., F. ve Tebbets, J., S., 1993. Autodissemination of *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) granulosis virus by healthy adults. Journal of Stored Products Research, 29, 71–74.

- Van-Rie, J., McGaughey, W., H., Johnson, D., E., Barnett, B., D. ve Van-Mellaer, T., H., 1990. Mechanism of insect resistance to the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*. Science, 247, 72–74.
- Vavra, J., 1976b. Development of the microsporidia. In: Bulla, L.A. Jr. ve Cheng, T.C, eds., Comparative Pathobiology. Plenum Press, New York and London, 1, 87-109.
- Vavra, J., Hylis, M., Vossbrinck, C., R., Pilarska, D., Linde, A., Weiser, J., Mcmanus, M., L., Hoch, G. ve Solter, L., F., 2006. *Vairimorpha disparis* n. comb. (Microsporidia: Burenellidae): a redescription and taxonomic revision of *Thelohania disparis* Timofejeva 1956, a microsporidian parasite of the gypsy moth *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae). J. Eukaryot. Microbiol., 53, 292–304.
- Vernick, S. H., Sprague, V. ve Krause, D., 1977. Some ultrastructural and functional aspects of the Golgi apparatus of *Thelohania* sp. (Microsporida) in the shrimp *Pandalus jordani* Rathbun, J. Protozool., 24, 94-99.
- Vivier, E. ve Schrevel, J., 1973. Etude en microscopie photonique et electronique de differents stades du cycle de *Metchnikovella hovassei* et observations sur la position systematiques des Metchnikovellidae, Protistologica, 9, 95-118.
- Vossbrinck, C., R., Maddox, J., V., Frideman, S., Debrunner-Vossbrinck, B., A. ve Woese, C., R., 1987. Ribosomal RNA sequence suggests microsporidia are extremely ancient eukaryotes. Nature, 326, 411–414.
- Vossbrinck, C., R., Baker, M., D., Didier, E., S., Debrunner-Vossbrinck, B., A. ve Shaddock, J., A., 1993. Ribosomal DNA sequences of *Encephalitozoon hellem* and *Encephalitozoon cuniculi*: species identification and phylogenetic construction. J. Eukaryot. Microbiol., 40, 354–362.
- Waage, J., K., 1978. Arrestment responses of the parasitoid, *Nemeritis canescens*, to a contact chemical produced by its host, *Plodia interpunctella*. Physiological Entomology, 3, 135-146.
- Weiser, J. ve Purrini, K., 1985. Light- and electron microscopic studies on the microsporidian *Vairimorpha ephestiae* (Mattes) (Protozoa, Microsporidia) in the meal moth *Ephestia kuhniella*. Arch. Protistenk., 130, 179–189.
- Weiser, J., Wegensteiner, R. ve Zizka, Z., 1998. *Unikaryon montanum* sp. n. (Protista: Microspora), a new pathogen of the spruce bark beetle, *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae). Folia Parasitologica, 45, 191-195.
- Weiser, J., Holusa, J. ve Zizka, Z., 2006. *Larssoniella duplicati* n.sp. (Microsporidia, Unikaryonidae), a newly described pathogen infecting the double-spined spruce bark beetle, *Ips duplicatus* (Coleoptera, Scolytidae) in the Czech Republic. J. Pest Sci, 79, 127-135.

- Yaman, M. ve Radek, R., 2003. *Nosema chaetocnema* sp. n., a microsporidian (Microspora; Nosematidae) parasite of *Chaetocnema tibialis* (Chrysomelidae, Coleoptera). Acta Protozoologica 42, 231 -237.
- Yaman, M., Radek, R., Aslan, İ. ve Ertürk, Ö., 2005. Characteristic Features of *Nosema phyllotretae* Weiser 1961, a Microsporidian Parasite of *Phyllotreta atra* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Turkey, Zoological Studies, 44, 368-372.
- Yaman, M., 2007. Distribution of *Nosema meligethi* (Microsporida) in populations of *Meligethes aeneus* (Coleoptera: Nitidulidae) in Turkey. Entomological Research, 37, 298–301.
- Yaman, M., Radek, R. ve Togebay, B., 2008. A new microsporidian of the genus *Nosema*, parasite of *Chaetocnema tibialis* (Coleoptera: Chrysomelidae) from Turkey. Acta Protozoologica, 47, 279-285.
- Yaman, M., Radek R., Tosun O.ve Ünal S. 2009, *Nosema raphidia* sp.n. (Microsporida, Nosematidae): A microsporidian pathogen of the predatory snake-fly *Raphidia ophiopsis* (Raphidioptera: Raphidiidae). Acta Protozoologica, 48, 353-358.
- Yaman, M., Radek, R., Linde, A., Özcan, N. ve Lipa, J., J., 2011. Ultrastructure, characteristic features and occurrence of *Nosema leptinotarsae* Lipa 1968, a microsporidian pathogen of *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). Acta Parasitologica ,56, 1-7.
- Yıldırım, E., Özbek, H. ve Aslan, İ., 2001. Depolanmış Ürün Zararlıları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 191, Erzurum, 117 s.
- Zettler, J., L., McDonald, L., L., Redlinger, L., M. ve Jones, R., D., 1973. *Plodia interpunctella* and *Cadra cautella* resistance in strains to malathion and synergized pyrethrins. Journal of Economic Entomology, 66, 1049–1050.
- Zettler, J., L., 1982. Insecticide resistance in selected stored product insects infesting peanuts in the Southeastern USA. Journal of Economic Entomology, 75, 359–362.
- Zettler, J., L., Halliday, W., R. ve Arthur, F., H., 1989. Phosphine resistance in insects infesting stored peanuts in the Southeastern USA. Journal of Economic Entomology, 82, 1508–1511.
- Zhu, J., Ryne, C., Unelius, R., Valeur, P., G. ve Löfstedt, C., 1999. Reidentification of the female sex pheromone of the Indian meal moth, *P. interpunctella*: evidence for a four-component pheromone blend. Entomol. Exp. Appl., 85, 137-146.

## ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Trabzon’ da doğdu. İlköğrenimini İzmir, Asil Nadir İlköğretim Okulu ve İzmir, Balçova Orta Okulunda; orta öğrenimini İzmir, Balçova Lisesi’nde tamamladı. 2002 - 2003 öğretim yılında Isparta, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü’nde lisans eğitimine başladı. 2006 yılında bölüm üçüncülüğü ile mezun oldu. 2007-2008 öğretim yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2012-2013 öğretim yılında İzmir, Dokuz Eylül Üniversitesi, Eğitim Fakültesi tarafından düzenlenen Pedagojik Formasyon Eğitimi Sertifika Programına kabul edildi ve başarıyla tamamladı. Halen Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine devam etmekte ve Biyoloji öğretmeni olarak çalışmaktadır. İyi derecede İngilizce bilmektedir.