

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**AKDENİZ UN GÜVESİ (*EPHESTIA KUEHNIELLA*, LEP.:PYRALIDAE)'NİN  
HASTALIK ETMENLERİNİN BELİRLENMESİ, KARAKTERİZASYONU VE  
BİYOLOJİK MÜCADELEDE KULLANILMA POTANSİYELLERİ**

**Kâbire Funda ACAR**

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde**

**"DOKTOR (BİYOLOJİ)"**

**Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 22 / 05 / 2014**

**Tezin Savunma Tarihi : 20 / 06 / 2014**

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

**Trabzon 2014**

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**  
**Biyoloji Ana Bilim Dalında**  
**Kâbire Funda ACAR Tarafından Hazırlanan**

**AKDENİZ UN GÜVESİ (*EPHESTIA KUEHNIELLA*, LEP.:PYRALIDAE)'NİN**  
**HASTALIK ETMENLERİNİN BELİRLENMESİ, KARAKTERİZASYONU VE**  
**BİYOLOJİK MÜCADELEDE KULLANILMA POTANSİYELLERİ**

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 03 / 06 / 2014 gün ve 1556 sayılı**  
**kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda**

**DOKTORA TEZİ**  
**olarak kabul edilmiştir.**

**Jüri Üyeleri**

**Başkan : Prof. Dr. Mahmut EROĞLU**

**Üye : Prof. Dr. Mustafa YAMAN**

**Üye : Prof. Dr. Bilal KUTRUP**

**Üye : Prof. Dr. Önder ÇALMAŞUR**

**Üye : Doç. Dr. Ufuk BÜLBÜL**

**Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ**

**Enstitü Müdürü**

## ÖNSÖZ

“Akdeniz Un Güvesi (*Ephesia kuehniella*, Lep.:Pyralidae)’nin Hastalık Etmenlerinin Belirlenmesi, Karakterizasyonu ve Biyolojik Mücadelede Kullanılma Potansiyelleri” adlı bu tez, önemli bir depo zararlısı olan *Ephesia kuehniella*’nın hastalık etmenlerini belirlemek, tanımlamak ve biyolojik mücadelede kullanılma potansiyelini irdelemek adına yapılan ilk çalışma olup, bu alanda yapılacak olan yeni çalışmalara temel teşkil edeceğini ümit ediyorum.

Tez süresince doktora tez danışmanlığımı üstlenerek, gerek konu seçimi, gerekse çalışmaların yürütülmesi sırasında her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Mustafa YAMAN’a, sonsuz teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmam süresince benimle bilgilerini paylaşan, ihtiyacım olduğu her an yardımcı olan Zooloji-II Araştırma Laboratuvarı çalışanlarına, TÜBİTAK-BİDEB 2211 Yurt İçi Doktora Burs Programına, ayrıca desteklerini esirgemeyen tüm dostlarım ve meslektaşlarıma teşekkür ederim. Tez çalışmam süresince her türlü fedakârlıkla yanımda bulunan değerli eşim Eren ACAR’a ve tüm aile bireylerime sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Kâbire Funda ACAR

Trabzon 2014

## TEZ BEYANNAMESİ

Doktora tezi olarak sunduğum “Akdeniz Un Güvesi (*Ephestia kuehniella*, Lep.:Pyralidae)’nin Hastalık Etmenlerinin Belirlenmesi, Karakterizasyonu Ve Biyolojik Mücadelede Kullanılma Potansiyelleri” 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. 22 / 05 / 2014.

Kâbire Funda ACAR

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ .....	III
TEZ BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET.....	VIII
SUMMARY .....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	X
TABLolar DİZİNİ.....	XII
SEMBOLLER DİZİNİ .....	XIII
1. GENEL BİLGİLER .....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. <i>Ephestia kuehniella</i> Zeller, 1879 (Un güvesi, Değirmen güvesi ).....	3
1.2.1. Morfolojisi ve Biyolojisi.....	4
1.2.2. Zarar Şekli, Ekonomik Önemi ve Yayılışı.....	7
1.2.3. Doğal Düşmanları ve Mevcut Mücadele Yöntemleri .....	7
1.3. Zararlı Böceklerle Mücadele Yöntemleri .....	7
1.3.1. Kimyasal Mücadele ve Etkileri.....	8
1.3.2. Biyolojik Mücadele.....	9
1.4. Microsporidia .....	12
1.4.1. Önemli Mikrosporidia Türleri.....	15
1.5. Neogregarin.....	16
1.6. Baculovirüs .....	18
1.6.1. Baculovirusların Zirai Mücadelede Kullanımı .....	20
1.7. Tezin Amacı.....	21
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR .....	22
2.1. Örneklerin Elde Edilmesi.....	22
2.2. Makroskobik Çalışmalar .....	22
2.3. Mikroskobik Çalışmalar.....	22
2.3.1. Işık Mikroskopu Çalışmaları.....	23
2.3.1.1. Giemsa Boyama .....	23

2.3.2.	Elektron Mikroskobu Çalışmaları.....	24
2.3.2.1.	Resine Gömme İşlemi ve Elektron Mikroskobu Çalışması.....	24
2.4.	Moleküler Çalışmalar.....	25
2.4.1.	DNA izolasyonu.....	25
2.4.2.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	25
2.5.	<i>Ephestia kuehniella</i> 'ya Uygulanan Biyoassay Deneyleeri .....	26
3.	BULGULAR.....	27
3.1.	<i>Ephestia kuehniella</i> 'da Tespit Edilen Hastalık Etmenleri .....	27
3.1.1.	<i>Ephestia kuehniella</i> 'da Belirlenen Viral Etmen .....	27
3.1.1.1.	Viral Etmene Ait Makroskobik Belirtiler .....	28
3.1.1.2.	Viral Etmenin Mikroskobik Olarak Belirlenmesi.....	28
3.1.1.2.1.	Işık Mikroskobu ile Viral Etmenin Belirlenmesi.....	28
3.1.1.2.2.	Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile Viral Etmenin İncelenmesi .	30
3.1.2.	<i>Ephestia kuehniella</i> 'da Mikrospor Etmeninin Belirlenmesi.....	33
3.1.2.1.	Mikrospor Etmenine Ait Belirtilerin Makroskobik Olarak Belirlenmesi .....	33
3.1.2.2.	Mikrospor Etmeninin Mikroskobik Olarak Belirlenmesi .....	34
3.1.2.2.1.	Işık Mikroskobu Çalışmaları ile Mikrospor Etmeninin Belirlenmesi.....	35
3.1.2.2.1.1.	Giemsa Boyama ile Mikrospor Etmeninin Belirlenmesi.....	37
3.1.2.2.2.	Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile Mikrospor Etmeninin İncelenmesi .....	38
3.1.2.3.	Moleküler Yöntemler ile Mikrospor Etmeninin İncelenmesi.....	41
3.1.3.	<i>Ephestia kuehniella</i> 'da Neogregarin Etmeninin Belirlenmesi.....	42
3.1.3.1.	Neogregarin Etmeninin Makroskobik Görünümü .....	42
3.1.3.2.	Neogregarin Etmeninin Mikroskobik Olarak Belirlenmesi.....	42
3.1.3.2.1.	Işık Mikroskobu ile Neogregarin Etmeninin Belirlenmesi.....	43
3.1.3.2.2.	Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile Neogregarin Etmeninin İncelenmesi .....	45
3.1.4.	<i>E. kuehniella</i> 'da Tespit Edilen Neogregarin Etmeninin Moleküler Yöntemler ile Karakterizasyonu .....	48
3.2.	<i>Ephestia kuehniella</i> 'da Patojenik Organizmaların Varlığı ve Dağılımı .....	49
3.2.1.	<i>Ephestia kuehniella</i> 'da Viral Etmenin Varlığı.....	49
3.2.2.	<i>Ephestia kuehniella</i> 'da Mikrospor Etmeninin Varlığı.....	50
3.2.3.	<i>Ephestia kuehniella</i> 'da Neogregarin Etmeninin Varlığı.....	52
3.3.	<i>Ephestia kuehniella</i> 'ya Uygulanan Biyoassay Deneyleeri .....	53

3.3.1.	Mikrosporidyum Etmeni Kullanılarak Yapılan Biyoassay Deneyleri.....	53
3.3.2.	Neogregarin Etmeni Kullanılarak Yapılan Biyoassay Deneyleri .....	56
4.	TARTIŞMA .....	58
5.	SONUÇLAR.....	69
6.	ÖNERİLER.....	71
7.	KAYNAKLAR .....	72
	ÖZGEÇMİŞ	

Doktora Tezi

ÖZET

AKDENİZ UN GÜVESİ (*EPHESTIA KUEHNIELLA*, LEP.: PYRALIDAE)'NİN  
HASTALIK ETMENLERİNİN BELİRLENMESİ, KARAKTERİZASYONU VE  
BİYOLOJİK MÜCADELEDE KULLANILMA POTANSİYELLERİ

Kâbire Funda ACAR

Karadeniz Teknik Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. Mustafa YAMAN  
2014, 81 Sayfa

Bu doktora tezinde Akdeniz Un Güvesi, *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae)'nın gelişimini etkileyen hastalık etmenlerinin belirlenmesi, karakterizasyonu ve biyolojik mücadelede kullanılma potansiyelleri araştırılmıştır. İncelenen böcek örnekleri 2012 ve 2013 yıllarında Trabzon, Rize ve Ankara illerinden temin edilmiştir. Tez çalışması süresince 472'si ergin, 20'si pupa ve 538'i larva olmak üzere 1030 *E. kuehniella* bireyi incelenmiştir. İncelen böceklerde *EpkuMNPV*, *Vairiomorpha ephestia* ve *Mattesia dispora* patojenlerinin varlığı belirlenmiş, karakterizasyonları ışık mikroskobu, TEM çalışmaları ve moleküler yöntemler ile yapılmıştır. Tez çalışması süresince incelenen tüm böceklerdeki enfeksiyon oranı *EpkuMNPV* için % 0,19, *V. ephestia* için % 11,13, *M. dispora* içinse % 53,71 olarak bulunmuştur. Enfeksiyonların en çok görüldüğü evrenin % 35,43 ile larva evresi olduğu tespit edilmiştir. Erginlerdeki enfeksiyon oranı % 0,19, pupalardaki enfeksiyon oranı % 1,65 olarak bulunmuştur. Yürütülen biyoassay çalışmaları için 600 larva kullanılmıştır. Bu deneylerde *V. ephestia* için en yüksek enfeksiyon yüzdesi % 42,10 ile  $1,6 \times 10^7$  (spor/ml) dozajının uygulandığı grupta; *M. dispora* için en yüksek enfeksiyon yüzdesi ise % 52,63 ile  $1,8 \times 10^6$  (ookist/ml) dozajının uygulandığı grupta görülmüştür. *V. ephestia* ve *M. dispora* Türkiye için, *EpkuMNPV* ise Türkiye ve dünya için ilk kayıttır.

**Anahtar Kelimeler:** *Ephestia kuehniella*, *EpkuMNPV*, *Vairiomorpha ephestia*, *Mattesia dispora*, Biyolojik mücadele, TEM



PhD. Thesis

SUMMARY

IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF DISEASE FACTORS OF  
MEDITERRANEAN FLOUR MOTH, *EPHESTIA KUEHNIELLA* ZELLER, (LEP.:  
PYRALIDAE) AND THEIR POTENTIAL USE IN BIOLOGICAL CONTROL

Kâbire Funda ACAR

Karadeniz Technical University  
The Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Biology Graduate Program  
Supervisor: Prof. Mustafa YAMAN  
2014, 81 Pages

In this doctoral thesis, identification and characterization of the disease factors of Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae), were investigated, and their potential use in biological control was investigated. The examined insects were obtained from Trabzon, Rize and Ankara in 2012 and 2013. During the study, a total of 1030 insects were examined, including 472 adults, 20 pupae and 538 larvae. Presence of pathogens *EpkuMNPV*, *Vairiomorpha ephestia* and *Mattesia dispora* were identified in the insects examined, characterizations were made using light microscope, TEM studies and molecular methods. The infection rate in all insects was found to be 0.19% for *EpkuMNPV*, 11.13% for *V. ephestia* and 53.71% for *M. dispora*. The most prevalent stage of infection was determined as the larval stage with 35%. Percentages of infections were found to be 0.19% in adults and 1.65% in pupae. 600 larvae were used for conducted biyoassay experiments. In these experiments, the highest infection rate for *V. ephestia* was seen in the group exposed to a dosage of  $1,6 \times 10^7$  (spores/ml) with a percentage of 42.10%; the highest infection rate for *M. dispora* was seen in the group exposed to a dosage of  $1,8 \times 10^6$  (oocysts/ml) with a percentage of 52.63%. *V. ephestia* and *M. dispora* are first records for Turkey, *EpkuMNPV* is the first record for the world.

**Key Words:** *Ephestia kuehniella*, *EpkuMNPV*, *Vairiomorpha ephestia*, *Mattesia dispora*,  
Biological control, TEM

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. <i>Ephestia kuehniella</i> ergin böceği .....	4
Şekil 2. Mikrosporidyumun spor safhası diyagramı .....	13
Şekil 3. Neogregarin hayat döngüsü diyagramı .....	17
Şekil 4. <i>E. kuehniella</i> bağırsağında ve hemolenfinde viral etmene ait PIB yapıları .....	29
Şekil 5. <i>E. kuehniella</i> trake sistemi etrafında viral etmene ait PIB yapıları .....	29
Şekil 6. <i>E. kuehniella</i> 'da NPV'ye ait PIB'lerin TEM'deki enine kesiti .....	31
Şekil 7. <i>E. kuehniella</i> 'da NPV'ye ait PIB'lerin TEM'deki enine kesiti .....	31
Şekil 8. <i>E. kuehniella</i> 'da NPV'ye ait PIB'lerin TEM'deki enine kesiti .....	32
Şekil 9. <i>E. kuehniella</i> 'da NPV'ye ait virionlar PIB'yi terk ederken .....	32
Şekil 10. <i>E. kuehniella</i> 'da NPV ve Neogregarin etmenlerinin bir arada TEM görüntüsü .....	33
Şekil 11. <i>E. kuehniella</i> 'nın trake ve hemolenfinde mikrosporidyum etmenine ait serbest sporlar .....	35
Şekil 12. <i>E. kuehniella</i> 'daki mikrosporidyum etmenine ait serbest sporlar .....	36
Şekil 13. <i>E. kuehniella</i> 'daki mikrosporidyum etmenine ait giemsa boyalı serbest ve oktosporeler .....	37
Şekil 14. <i>E. kuehniella</i> 'daki mikrosporidyum etmenine ait spor yapısı .....	39
Şekil 15. <i>E. kuehniella</i> 'daki mikrosporidyum etmenine ait hücresel yapı .....	40
Şekil 16. <i>E. kuehniella</i> 'da tespit edilen mikrosporidyum sporunun anteriöründeki hücresel yapı .....	41
Şekil 17. <i>E. kuehniella</i> 'da tespit edilen neogregarin etmenine ait serbest ookistler .....	43
Şekil 18. <i>E. kuehniella</i> 'da tespit edilen neogregarin etmenine ait serbest ookistler ve onlardan çıkmış sporozoitler .....	44
Şekil 19. <i>E. kuehniella</i> 'da tespit edilen neogregarin etmeninin enine kesiti TEM görüntüsü .....	45
Şekil 20. <i>E. kuehniella</i> 'da tespit edilen neogregarin ookisti enine kesiti TEM görüntüsü .....	46
Şekil 21. <i>E. kuehniella</i> 'da tespit edilen neogregarin ookisti enine kesiti TEM görüntüsü .....	47

Şekil 22.	<i>E. kuehniella</i> 'da neogregarin emenin 18S rDNA (yaklaşık 300 bp)'nın P71 ve P80 primerleri ile çoğaltımı .....	48
Şekil 23.	Mikrosporidyum biyoassay deneylerinde larvaların doza göre ölüm yüzdeleri .....	55
Şekil 24.	Neogregarin biyoassay deneylerinde larvaların doza göre ölüm yüzdeleri.....	57

## TABLULAR DİZİNİ

### Sayfa No

Tablo 1.	<i>E. kuehniella</i> 'nın en önemli doğal düşmanları .....	10
Tablo 2.	2013 yılında Trabzon'dan toplanan <i>E. kuehniella</i> erginlerinden laboratuvarında yetiştirilen nesillerdeki viral etmen varlığı .....	50
Tablo 3.	2012 yılında Trabzon ve Rize'den toplanan <i>E. kuehniella</i> erginlerinden laboratuvarında yetiştirilen nesillerdeki mikrosporidyum etmeninin varlığı .....	51
Tablo 4.	2013 yılında Trabzon ve Rize'den toplanan <i>E. kuehniella</i> erginlerinden laboratuvarında yetiştirilen nesillerdeki mikrosporidyum etmeninin varlığı .....	51
Tablo 5.	2012 yılında Trabzon ve Rize'den toplanan <i>E. kuehniella</i> erginlerinden laboratuvarında yetiştirilen nesillerdeki neogregarin etmeninin varlığı .....	52
Tablo 6.	2013 yılında Trabzon ve Rize'den toplanan <i>E. kuehniella</i> erginlerinden laboratuvarında yetiştirilen nesillerdeki neogregarin etmeninin varlığı .....	53
Tablo 7.	Mikrosporidyum biyoassay deneylerinde larvaların doza göre ölüm zamanları.....	54
Tablo 8.	Neogregarin biyoassay deneylerinde larvaların doza göre ölüm zamanları.....	56
Tablo 9.	Ülkemizde bazı Lepidoptera türlerinden izole edilen NPV PIB'lerinin çapları .....	59
Tablo 10.	Ülkemizde bazı Lepidoptera türlerinden izole edilen NPV nükleokapsidlerinin büyüklüğü ve sayısı.....	60
Tablo 11.	Bazı <i>Mattesia</i> türlerine ait spor boyutları .....	63
Tablo 12.	<i>Plodia interpunctella</i> 'da <i>Mattesia oryzaephili</i> enfeksiyon yüzdeleri ile <i>E. kuehniella</i> 'da <i>Mattesia dispersa</i> enfeksiyon yüzdelerinin karşılaştırılması .....	67

## SEMBOLLER DİZİNİ

ERL	Epoxy resin
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojenperoksit
ml	mililitre
mm	milimetre
OsO <sub>4</sub>	Osmium tetroksit
TEM	Transmisyon (Geçirimli) Elektron Mikroskobu
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
DDT	Dikloro difenil trikloroethan
M.S.	Milattan sonra
DNA	Deoksiribonükleik asit
NPV	Nükleopolihedrovirüs
BV	Bakülovirüs
kbp	Kilo baz çifti
nm	Nanometre
PIB	Poliedral inklüzyon yapı
pH	Hidrojenin gücü
rpm	Dakikadaki devir sayısı
rDNA	Ribozomal DNA
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
UV	Ultraviyole ışınım

bp	Baz çifti
kb	Kilobaz
EtBr	Etidyum bromür

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Giriş

İnsanlar yetiştirdikleri ürünleri, daha sonra çeşitli amaçlarla kullanmak üzere ürünlerin özelliklerine uygun depolarda muhafaza ederler. Ancak bu ürünlerde muhafaza süresince çeşitli olumsuzlukların etkisiyle kayıplar meydana gelir. Bu tür kayıplara sebep olan etkenler arasında böcekler, hastalık etmenleri, fare gibi kemirgenler, kuşlar ve diğer çevre koşulları gösterilebilir. Depolanan tahıl, baklagiller, yağlı tohumlar ve bunlardan üretilen gıda maddelerinde dünya genelinde meydana gelen kayıp oranı % 10 olarak kabul edilmekle birlikte, bu oran bazı bölgelerde % 50'ye kadar çıkabilmektedir. Dünya genelindeki % 10'luk kaybın % 5'i ise böcekler sebebiyle meydana gelmektedir (Erdoğan ve Gürkan, 1995).

Depolanmış ürünlerde zarar oluşturan böcekler üründe hem kalitatif hem de kantitatif özellikler bakımından önemli kayıplar meydana getirmektedirler (Erdoğan ve Gürkan, 1995). Bu kayıplara neden olan böcekler arasında un güvesi olarak da bilinen *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) önemli bir yer tutar (Rees, 2003). Bu böceğin özellikle larvalarının verdiği zarar, buldukları ortamdaki besini yoğun bir şekilde yemeleri sonucu açığa çıkan ağırlık kaybıyla sınırlı kalmayıp, aynı zamanda beslenmeleri sonucunda ortama bıraktıkları dışkıları, salgıladıkları ağ maddeleri ve gömlek kalıntılarıyla da depolanmış üründe nitelik kaybına yol açmaktadır (Erdoğan ve Gürkan, 1995).

Depolanmış tarımsal ürün ve gıdanın korunması üretici, işletme ve ihracatçılar açısından çok önemlidir. Ülkemizde depolanmış ürünlerin zararlılardan korunması için en çok başvurulan yöntem fümigasyondur. Zararlı organizmaları imha etmek amacıyla, belirli sıcaklıktaki kapalı bir ortama, gaz halinde etki eden bir fümigantı belirli miktarda verme ve belirli bir süre ortamda tutma işlemine fümigasyon denir. Fümigasyon işleminde kullanılan kimyasallara fumigant denir. Fümigasyon yapılacak ortamın gaz geçirgenliği, fümigantın dozu ve uygulama süresi belirli kurallara uygun olarak yapılmalıdır. Ancak ülkemizde fümigasyon işlemi yapılırken genellikle uygulama yapılacak ortam için gaz geçirgenliği testi yapılmadığı, uygulamada yaygın olarak yüksek doz tercih edildiği ve fümigasyon boyunca herhangi bir ölçüm yapılmadığı için fümigantın etkisi tam olarak tespit edilememektedir (Ferizli ve Emekçi, 2014).

Bu fümigantlardan en yoğun kullanılanlarından birisi Metil bromittir. Metil bromit kullanılarak yapılan fümigasyon işlemi, bulaşık ürünün her yerine ulaşabilmesi, hızlı sonuç vermesi, geniş alanlarda uygulamaya imkan sağlaması ve diğer mücadele yöntemlerine göre daha ekonomik olması gibi bazı üstünlüklere sahip görünmektedir. Ancak fümigantların, zamanla zararlı böcekte direnç mekanizması gelişimine neden olmaları, uygulandıkları depo ürünlerinde kalıntı oluşturarak insan sağlığını tehdit etmeleri ve ozon tabakasını inceltmeleri söz konusu olduğundan fümigasyon yöntemine alternatif olacak yeni yöntemlerin tespiti elzem olmuştur. Bahsi geçen bu zararlardan dolayı bir çok ülkenin katılımı ile imzalanan ve ülkemizin de 1991 yılında dahil olduğu Montreal Protokolü gereğince Metil bromit kullanımı birçok ülkede yasaklanmıştır (T.C. Resmi Gazete, 2000; 2004). Günümüzde halen Metil bromit kullanan ülkeler mevcut olup 2015 yılına kadar kullanımının kaldırılması planlanmıştır (UNEP, 1995). 2015 yılına az bir müddet kalan şu günlerde halen kimyasal kullanımına alternatif olacak yöntemler araştırılmaktadır. Bu yöntemlerin başında feromon uygulamaları (Coşkuncu, 2005) ve radyasyon kullanımı (Ayvaz vd., 2007) gibi biyoteknolojik ve faydalı böceklerin salımı gibi biyolojik yöntemler de gelmektedir. *E. kuehniella* ve benzeri depolanmış ürün zararlıları ile mücadele için ekseriyetle kimyasal yöntemler kullanılmaktadır (Hansen ve Jensen, 2002).

Dünya nüfusundaki hızlı artış beslenme problemlerine yol açmaya başlamıştır. Bu sorunun temel nedenlerinden bir tanesi dünya nüfusu ile kullanılabilir tarım alanları arasındaki ters orantıdır. Nüfus artışı, beraberinde kentleşmeyi getirirken tarım alanları yok edilmektedir. Bundan dolayıdır ki, birim alandan elde edilen ürün miktarının arttırılmasının yanı sıra elde edilen ürünlerin, üretimden tüketime kadar geçen her aşamada korunması da çok önemlidir. Bu ürünlerin korunmasında kullanılan yöntemler ise son yıllarda daha çok tartışılır hale gelmiştir (Ferizli ve Emekçi, 2014). Ortaya çıkan bu sorun ise besin kaynaklarının çok daha ihtiyatlı kullanılmasının gerekliliğini doğurmuştur (Gül ve Gülel, 1995).

Tüm dünyada biyolojik kontrol ajanlarının kullanımına yönelik çalışmalar hızla ilerlerken, ülkemizde bu konu üzerindeki çalışmalar istenilen düzeye hala gelememiştir. Dolayısıyla bu zararlı üzerinde farklı hastalıklar oluşturarak öldüren ya da biyolojisini etkileyen hastalık etmenlerinin araştırılmasına ve etkili bir biyolojik mücadele ajanı olarak kullanımına yönelik çalışmalar kaçınılmaz olmuştur.

Bu nedenlerden dolayı bu doktora tezinde Lepidoptera grubuna ait olan ve önemli bir depo zararlısı olarak kabul edilen un güvesi (*Ephestia kuehniella* Zeller, 1879) ile



mücadelede kimyasalların kullanımını azaltacak, ekonomik, çevreye daha duyarlı ve daha etkili biyolojik mücadele ajanlarının araştırılması, doğadan izolasyonu ve geliştirilmesi amaçlanmıştır.

### **1.2. *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879 (Un güvesi, Degirmen güvesi )**

*Ephestia* cinsine ait türlerin tamamı sadece depo zararlısıdır. Depo edilmiş tahıl, un ve bitki tohumları zarar verdikleri başlıca maddeler arasındadır. Tipik birçok fizyolojik ve anatomik özellik göstermeleri ve aynı zamanda çoğalma yeteneklerinin fazla olmasından dolayı da araştırmalarda deney hayvanı olarak tercih edilmektedir (Demirsoy, 2006).

*E. kuehniella*, unda birinci derecede, tahıllarda ikinci derecede zararlı olarak bilinmektedir. Bu türlerle mücadele, özellikle tahıl ve tahıl ürünlerini yenemez hale getirmesi ve ürünün az da olsa bulaşık olmasının ticari problemlere yol açması bakımından büyük önem kazanmaktadır (Tunçyürek, 1972).

Sube : Arthropoda

Sınıf : Insecta (Hexapoda)

Alt sınıf : Pterygota ( Metabola )

Takım : Lepidoptera (Güveler ve Kelebekler)

Alt takım : Frenata (Heteroneura)

Familya : Pyralidae

Cins : *Ephestia*

Tür : *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879

(Demirsoy, 2006).

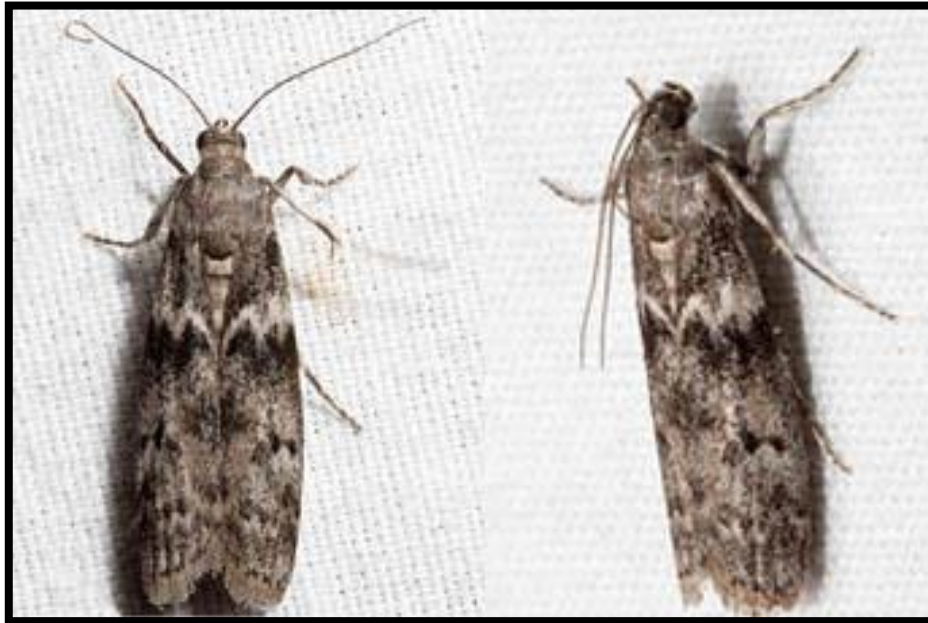
### 1.2.1. Morfolojisi ve Biyolojisi

Dişi böcek, beslendiği un ya da gıdaların üzerine ayrı ayrı 100-600 yumurta bırakabilir. Yumurtalar oval, açık sarı renkte olup 27°C de 3-5 günde açılır. Yumurtaların ortalama büyüklükleri 0.57 x 0.30 mm'dir (Demirsoy, 2006).

Yumurtadan beyaz renkli larvalar çıkar. Larvaların üzeri kıllarla örtülüdür. Protoraks ve sonuncu abdomen segmenti üzerinde kahverengi lekeler bulunur. Gelişim evresinin 40 günlük kısmını larva olarak geçirirler ve bu 40 gün sonunda tam kahverengi olurlar. Olgun larvanın uzunluğu yaklaşık olarak 15 mm'dir. Larva döneminde 5 dönem vardır (Demirsoy, 2006).

Olgunlaşan larva, gıda ortamını terk ederek pupa için uygun olan çatlak, yarık, girinti gibi yerlerde kokon örür. Boyları yaklaşık olarak 9 mm'dir. Pupa evresi ortalama 8-12 gün sürer. Bu sürenin sonunda ergin hale geçerler (Demirsoy, 2006).

Ergin, dumanlı gri renktedir. Ergin güve 7-12 mm uzunluğundadır ve bu uzunluk kanatlar açıkken 24 mm'ye kadar çıkabilir. Ön kanatlar soluk gri renktedir ve kanatlar üzerinde koyu renkte zikzak bantlar bulunmaktadır. Arka kanatlar ise kirli beyazdır. Dinlenme halinde vücudun ön bölümü, karakteristik olarak, kemer şeklindedir. Gelişme süresi sıcaklığa ve beslenmeye bağlı olup yılda 2-6 döl verebilirler (Demirsoy, 2006).



Şekil 1. *Ephestia kuehniella* ergin böceği (URL, 1).

Dişi böcek feromon yaymasını sağlayacak şekilde yumurtlama borusunu uzatıp abdomenini yukarıya doğru kaldırarak çiftleşmeye hazır olduğunu gösterir (Daumal, 1987). Erkek çiftleşmek için havalanır ve kur davranışları sergiler. Çiftleşme birkaç saniyede tamamlanır ve genelde hava karardıktan sonra gerçekleştirilir (Traynier, 1968, 1970; Traynier ve Wright, 1972). Çiftleşme süresince dişinin kanatları erkeğin kanatlarının üzerine örter. Başarılı bir çiftleşme dişinin üreme potansiyelini gerçekleştirmesini sağladığından çiftleşme sona erdikten sonra dişinin abdomeni düzgün hale gelir. Erkek ise yaşamı boyunca 5-8 dişi ile çiftleşebilir. Ancak müteakip çiftleşmelerde yumurtaların döllenme düzeyi düşer (Norris, 1932, 1933, 1934; Williams, 1938).

Erginler, antenleri kanatlarının altında göğüs hizasında katlanmış, birinci çift bacaklarını göğüs üzerinde dinlendirir pozisyonda gün boyunca hareketsiz bir şekilde dururlar. Erginlerin yaşam süreleri oldukça değişkendir. Eğer çiftleşecek bir eş bulamazlarsa 20 güne kadar yaşarlar, hatta düşük sıcaklıklarda (10-18°C) bu süre uzayabilir. Gölge alanlarda durmaya eğilimlidirler ve çoğunlukla depoların tavanları veya duvarları gibi yüksek yerleri tercih ederler (Sogaard-Andersen, 1968).

Güveler genellikle hava karardıktan sonra uçmaya başlarlar ve şafak vaktine kadar hareketlidirler. Erkeklerin hareketliliğinde şafak vaktinden hemen önce bir artış görülür (Edwards, 1962).

Dişileri un ya da diğer tozlar cezbeder (Ullyett, 1945). Dişi topladığı unları bir çatlağa yerleştirir ve üzerine yumurtalarını bırakır. Yumurtaları çatlağa bırakırken ilk olarak antenlerinin uç kısımları sonra da yumurtlama borusu aktifleşir. Dişi, bu iki unsurun aktifleşmesiyle yumurtalarını sıralı bir şekilde çatlağa bırakmaya başlar (Daumal, 1994b). Dişiler 20-23°C sıcaklıkta 48 saat içerisinde yumurtalarının yaklaşık %75'ini bırakırlar (Anderson ve Löfqvist, 1996).

Bir çok görüşe göre bu türün biyotik potansiyelinde geniş bir çeşitlilik görülmektedir. Öyle ki yumurta sayısı 50 ile 500 arasında değişebilir (Richards ve Thomson, 1932). Bu durum genetik ya da diğer faktörlere göre değişebilir (Robinson, 1971; Leibenguth ve Russell, 1986). Dişi ve erkeğin patojenik veya fizyolojik durumu ve çiftleşme esnasındaki şartlar döl sayısını etkiler. Sürekli ışığa maruz kalan erkek güveler değişen aydınlanma koşullarında yaşayanlara göre oldukça düşük üreme kapasitesine sahiptirler (Riemann ve Ruud, 1974).

Yumurtalar ayrı ayrı veya birbirine yakın olarak bırakılır. Yumurtaların etrafı salgı ile kaplı olduğundan bırakıldıkları yere yapışırlar. Yumurtalar gelişimlerinin bu evresinde

abiyotik faktörlere karşı sahip oldukları dikkat çekici direnç sayesinde yüksek adaptasyon yeteneği sergilerler (Daumal ve Bionel, 1994a, 1994b). Hawlitzky (1972) nin yaptığı çalışmalara göre embriyonik gelişim 20 °C’de 8 gün sürer. 16 saat aydınlık 8 saat karanlık periyodunda gelişim gösterdikleri en düşük sıcaklık 8°C, en yüksek sıcaklık ise 35°C’dir. Bu eşik değerler gelişim evrelerine göre değişkenlik gösterebilir.

Gelişmelerindeki heterojenlik yüzünden süreçle ilgili net bir zaman tahmini yapmak zordur. Bir larva farklı koşullarla karşılaşırsa gelişim süreci uzayıp kısalabilir (Daumal ve Pintureau, 1985). Örneğin yumurta bırakmadan ergin çıkışına kadar geçen süre 20°C’de sert buğday irmiğiyle beslenen bireyler için 60 gündür. Bu alanda yapılan çalışmalar beş larval evredeki gelişimin oldukça esneklik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu esneklik öncelikle türlerdeki polimorfizme, soyun kökenine ve genlerin özelliklerine göre ortaya çıkmaktadır (Cox vd., 1981).

*E. kuehniella* yumurtadan çıkıştan pupa evresine geçinceye kadar aşağıda özetlendiği gibi tipik davranışlar sergiler.

Birinci evredeki larva ışıktan kaçarak beslenmeden önce ördüğü bir ağın içine gizlenir. Ağın içinden yalnızca besin parçalarını almak için çıkar. Bu davranış diğer dört instarda da devam eder. Bacaklar üzerindeki kanca, deri değişimi süresince larvanın vücudunu sabit tutar.

Havada asılma davranışı dördüncü larva evresinde görülebilir ancak belirgin hale gelmesi beşinci evrede gerçekleşir. Bu davranış larvanın beslenmeyi kesip pupa için koza örmeye başlayacağı zaman görülür. Aslında davranışın amacı pupadan çıkarken kanatlarını rahatça çırpacağı alanı ölçmesidir (Daumal vd., 1985; Daumal, 1987). Bu davranışı gerçekleştirmek için bulunduğu alanda en karanlık yeri seçer.

Cox vd. (1981)’ne göre *E. kuehniella*’da diyapoz böceğin beslenmeyi bıraktığı andan pupaya geçişindeki sürede olan gecikmeden anlaşılır. Diyapoz fotoperiyot ve sıcaklıktan olduğu kadar beslenmeden ve böceğin soyundan da kaynaklanır. Diyapoz düşük sıcaklıklarda larvanın fumigantlara olan direncini artırır. Larval gelişim esnasındaki genellikle depoların çoğunda bulunan karanlık ve yüksek sıcaklığa sahip ortam daha fazla sayıda larvanın diyapoza girmesine yol açar (Cox vd., 1981).

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

Un güvesinin özellikle larvaları buldukları ortamdaki besini yoğun bir şekilde tüketirler. Verdikleri zarar, besin tüketimiyle sınırlı kalmayıp, aynı zamanda beslenmeleri sonucunda ortama bıraktıkları dışkıları, salgıladıkları ağ maddeleri ve gömlek kalıntılarıyla da depolanmış üründe nitelik kaybına yol açmaktadırlar. Ülkemizin hemen her yerindeki depolarda bulunurlar.

### 1.2.3. Doğal Düşmanları ve Mevcut Mücadele Yöntemleri

Ülkemizde *E. kuehniella* ile mücadele için zararlı organizmaları imha etmek amacıyla, belirli sıcaklıktaki kapalı bir ortama, gaz halinde etki eden bir fümigantı belirli miktarda verme ve belirli bir süre ortamda tutma işlemi olan fümigasyon kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda hem insan sağlığı hem de ozon tabakası üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı birçok ülkede yasaklanan Metil bromite alternatif olacak yöntemler araştırılmaktadır.

Bununla birlikte bu zararlının seksenin üzerinde doğal düşmanı vardır. Bu nedenle biyolojik mücadelesi mümkündür (Gordh ve Hartman, 1991). Doğal düşmanları arasında en baskın grubu parazitler oluşturmaktadır. Bu böceğin 30'dan fazla yumurta, larva ve pupa paraziti bulunmaktadır. Ülkemizde yumurta parazitlerinin bu zararlı üzerinde yaygın ve etkili oldukları bazı çalışmalarca desteklenmiştir. Buna rağmen ülkemizde bu zararlının hastalık etmenlerine yönelik bir çalışma hâlihazırda bulunmamaktadır.

### 1.3. Zararlı Böceklerle Mücadele Yöntemleri

Zararlıların gerek bitkilerde gerekse depolanmış ürünlerde meydana getirdikleri zararların, önlenmesine veya azaltılmasına yönelik yöntem ve harcanan çabalara zararlılarla mücadele denir (Çanakçıoğlu, 1983). Zararlılarla mücadele yöntemleri şu şekilde sıralanabilir; Doğal mücadele, Yasal mücadele, Mekanik mücadele, Fiziksel mücadele, Kültürel mücadele, Biyolojik mücadele, Kimyasal mücadele ve Entegre mücadele. Bu mücadele yöntemlerinden *E. kuehniella* üzerinde dünyada ve ülkemizde en yaygın olarak kullanılan yöntem bir kimyasal mücadele yöntemi olan fumigasyondur.

Ancak son yıllarda bu amaçla yapılan çalışmalarda fumigantın çevre ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri olduğu tespit edilmiştir.

### 1.3.1. Kimyasal Mücadele ve Etkileri

Kimyasal mücadele zararlı böceklerin imhası için oldukça sık başvurulmuş bir yöntemdir. Böceklerin öldürülmesinde kullanılan kimyasal ürünler insektisit olarak adlandırılır. İnsektisitler kimyasal özelliklerinden ötürü sadece böcekler üzerinde değil, kullanıldıkları alanda bulunan diğer canlılar üzerinde de oldukça zararlı sonuçlara neden olmaktadır. Özellikle depolanmış ürünler düşünüldüğünde insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri daha endişe verici bir hal alır (Ecevit, 1988).

İnsektisidlerin böcekler üzerine etkileri böceklerin uygulanan kimyasala karşı mukavemet kazanması ve faydalı böceklere zarar vermesi şeklinde olur. İnsektisitler her ne kadar zararlı böcekleri yok etmek için kullanılsalar da, her zaman zararlı böceklere karşı tam bir etki sağlayamazlar. Çünkü zamanla insektisitlerin ilk tatbik edildikleri zamanki etkili dozlarından daha az etkilenebilen ırklar ortaya çıkmaktadır. Bu olaya böceklerin mukavemeti adı verilmektedir (Ecevit, 1988). Faydalı böcekler olarak kabul edilen predatör ve parazitler insektisitlerden daha fazla etkilenmektedirler (Ecevit, 1988).

İnsektisitler doğrudan doğruya ve dolaylı olarak insan sağlığını etkilemektedirler. Bu etki akut ve kronik toksisite olarak iki grup altında toplanabilir. Her ne kadar ilaçların prospektüslerinde hasattan ne kadar önce kullanılması gerektiği yazılı ise de, bu süre beklenilse bile bir miktar ilaç ve ayrışma ürünleri geride kalmaktadır. Buna ilacın kalıntısı denilmektedir. Bu kalıntıları içeren bitkilerle beslenen insanlar ilaçları vücutlarında depolarlar (Ecevit, 1988).

Akut toksisite, zirai mücadele ilaçlarının fazla miktarda alınmasıyla olan zehirlenme olarak ortaya çıkmaktadır. Fakat kronik toksisite olarak adlandırılan öldürücü dozların çok altındaki dozların kalıntılarında bütün insanlar nasibini almakta ve yavaş yavaş zehirlenmektedir. Bugün özellikle fazla miktarlarda kullanılan klorlandırılmış hidrokarbonların insan ve hayvanların beyin, karaciğer, böbrek ve yağ dokularında toplanarak toksik etkide bulunduğu bilinmektedir (Ecevit, 1988).

İnsektisitler kullanıldıkları çevrede bulunan birçok yabani hayvanı değişik oranlarda etkilemektedir. Ağaçlardaki bazı zararlıların mücadelesinde kullanılan DDT'nin toprakta birikme yaptığı ve bunun sığırcık ve böceklerle beslenen kuşların popülasyonunu azalttığı

tespit edilmiştir. İnsektisidler kullanıldıkları alandaki bitkilerin çimlenmesi, vejetasyonu ve üremesi üzerinde de olumsuz etkiler yaparlar. Bazen bitkilerin belirli doku kısımlarında, özellikle yaprak ve sürgünlerinde yanma denilen bir takım lekeler ile renk değişmelerinin meydana gelmesine sebep olurlar. Hatta bazen tüm bitkilerin öldüğü görülür. İnsektisidlerin yan etkilerinden dolayı, kimyasal mücadelenin günümüzde mümkün olduğunca kısıtlanması ve bunun yerini biyolojik mücadelenin alması gerekmektedir (Ecevit, 1988).

### 1.3.2. Biyolojik Mücadele

Biyolojik mücadele, bir diğer adıyla biyolojik kontrol, zararlı böceklerin yapmış olduğu zararları en aza indirmek için bu böceklerin doğal düşmanlarını kullanma olarak tanımlanabilir (Poinar, 1978; Peter, 1984).

Son yıllarda biyolojik mücadele güncellik kazanmış olsa da yeterince yaygınlaşmamış ve yapılan çalışmalar olması gereken düzeylere ulaşamamıştır.

Biyolojik mücadele ile ilgili yazılı belgelerin ilk örneklerine Aristo ve Pliny'nin eserlerinde böcek patolojisi kavramları ile birlikte rastlamaktayız.

Canlıların mücadele amacıyla kullanılmasına ait ilk bilgi Çin'den elde edilmiştir. M.S. 900 yılında yayınlanan bir Çin kitabında açıklandığına göre Çinli turunçgil yetiştiricilerinin bahçelerinde avcı karıncaları kullandıkları ve bunların pazarlarda satıldığıdır.

Geçen yıllar boyunca Avrupa'da da böceklerle biyolojik mücadele alanında çalışmalar yapılmış ve bu çalışmalar günümüze kadar büyük bir gelişme göstererek ilerlemiştir. Yapılan çalışmalar çoğunlukla böceklerde hastalık yapan mikroorganizmaların izolasyonu ve biyolojik mücadelede kullanımı ile ilgilidir.

Hastalık yapan mikroorganizmaların kullanımı, genellikle mikrobiyal kontrol olarak adlandırılmaktadır. Virüsler, bakteriler, protozoalar, mantarlar ve nematodlar mikrobiyal kontrol için kullanılan temel mikroorganizmalardır. Tablo 1'de *E. kuehniella*'nın biyolojik mücadelesinde kullanılma potansiyelleri olabilecek en önemli doğal düşmanları verilmiştir.

Tablo 1. *E. kuehniella*'nın en önemli doğal düşmanları (Abdel-Rahman vd., 1977; Gordth ve Hartman, 1991)

Doğal Düşman	Tipi	Etkin Olduğu Hayat Safhası
<i>Adalia decempunctata</i>	Predatör	
<i>Anomalochrysa frater</i>	Predatör	
<i>Anthocoris nemoralis</i>	Predatör	Larva
<i>Bacillus cereus</i>	Patojen	Larva
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Patojen	Larva
<i>Bacillus thuringiensis kurstaki</i>	Patojen	Larva
<i>Bacillus thuringiensis morrisoni</i>	Patojen	Larva
<i>Bacillus thuringiensis thuringiensis</i>	Patojen	Larva
<i>Beauveria bassiana</i>	Patojen	
<i>Blattisocius tarsalis</i>	Predatör	Yumurta
<i>Bracon hebetor</i>	Parazit	Larva/Pupa
<i>Bracon kirkpatricki</i>	Parazit	Larva
<i>Ceraeochrysa cubana</i>	Predatör	
<i>Chelonus curvimaculatus</i>	Parazit	Larva
<i>Chelonus eleaphilus</i>	Parazit	Larva
<i>Chelonus inanitus</i>	Parazit	Larva
<i>Chrysoperla carnea</i>	Predator	
<i>Copidosomopsis tanytmemus</i>	Parazit	
<i>Cybocephalus micans</i>	Predatör	
<i>Cycloneda zischkai</i>	Predatör	
<i>Cyzenis albicans</i>	Parazit	Larva
<i>Diadegma chrysostictos</i>	Parazit	Pupa
<i>Diadromus pulchellus</i>	Parazit	
<i>Dufouriellus ater</i>	Predatör	
<i>Encarsia porteri</i>	Parazit	Yumurta
<i>Exochomus flaviventris</i>	Predatör	
<i>Goniozus legneri</i>	Parazit	
<i>Harmonia axyridis</i>	Predatör	
<i>Harmonia doublieri</i>	Predatör	
<i>Hippodamia undecimnotata</i>	Predatör	
<i>Itoplectis maculator</i>	Parazit	
<i>Macrolophus caliginosus</i>	Predatör	
<i>Mattesia dispersa</i>	Patojen	Larva
<i>Mermis gigantea</i>	Parazit	
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Patojen	
<i>Nineta pallida</i>	Predatör	
<i>Orius albidipennis</i>	Predatör	
<i>Orius laevigatus</i>	Predatör	
<i>Orius majusculus</i>	Predatör	
<i>Orius minutus</i>	Predatör	
<i>Orius vicinus</i>	Predatör	
<i>Paecilomyces farinosus</i>	Patojen	
<i>Peregrinator biannulipes</i>	Predatör	Ergin/Yumurta



Tablo 1'in devamı

<i>Phanerotoma leucobasis</i>	Parazit	Larva
<i>Pimpla contemplator</i>	Parazit	
<i>Platynaspis capicola</i>	Predatör	
<i>Sinea diadema</i>	Predatör	
<i>Steinernema feltiae</i>	Parazit	
<i>Tjederina gracilis</i>	Predatör	
<i>Tolypocladium cylindrosporum</i>	Patojen	
<i>Trichogramma agrotidis</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma bourarachae</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma brasiliense</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma brassicae</i>	Parazit	
<i>Trichogramma buesi</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma cacoeciae</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma chilonis</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma cordubensis</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma danubiense</i>	Parazit	
<i>Trichogramma daumalae</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma demoraesi</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma dendrolimi</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma distinctum</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma evanescens</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma galloi</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma maidis</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma minutum</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma mwanzai</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma ostriniae</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma pintoii</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma pretiosum</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma principium</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma rhenanum</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma semifumatum</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma telengai</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma turkeiensis</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogramma voegelei</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogrammatoidea annulata</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichogrammatoidea lutea</i>	Parazit	Yumurta
<i>Trichospilus diatraeae</i>	Parazit	
<i>Vairimorpha ephestia</i>	Patojen	
<i>Venturia canescens</i>	Parazit	Larva/Pupa
<i>Xylocoris sordidus</i>	Predatör	

#### 1.4. Microsporidia

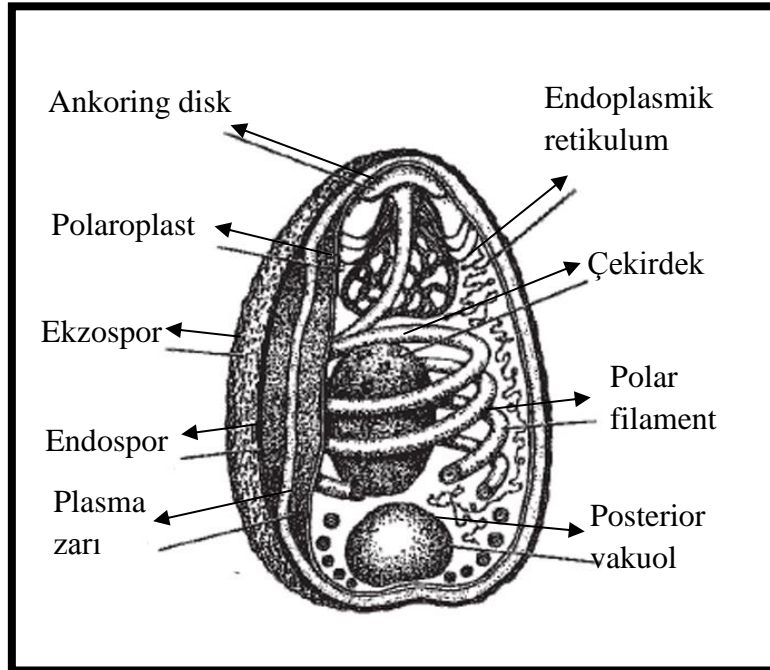
Mikrosporidia patojeninin ilk karakterizasyon çalışmaları sonucunda, bu patojen ilk başlarda protozoa olarak kabul edilmiş, ilerleyen çalışmalar sonrasında protista alemine dahil edilen Mikrosporidia'lar birçok hayvan grubunda tespit edilmiştir (Toguebaye ve Marchand, 1988; Andreadis, 2007; Higes vd., 2010; Sokolova vd., 2010). Zorunlu hücre içi patojenlerdir ve konak dışında spor halinde bulunurlar (Weiser vd., 1995; Didier, 2005; Simakova vd., 2008).

Mikrosporidialar böceklerde patojenik etki oluşturan en önemli grubu oluştururlar. Zararlı böceklerde hastalık oluşturan Mikrosporidialar bu kapasitelerinden dolayı böceklerin mikrobiyal kontrolünde en çok ümit vadeden patojenlerdir. Aynı şekilde faydalı böceklerde Mikrosporidiaların varlığı istenmeyen bir durum olarak ortaya çıkmaktadır (Lipa, 1968; Didier, 2005; Yaman, 2008a; Yaman vd., 2008, 2009a; Takov vd., 2010).

Protista alemine ait olan, ökaryotik mikrosporidialar, zorunlu hücre içi parazitlerdir. Mikrosporidia enfeksiyonunun karakteristik safhası spor safhasıdır. Spor safhası konak dışında veya içerisinde patojenin dış etmenlere direnç gösterdiği ve başka konakları enfekte etmesini sağladığı safhadır (Goertz vd., 2007; Yaman, 2008a; Yaman vd., 2008, 2009a). Mitokondrileri bulunmayan mikrosporidialar, hücre dışında kalın protein ve kitin yapıda duvarla çevrili sporlar halinde bulunurlar. Spor duvarı protein yapılı ekzospor ve kitin yapılı endosporadan oluşur, bunların önünde bir plazmalemma (plazma zarı) takip edip sitoplazma ile dış ortam arasında iyon ve diğer küçük yapılı moleküllerin geçişini sağlar. Spor yapısının anterior kısmında spor duvarı incelenek anchoring disk yapısını oluşturur (Vavra, 1976 a, b). Spor içerisinde polar filament, polaroplast, çekirdek ve posterior vakuol gibi yapıları bulundurur. Polaroplast spor içinde çekirdeğin üst kısmında kalan bölümü tamamen dolduran yapıdır ve sahip olduğu lamelli yapının dizilişine göre çoğu zaman iki farklı kısımdan oluşur. Anterior bölgede keseler yakın ve düzenli bir şekilde dizilmiş lameller halinde sıkışmıştır. Posteriorde ise daha az düzleşmişlerdir ve daha düzensiz yapıdadırlar. Bu iki bölgeye genellikle lamelli polaroplast ve süngersi veya vesiküler polaroplast isimleri verilir (Şekil 2) (Erickson ve Blanquet, 1969; Vávra, 1976a; Weiser, 1977).

Mikrosporidialar çoğunlukla iki tip spora sahiptirler. Biri hacimce büyük olan (Eksternal spor) çevresel spor, daha çok başka bir konağın enfeksiyonu için gereklidir. Diğer hacimce daha küçük olup (İnternal spor) konak içindeki diğer dokuları

enfeksiyonunda işlev görür (Erickson ve Blanquet, 1969; Vávra, 1976a). Spor içerisinde Mikrosporidialara özgü olan en karakteristik yapı polar filament yapısıdır. Polar filament sporun posterior kısmında birden fazla kıvrımlar yaparak sporun anterior bölümünde polaroplastı enine geçerek anchoring diske bağlanan hortum benzeri bir yapıdır. Polar filament baştan uca kadar aynı kalınlıkta ise izofilar ve bir noktada aniden daralarak proksimal kısımda geniş ve distal kısımda dar ise anizofilar adını alır. Polar filamentin kıvrım sayısı, kıvrım çapı ve anizofilar veya izofilar olması Mikrosporidiaların taksonomisinde kullanılmaktadır (Şekil 2) (Burges vd., 1974; Weiser, 1977). Sahip olduğu genetik materyali posterior bölgede tek veya çift çekirdekler içinde taşır. Çift çekirdekte çekirdekler birbirine temas halindedir. Çekirdek ökaryotik tipte, çift katlı zara sahip, küresel veya oval nadiren de at nalı şeklindedir (Şekil 2) (Larsson, 1986). Polaroplast serbest ribozomlara ve karakteristik bir şekilde konumlanmış endoplazmik retikuluma sahiptir. Mikrosporidian patojenleri sadece hücre içi parazitler olduğundan tüm gelişimsel evreler mitokondriden yoksundur (Vernick vd., 1977; Larsson, 1986). Çoğu Mikrosporidian sporunun posterior kutbuna yakın bir konumda, zarla çevrili, posterior vakuol olarak adlandırılan yapı bulunur ve polar filamentin bu yapı tarafından meydana getirildiği bilinmektedir (Şekil 2) (Vernick vd., 1977).



Şekil 2. Mikrosporidyumun spor safhası diyagramı (Andreadis, 2007)

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

Merogoni kısa süreli bir safhadır ve konak içerisinde enfeksiyonun yayılmasını sağlayan çoğalma safhasıdır. Merogoni safhasında sırası ile meront, sporont ve sporoblast aşamaları gözlemlenir. Sporogoni ise genellikle konağın ölümü veya merogoni safhası için uygun ortamın tükenmesi ile spor oluşumu ile sonuçlanan safhadır. Merogoni ve sporogoni şizogonial çoğalma olarak tanımlanmış olmasına rağmen, Mikrospora'da merogoni ve sporogoni ikili fizyon (her iki çekirdek oluşumunda sitoplazma bölünmesi), plasmotomi (çok çekirdekli bir hücrenin arka arkaya bölünmesi) veya şizogoni (çoklu tomurcuklanma) şeklinde meydana gelebilir (Levine, 1971). Her iki gelişim safhası bazen konağın aynı dokusunda bazen farklı dokularında meydana gelir.

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

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

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

Mikrosporlar, konak spesifitesi olan canlılardır, yani doğada tek bir konağı tercih ederler. Bununla birlikte enfeksiyon gerçekleştirdikleri zararlılığın ölümüne sebep olmazlar. Bunun yerine buldukları konağın hayat süresinin kısılmasını, canlılıklarının azalmasını, iştah ve kilo kaybını ve aynı zamanda üreme potansiyellerinin azalması gibi belirtileri olan

kronik bir hastalığa yol açarlar. Mikrosporidialar genel olarak tek bir konağa özgü olmaları nedeniyle biyolojik mücadelede kullanıma uygun patojenlerdir. Böylelikle sadece hedef organizmayı etkilerler, çevreye ve diğer organizmalara zarar vermezler. Bu özellikleri ile tercih edilmesi gereken biyolojik mücadele ajanlarıdır.

İnsanlarda da hastalığa sebep olabildikleri için mikrosporidiaların teşhis edilmesi ve karakterizasyonu son derece önemlidir. Mikrosporidiaların kesin teşhisi için Giemsa boyaması yöntemi kullanılır. Boyanan sporlar kayda değer bir küçülmeye maruz kalırlar ancak çekirdeğin oldukça belirgin bir şekilde boyanması sayesinde bu yöntem çok etkilidir. Giemsa boyama yöntemiyle teşhis edilen mikrosporların elektron mikroskobu çalışmaları sayesinde detaylı karakterizasyonunu yapmak mümkündür (Yaman ve Radek, 2003).

#### **1.4.1. Önemli Mikrosporidia Türleri**

Mikrosporidia cinsi birçok canlı grubunda enfeksiyon yapmaktadır. Bunlar içerisinde birçok hayvan grubu ve insan da bulunmaktadır. En dikkat çeken örnekler böceklerde yaptığı enfeksiyonlardır (Lipa, 1968; Weiser vd., 1995; Didier, 2005; Simakova vd., 2008). Patojen genellikle konağın ölmesine neden olmakta bazen de hayatsal faaliyetlerini düşürerek konağın beslenme gibi kabiliyetlerini azaltmaktadır. Birçok mikrospor türü canlı içinde veya laboratuvar ortamında çoğaltılabilmekte ve biyoassay denemelerinde kullanılabilir (Andreadis, 1985; Didier, 2005; Higes vd., 2007). Bu özellikleri ile zararlı böceklerde potansiyel olarak kullanılacak bir biyolojik kontrol ajanı olma kapasitesine sahiptirler. Zararlı böceklerle mücadelesinde kullanılmalarının yanında birçok faydalı böcekte de istenmeyen enfeksiyonlara neden olmaktadır. Bu durum istenmeyen bir durumdur ve faydalı böceklere verdikleri zarar ile hem ekolojik hem de ekonomik açıdan büyük problemlere neden olmaktadır (Andreadis, 1985; Higes vd., 2007; Yaman vd., 2010).

Mikrosporidium patojenleri faydalı böceklerde yaptığı enfeksiyonun yanında birçok zararlı böcekte de enfeksiyon yapmakta ve bu zararlıların biyolojik mücadelesinde kullanılmaktadır. Birçok zararlıdaki enfeksiyonun biyolojik mücadele potansiyeli üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Bunların içerisinde en göze çarpan ticari üretimi yapılan *Nosema lacustea* patojenidir (Henry, 1971). Çekirgelerle mücadelede kullanılan ve üretimi yapılan bu patojen birçok ülkede yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra patates bitkisinde büyük zarara neden olan patates böceği *Leptinotarsa decemlineata*'da enfeksiyon yapan

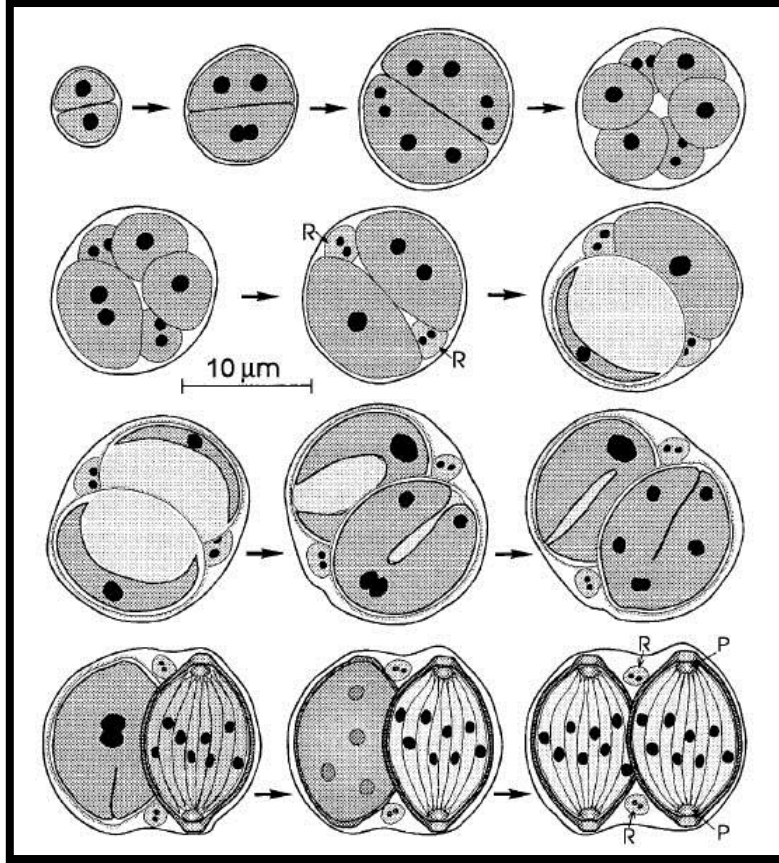
mikrospor cinsi *Nosema leptinotarsa* (Lipa 1968), tanımlanmasından yaklaşık 40 yıl sonra, Türkiye’de ilk kez tespit edilmiştir (Yaman vd., 2011).

### 1.5. Neogregarinler

Neogregarinler taksonomik olarak Apicomplexa şubesinin Gregarina sınıfında yer alırlar. Bu sınıfta yer alan bir başka takım olan Eugregarinida’dan daha küçük ve bölmesiz (segmentsiz) bir yapıya sahip olmalarıyla ayrılırlar. Ayrıca üremeleri Eugregarinida’dan daha karmaşıktır.

Genel olarak Neogregarinler limon şekilli sporlara sahip çok ölümcül patojenlerdir. Bu özellikleriyle potansiyel bir biyolojik mücadele ajanının özelliklerini taşırlar. Morfolojilerine bakıldığında, limon şekilli sporlar her iki kutupta Giemsa boyası ile çok belirgin bir şekilde boyanan, tıpa benzeri yapılara sahiptir. Türlerine göre 2 veya daha fazla spor ihtiva eden kist yapıları oluştururlar.

Hayat döngüsüne bakıldığında, vejetatif safhalarında Şizogoni görülür. Bu durum gamegoni ve sporogonide de devam eder. Neogregarinler konak böceğe beslenme yoluyla bulaşrlar. Besin yolu ile alınan sporlar açılarak trofozoitler bağırsakta serbest kalır. Şizogoni ile çoğalarak mikro nüklear şizontları oluştururlar. Çiçek şeklinde sitoplazma bölünmesi sonrası mikro nüklear merozoitleri oluştururlar. Serbest kalan mikro nüklear merozoitler makro nüklear şizontları oluştururlar. Tekrar sitoplazma bölünmeleri sonrası rozet şekilli makro nüklear merozoitler oluşur. Serbest kalan makro nüklear merozoitler gametositleri oluştururlar. Gametositler tekrar spor yapısını oluştururlar (Şekil 3) (Lipa ve Triggiani, 1992; Kleespies vd., 1997; Valigurova ve Koudela, 2006). Hemosöldeki çeşitli organlarda hücre içi parazit olarak ortaya çıkarlar. Bağırsak epiteli, Malpighi tüpleri, yağ dokusu gibi doku ve organlarda enfeksiyon yaparlar. Ayrıca Vücut boşluğunda yaygın olarak hemolenf ve yağ dokusunda enfeksiyon yapmaktadır (Valigurova ve Koudela, 2006). Ookistlerin bulaştığı besinlerle beslenen böceklerde enfeksiyon bağırsak veya Malpighi tüplerinde çoğalır, buradan böceğin yumurtalarına veya dışkıyla yaşadığı ortama bulaşabilir. Enfeksiyonlu böcek ölüp parçalanınca da ookistler çevreye dağılır.



Şekil 3. Neogregarin hayat döngüsü diyagramı (Kleespies vd., 1997)

Entomopatojenik olma özellikleriyle öne çıkan Neogregarinler Lepidoptera, Diptera, Coleoptera ve Hemiptera'ya ait önemli zararlı böceklerde ölümcül enfeksiyonlar yaparlar. Neogregarinlerden bazıları geniş bir konak spektrumu sergilerken bazıları da kısıtlı bir konak spektrumuna sahiptir.

Neogregarinlerin birçoğu depo zararlısı böcekler üzerinde patojenite gösterir. Bu enfeksiyon böceklerin direncini oldukça düşürür. Böylece uygun olmayan çevre koşulları ve dış etkenlere (insektisitler, x-ışınları) karşı direnci azalan böcekler sağlıklı böceklere nazaran daha kolay ölürlür. Bu patojenlerin böyle bir etkiye sahip olmaları biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılmalılarının önünü açar. Neogregarinler konak böcekte hızla çoğalırlar, böylece eugregarinlere göre daha ölümcül bir enfeksiyon ortaya çıkar (Lipa ve Triggiani, 1992; Kleespies vd., 1997; Valigurova ve Koudela, 2006).

## 1.6. Bakülovirüs

Böcek virüslerinin genel özelliklerine bakıldığında şimdiye kadar böceklerden izole edilmiş en küçük formlar oldukları görülmektedir. Böcek virüsleri nükleik asit ve bunu çevreleyen protein örtüye (kapsid) sahiptirler. Bazılarında ise nükleik asit ve kapsidi çevreleyen lipid bir zarf mevcutken bazı virüslerde etraflarını çevreleyen protein örtünün yanı sıra başka bir protein yapı içine de gömülmüş inklüzyon cisimciği olarak adlandırılan yapılar olabilirler.

Şu ana kadar en çok çalışılan ve biyoteknolojik amaçla en yoğun kullanılan böcek virüsleri baculovirüslerdir (Kost vd., 2005, Knipe vd., 2007).

Bakülovirüsler, 25 x 250 nm büyüklükte olup 90-200 kilo baz çifti (kbp), yuvarlak-kapalı, çift zincir, süpersarmal DNA ihtiva ederler (Hayakawa vd., 2000, Herniou vd., 2001, Theilmann vd., 2005).

İntrasellular virüsler, polihedra veya granula olarak isimlendirilen proteinsi inklüzyon yapılar içerisine gömülürler. Bakülovirüs familyası, inklüzyon yapıların şekillerine göre *Nükleopolihedrovirus* ve *Granulosis virüs* olmak üzere iki alt cinse ayrılır (Slack ve Arif 2007).

Nükleopolihedrovirüsleri (NPV) en iyi bilinen viruslar olup tanımlanmış eklembacaklı virüslerinin %41'ini teşkil etmektedir. Nükleopolihedrovirus, 1-18 nükleokapsidin bir zarf içerisine gömülmesiyle oluşur. Daha sonra bu zarfa sahip viruslar (virionlar), polihedrin (28 kDa) olarak adlandırılan tek bir proteinden oluşmuş polihedral inklüzyon yapı (PIB) adındaki kristal benzeri cisimler içerisine gömülürler.

NPV'nün replikasyonu, enfekte edilen hücrelerin çekirdeklerinde olur. Bu işlem iki safhada cereyan eder. Birinci safhada, çekirdek içerisinde nükleokapsidler oluşur. Silindir şeklindeki nükleokapsitler, kapsit denilen tüp benzeri yapı içerisinde DNA'yı içerir ve tüplerin iki ucunda taban ve kapak denilen yapılar bulunur. Oluşan nükleokapsitler daha sonra nükleus kanallarından geçerek sitoplazmaya ulaşır ve sonra tomurcuklanma yöntemiyle hücre zarından zarf kazanarak hücreden ayrılırlar. Bu zarflı virüsler (ekstrasellüler viruslar, BV) hücre kültüründe, hücreler arasında in vitro olarak enfeksiyon yapma özelliğine sahip, çomak şeklinde virus formlarıdır.

İkinci safhada ise, nükleus içerisinde üretilen nükleokapsidlerin bir kısmı de novo yöntemiyle zarf kazandıktan sonra, küp şeklindeki protein yapılar içerisine gömülerek PIB'leri oluştururlar. NPV'ye ait PIB'lerin büyüklükleri 0,5-1,5 µm arasındadır. Genel



parçalarını protein matriks ve zarfın oluşturduğu PIB'ler, tabiatta virüs enfeksiyonunun larvadan larvaya taşınmasında rol oynayan virus parçacıklarıdır. Bunlar in vitro enfeksiyon için gerekli değildir. NPV orjinine bakmaksızın bütün böcek hücrelerini enfekte eder ve ölüme neden olur.

Tabiatta, inklüzyon yapılar besinle birlikte larva tarafından alınır. Orta bağırsakta inklüzyon yapılar çözülür ve bu yapılar içerisinde bulunan virüs parçacıkları orta bağırsak lümenine salınır. Virüs parçacıkları daha sonra özel bir reseptör tarafından tanıma neticesinde membran füzyonu yöntemiyle orta bağırsağın tek tabakalı silindirik hücrelerine geçer. Sitoplazmaya geçen nukleokapsidler, sitoplazmada bulunan F-aktin fiberleri vasıtasıyla sitoplazmadan replikasyon bölgesi olan nükleusa geçerler. Nükleusta virüs DNA'sı kapsid örtüden ayrılır. Bu işlem büyük ihtimalle DNA moleküllerine tutulu olan arginin bakımından zengin bir protein olan bazik proteininin fosforilasyonu neticesinde gerçekleşir. Nükleusta, viral DNA replikasyonu ve transkripsiyon işlemleri gerçekleşir.

Replikasyonun başlamasından sonra (enfeksiyondan 8 saat sonra) nukleokapsid inşası oluşur. Bu işlem, yavru virüslerin, enfekte olmuş orta bağırsak hücrelerinin bazal kısmından hemolenf içerisine salınmasıyla sonuçlanır. Bu ekstrasellular virüs parçacıkları, daha sonra reseptör bağımlı endositozis yoluyla, hemositler, bağ dokusu hücreleri, yağ dokusu, trakeal elementler, kas hücreleri ve Malpighi tüpleri gibi hemolenfe dönük olan hücreleri enfekte ederler. Yeni enfekte olan hücrelerde, virüs parçacıkları endozomlar içerisine geçerler. Endozom içindeki düşük pH, ECV zarfında mevcut olan glikoprotein gp64'ü harekete geçirir. Bu glikoprotein membran füzyonunu katalizleyerek nukleokapsitlerin sitoplazmaya geçişini sağlar. Bundan sonra salınan nukleokapsitler, yeni bir replikasyon işlemini başlatırlar.

Replikasyon işleminin ikinci basamağında (enfeksiyonları 12 saat sonra) virüs parçacıkları artık hemolenf içerisine salınmaz, bunun yerine pirimer ve sekonder olarak enfekte olmuş hücrelerin nükleuslarında yeni yapılan polihedralar içerisine gömülürler. Sonuç olarak, larva polihedra ile dolar, virüs tarafından sentezlenen kitinaz ve katepsinaz etkilerine yenik düşen larva ölür, böylece çok sayıda polihedra (108-109 / larva) çevreye salınmış olur.

Granulozis virüsler de zararlı böceklerin kontrolünde büyük bir öneme sahiptir. Konağın yağ dokusu, trakeal veya epidermal hücrelerinin sitoplazmasında ya da nükleusunda gelişen bu virüsler 200 x 400 nm boyutlarında oval şekilli inklüzyon yapıları, içinde genelde tek nadiren de çift olarak bulunurlar (D'Amico ve Slavicek, 2012).

### 1.6.1. Bakülovirüslerin Zirai Mücadelede Kullanımı

Kimyasal pestisidlerin olumsuz etkileri, predatör, parazitler ve patojenler gibi biyolojik olarak güvenilir alternatiflerin araştırılmasına sebep olmuştur. Bu gruplar içerisinde bulunan organizma veya biyolojik mücadele ajanları, zararlı böceklerin çoğalmalarını engelleyebildiklerinden zirai mücadelede bunlardan istifade edilmektedir. Bunlar arasından Bakülovirüsler etkili, güvenli ve seçici bir biyolojik kontrol ajanıdır (Cunningham, 1995; Miller, 1997; Moscardi, 1999). Kimyasal insektisidlerin aksine faydalı organizmalara ve çevreye zarar vermezler.

Parazit ve predatörler virüsleri farklı bölgelere taşıyarak enfeksiyonun farklı popülasyonlara ulaşmasını sağlarlar. Farklı bölgelerdeki böcek larvaları virüslere karşı aynı hassasiyete sahiptir. Düşük dozla enfekte olmuş ergin dişi böcekler virüsleri yumurtalar vasıtasıyla gelecek generasyona taşır. Genel olarak virüsler bağırsakta çoğaldığı için viral enfeksiyon, toplu haldeki larval popülasyon içinde hızlıca yayılabilir. Ayrıca ağaçların üst dallarında enfekte olmuş larva kadavralarının parçalanmasıyla dağılan virüsler alt dallardaki diğer kolonileri kolaylıkla enfekte edebilmektedir (Yaman vd., 2001).

Zararlı böcekler ile mücadelede yaygın olarak kullanılan kimyasal insektisidlerin çevreye yapmış oldukları yan etkilerden kurtulmak ve geleceğimizi güvence altına almak için biyolojik mücadele yönteminin geliştirilmesi kaçınılmaz olmuştur. Biyolojik mücadelede kullanılan ajanlardan virüsler zararlıların doğal düşmanları olup çoğunlukla sadece o zararlı üzerinde etkiye sahiptir. Böcek virüslerin izole edilip geliştirilerek zararlı böcekler ile mücadelede kullanılması gelecek nesilleri tehdit eden kimyasalların kullanımını azaltacaktır.

Bakülovirüsler, çok spesifik olmalarından ve bitki ile omurgalıları enfekte etmediklerinden dolayı son zamanlarda zararlı böceklerin kontrolü için virüsler arasında en çok tercih edilenidir. Şimdiye kadar, Bakülovirüslere karşı herhangi bir dirençliliğe rastlanılmamıştır ve moleküler genetiği detaylı bir şekilde çalışılmıştır. Ayrıca, bu çalışmalar bakülovirüslerin genomlarının değiştirilmesine imkan vermiş, yabancı gen ekspresyonu için kullanılmasına ve insektisidal özelliklerin geliştirilmesine yol açmıştır.

Tabiatta Bakülovirüsler, duyarlı böcek popülasyonlarının azalmasına sebep olur. Bu ilk olarak 1911'de Reiff tarafından ağaç güvesi hastalığının (bir Bakülovirüs enfeksiyonu), bir kontrol mekanizması olarak kullanılabileceğini tavsiye etmesiyle başlamıştır. Bu özellik geliştirilerek, Bakülovirüsler tabii zararlı böcek kontrol ajanı olarak kabul edildiler

ve günümüzde bunlar zararlı böceklere karşı kullanılmaktadırlar. Bu amaçla üretilmiş ve ticari olarak satışa sunulmuş bir çok Bakülovirüs orjinli ürün mevcuttur.

### **1.7. Tezin Amacı**

Hazırlanan bu doktora tezinde, depolanmış ürünlerin önemli bir zararlısı olan, Lepidoptera takımı, Pyralidae familyasına mensup Akdeniz Un Güvesi, *Ephestia kuehniella*'nın hastalık etmenlerinin araştırılması, karakterizasyonu ve biyolojik mücadelede kullanılma potansiyellerinin irdelenmesi amaçlanmıştır.

## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Tez çalışması boyunca depolanan ürünlerde zarara neden olan *E. kuehniella* Zeller (Lep.: Pyralidae)'de doğal enfeksiyon oluşturan hastalık etmenlerinin tespiti ve teşhisinin yapılabilmesi için ışık, elektron (TEM) mikroskopisi ve moleküler çalışmalar gerçekleştirildi.

### 2.1. Örneklerin Elde Edilmesi

Bu çalışmanın konusunu oluşturan *E. kuehniella* örnekleri 2012 ve 2013 yıllarında Trabzon, Rize ve Ankara illerinden temin edildi. Arazi çalışmaları sırasında zararlıya ait erginler dikkatlice uygun kaplara toplandı. Erginlerin elde edildiği yer, tarih ve önemli olarak nitelendirilebilecek her türlü bilgi not edildi ve toplanan örnekler en kısa sürede, güvenli bir şekilde laboratuvara getirildi. Bu örneklerin laboratuvar şartlarında çoğalmaları sağlandı ve elde edilen yumurtalardan çıkan larvalar erginleştirildi.

### 2.2. Makroskobik Çalışmalar

Sağlıklı bir böceğin biyoloji ve fizyolojisine uyan, hayat evresi, hayat evresinin süresi, vücut hacmi, davranış, görünüm gibi ölçütler makroskobik incelemede herhangi bir hastalığın varlığı veya hastalık tipinin belirlenmesinde büyük kolaylıklar sağlamaktadır.

Makroskobik incelemeler sonucunda herhangi bir hastalık belirtisi gösteren böcekler incelenmek üzere + 4° C'de muhafaza edildi.

### 2.3. Mikroskobik Çalışmalar

Akdeniz Un Güvesi *E. kuehniella*'da tespit edilen patojenlerin; morfolojik, anatomik ve histopatolojik özelliklerini ortaya koymak için ışık ve elektron mikroskobu (TEM) çalışmaları yapıldı.

### 2.3.1. Işık Mikroskobu Çalışmaları

Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen *E. kuehniella* larvaları, hazırlanan Ringer solüsyonu içinde disekte edildi. Diseksiyon, larvaların iç organlarının dışarı çıkarılması ile yapıldı. Tüm doku ve organları içerecek şekilde hazırlanan preparat ışık mikroskobu (Olympus CX41) altında 40X'ten 1000X'e kadar olan büyütmelemlerle incelendi. Enfeksiyon tespit edilen preparatlar, DP-25 dijital kamera ve DP2-BSW resim sistemine sahip Olympus BX51 mikroskobuyla yeniden incelendi, patojenin fotoğrafları çekildi ve karakterizasyonu için gerekli olan ölçümler yapıldı (Yaman vd., 2009a, 2009b; Yaman ve Radek, 2011).

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

#### 2.3.1.1. Giemsa Boyama

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

Enfeksiyon tespit edilen preparatların boyama işlemi sırasıyla şu aşamalardan geçirilerek yapıldı; öncelikle preparat oda sıcaklığında kurutuldu, % 100'lük metil alkolde 3 dakika bekletilerek fikse edildi ve tekrar oda sıcaklığında kurutulup saf suyla hazırlanan %5'lik Giemsa boyasında 16 saat boyamaya bırakıldı. Boyanan preparat steril suyla yıkanıp kurutuldu ve incelemeye hazır hale getirildi. Son olarak da immersiyon yağı ile birlikte 1000X'lik büyütmede preparatlar incelendi (Toguebaye vd., 1988; Undeen ve Vavra, 1997; Yaman vd., 2009a, 2009b; Yaman vd., 2011).

### 2.3.2. Elektron Mikroskobu Çalışmaları

Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) çalışmaları, incelenmesi istenen yapıların morfoloji ve içyapılarının ayrıntılı bir şekilde açığa çıkarılması bakımından çok önemlidir. Bu tez çalışmaları sırasında tespit edilen enfeksiyonların tür tespitlerinin yapılmasında elektron mikroskobunun katkısı büyüktür. *E. kuehniella* larvalarından izole edilen mikrospor, neogregarin ve virüslerin detaylı yapısı Almanya, Berlin Üniversitesi, Zooloji Enstitüsü Laboratuvarı'nda Philips JM 208 elektron mikroskobunda incelendi ve fotoğraflandı.

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

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

Fiksasyon;

Doku materyali pH'ı 7,2 olacak şekilde 0,1 M cacodylate buffer ile seyreltilen % 2,5'lük glutaraldehid içerisinde iki saat bekletildi.

0,1 M cacodylate buffer pH 7,2 içerisinde 10'ar dakika üç kez yıkandı.

Fiksasyon sonrası  $O_5O_4$  ile 2 saat zayıflatıldı. Tekrar 0,1 M cacodylate buffer pH 7,2 içerisinde 10'ar dakika üç kez yıkandı.

Dehidrasyon;

Hazırlanan % 30, % 50 ve % 70'lik etanol ile sırası ile 15'er dakika muamele edildi.

Hazırlanan % 90, % 96 ve % 100'lük etanol ile üçer kez 10'ar dakika muamele edilerek dehidrasyon sağlandı.

Resin içine gömme;

1:1 oranında hazırlanan ERL: etanol karışımı ile 1 saat muamele edildi.

3:1 oranında hazırlanan ERL: etanol karışımı ile 4 saat muamele edilerek Epoxy resin numuneye emdirildi.

Saf ERL içerisinde bir gece boyu bekletildi. Taze saf ERL ile beem tüplerine aktarıldı ve ortalama 48 saat 70 °C'de etüv içerisinde sertleşmeye bırakıldı.

Resinlerden ultra mikrotom kullanılarak kesitler alındı bu kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyandı (Radek ve Fabel, 2000; Yaman ve Radek, 2003; Yaman vd., 2009b, 2010).

## 2.4. Moleküler Çalışmalar

### 2.4.1. DNA İzolasyonu

Mikroskopik incelemeler sonucunda yoğun enfeksiyon gözlenen preparatlardaki hastalık etmenlerine ait spor yada ookist içeren solüsyonlar cam pastör pipet vasıtasıyla toplandı. Saflaştırılan spor ve ookist örneklerinden 50 µl alınarak bir ependorf tüp içerisine aktarıldı, 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).

### 2.4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

DNA izolasyonu tamamlandıktan sonra Multiplex PZR tekniği kullanılarak protist kökenli hastalık etmenlerine ait rDNA amplifikasyonu gerçekleştirildi. Multiplex PZR çalışmalarında, mikrosporidyum etmenleri için 18F 5'-CACCAGGTTGATTCTGCC-3' ve 1537R 5'-TTATGATCCTGCTAATGGTTC-3' primerleri, neogregarin etmenleri için ise, p71 5'-CATGCTGGAGTATTCAGGGCGTAAC-3' ve p80 5'-TAGTTTTGCAATTGGAATGAGTTTGA-3' primerleri kullanıldı (Valles ve Pereira, 2005; Hylis vd., 2005). 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 transilliminatorde 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).

## 2.5. *Ephestia kuehniella*'ya Uygulanan Biyoassay Deneyleri

*Ephestia kuehniella*'dan tespit edilen patojenlerin hangi dozlarda zararlı olan böcekte ne oranda ölüm gerçekleştirdiğinin tespit edilmesi için biyoassay çalışmaları yapıldı.

Biyoassay deneyleri için kullanılan *E. kuehniella* larvaları Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bünyesinde kurulan Böcek Üretim Merkezi (BÖCÜM)'nden temin edildi. Mikrospor ve Neogregarin patojenlerinin böceği ne kadar etkileyeceğini tespit etmek için gerçekleştirilen deneylerde toplam 600 *E. kuehniella* larvası kullanıldı. Mikrospor deneyleri için  $1,6 \times 10^7$  (spor/ml),  $1,6 \times 10^6$  (spor/ml),  $1,6 \times 10^5$  (spor/ml),  $1,6 \times 10^4$  (spor/ml) ve kontrol grubu olmak üzere 5 grup oluşturuldu. Neogregarin deneyleri için ise uygulanan dozajlar  $1,8 \times 10^6$  (ookist/ml),  $1,8 \times 10^5$  (ookist/ml),  $1,8 \times 10^4$  (ookist/ml),  $1,8 \times 10^3$  (ookist/ml) olarak belirlendi ve yine kontrol grubu oluşturuldu. Deneylerde kullanılan larvalar 2. instar larvalarından seçildi. Her biri ayrı bir ependorf tüpüne yerleştirilerek aynı ağırlıkta ve eşit yüzey alanına sahip findık ile beslendi. Her grupta 20'şer larva kullanıldı. Deneyler 3'er kez tekrarlandı. Yürütülen deneylerin sonuçları 3 deneyin ortalaması olarak verildi.

Diseksiyonları sonucu izole edilen ve saflaştırılan patojen numuneleri eşit boyutlardaki findık parçalarına damlatılıp, parça yüzeyine dağıtıldı ve kurumaya bırakıldı. Daha sonra kontrol grubu haricindeki deney gruplarına bu findık parçaları verildi. Kontrol grubundaki bireyler temiz ve enfeksiyon bulunmayan findık parçaları ile beslendi. Sonraki günlerde besinlerini tüketen tüm grupların buldukları kaplar yenilendi ve bireyler temiz ve süspansiyon bulunmayan findık parçaları ile günlük olarak beslendi.

21 günlük deney süresince tüm gruplar,  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de  $\%75 \pm 1$  nem oranına ayarlanmış iklim dolabında bulunduruldu.

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

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



### **3. BULGULAR**

Bu doktora tezi süresince yapılan çalışmalar ile ülkemizde önemli bir depo zararlısı olan *Ephestia kuehniella*'da hastalık oluşturan virüs, mikrosporidyum ve neogregarin olmak üzere üç farklı hastalık etmeni tespit edildi ve bu etmenlerin varlığı, dağılımı ve karakterizasyonu gerçekleştirildi.

Bu doktora tezinde tespit edilen mikrosporidyum ve neogregarin etmenleri ülkemiz için ilk kayıt olma özelliklerini taşımaktadır. Literatür araştırması yapıldığında *E. kuehniella* üzerinde virüslerin etkisini araştırmak için çeşitli deneylerin yapılmış olduğu görülse de dünyada şimdiye kadar bu depo zararlısından izole edilmiş doğal bir virüs kaydı yoktur. Bu çalışmada viral etmen ile ilgili yapılan tespitler dünya için ilk olma niteliğini taşımaktadır. Tespit edilen bu üç hastalık etmeninin detaylı karakterizasyonu ışık, elektron mikroskobu ve moleküler yöntemler kullanılarak yapıldı. Tez süresince elde edilen bulgular sırasıyla aşağıda verilmektedir.

#### **3.1. *Ephestia kuehniella*'da Tespit Edilen Hastalık Etmenleri**

Bu doktora tezinde, 2012-2013 yılları arasında Trabzon ve Rize illerindeki fındık fabrikalarından ve gıda depolarından örnekler toplanarak arazi çalışması gerçekleştirildi. Örnekler tüm patojen ve parazitlerin tespiti için dikkatli bir şekilde disekte edilerek incelendi. Bu doktora tezinde *E. kuehniella*'nın literatürde mevcut patojen ve parazitlerinden farklı yeni bir tür patojen bulgusu açısından araştırıldı.

##### **3.1.1. *Ephestia kuehniella*'da Belirlenen Viral Etmen**

*E. kuehniella*'da enfeksiyon yapan viral patojen makroskobik, morfolojik ve anatomik (ışık ve elektron mikroskobu) yöntemler kullanarak karakterize edildi.

### **3.1.1.1. Viral Etmene Ait Makroskobik Belirtiler**

Virus varlığı ilk olarak enfekte olmuş taze böcek dokularının doğrudan incelenmesiyle tespit edildi. Yapılan çalışmalarda incelenen larvanın önce uyuşuk bir hal aldığı, hareketinin yavaşladığı, beslenmeyi bıraktığı gözlemlendi.

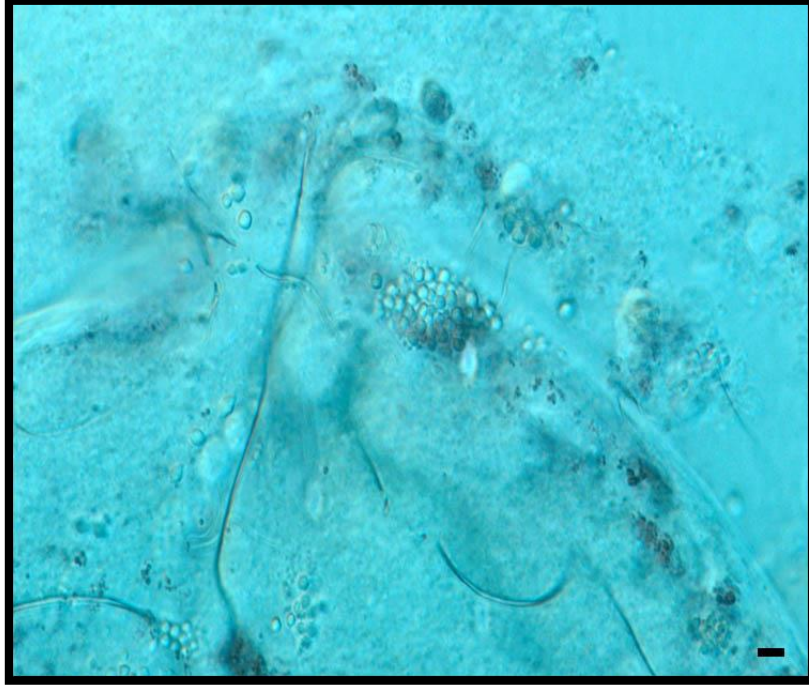
### **3.1.1.2. Viral Etmenin Mikroskobik Olarak Belirlenmesi**

Bu tez çalışmasında, tespit edilen viral etmenin mikroskobik olarak belirlenmesi için ışık ve elektron mikroskobu (TEM) çalışmaları yapıldı. Tespit edilen virüs, ışık mikroskobu altında saptandıktan sonra TEM çalışmaları ile patojenin ultrastrüktürel yapısı ortaya çıkarıldı ve karakteristik özelliklerinin belirlenmesi açısından detaylı olarak incelendi.

#### **3.1.1.2.1. Işık Mikroskobu ile Viral Etmenin Belirlenmesi**

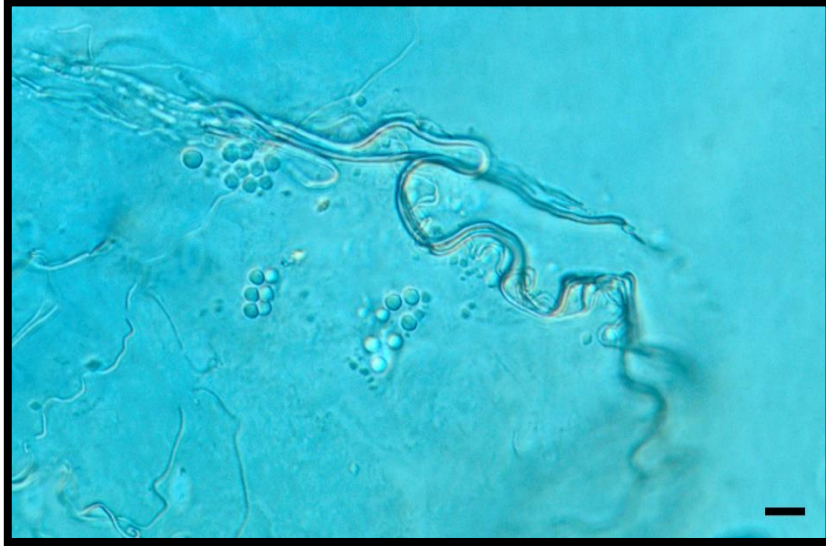
Laboratuarda yapılan makroskobik incelemeler sonucunda viral hastalık taşıdığı düşünülen larvanın mikroskop altında incelenmesi sonucunda virüsün varlığı mikroskobik olarak teyit edildi.

Işık mikroskobu çalışmalarında doku direkt olarak incelendi. Doğrudan taze dokuların incelenmesi çalışmalarında, enfekte olmuş dokulardaki çekirdek ve sitoplazma incelenen normal dokular ile karşılaştırılarak net bir şekilde ayırt edildi. Taze preparatlardaki doku hücrelerinde ayrıntının kaybolması, özellikle çekirdeğin dağılması, çekirdek ya da sitoplazmada sık materyalin görünümü enfeksiyonu ve virojenik bir gelişimi gösterdi. Enfeksiyonun çok ilerlediği durumlarda viral etmene ait Polihedral İnküzyon Yapıları (PIB) süspansiyon halinde kolaylıkla gözlenebildi. Viral etmen çoğunlukla hemolenf ve bağırsakta gözlemlendi (Şekil 4). Trake dokularının etrafında da zaman zaman viral etmene ait PIB yapıları gözlemlendi (Şekil 5).



Şekil 4. *E. kuehniella* bağırsağında ve hemolenfinde viral etmene ait PIB yapıları (Bar: 5  $\mu$ m)

Tespit edilen viral etmene ait inklüzyon yapılarının çapı  $1,97 \pm 0,46$  (1-3,04)  $\mu$ m olarak belirlendi.



Şekil 5. *E. kuehniella* trake sistemi etrafında viral etmene ait PIB yapıları (Bar: 5  $\mu$ m).

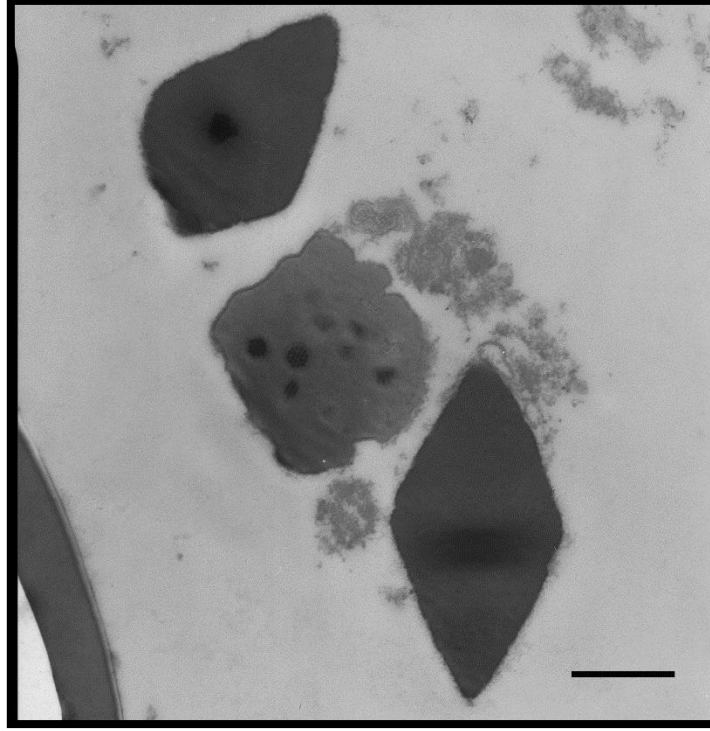
### 3.1.1.2.2. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile Viral Etmenin İncelenmesi

Çeşitli hastalık tiplerini karakterize etmek için, farklı inklüzyon yapılarının varlığı kullanılabilir. Özellikle malpigi tüpleri gibi böcek dokularında inorganik kristaller mevcuttur. Bu inorganik kristallerin şekil ve hacimleri çoğu zaman virus inklüzyonları ile karıştırılabilir. Virüs inklüzyon yapılarını inorganik kristallerden ayırmak ve bunları tespit etmek için ışık mikroskobu ile yapılan çalışmalar her zaman yeterli olmayabilir. Sonuçları daha güvenilir ve geçerli kılabilmek için transmisyon elektron mikroskobu (TEM) çalışmaları yapıldı.

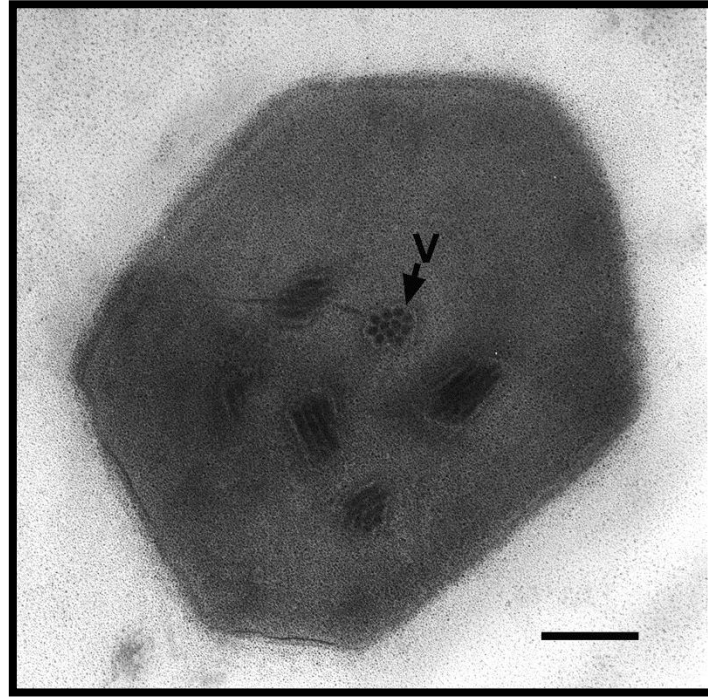
Viral etmene ait inklüzyon yapılarının TEM ile incelenmesi sonucunda, inklüzyon yapılarının genelde hegzagonal kenarlı ya da yuvarlak kenarlı olduğu gözlemlendi. Bu tip inklüzyon yapıları NPV virüsleri için karakteristik iken, çalışmalar sırasında piramid şekilli inklüzyon yapılarına da rastlanıldı. İncelenen inklüzyon yapılarında uzun çubuk şekilli nükleokapsitleri içeren virionlara sahip olduğu görüldü (Şekil 6, 7). Çubuk şekilli nükleokapsitleri içeren virionlar, Baculoviridae familyasından nükleopolihedrovirüsler (NPV) için tipik özelliklerdir. Baculovirüslerden nükleopolihedrovirüsler sahip oldukları her bir virionun içerdiği nükleokapsid sayısına dayanılarak iki temel gruba ayrılırlar.

Tespit edilen NPV'nun her bir virionunun içerdiği nükleokapsid sayısının bir ya da birden çok olduğunu belirlemek için yapılan elektron mikroskobu çalışmalarında izole edilen virüse ait her bir virionun Şekil 7'de görüldüğü gibi birden çok nükleokapsite sahip olduğu, viriondaki kapsid sayısının 28'e kadar çıkabildiği tespit edildi. Nükleokapsidlerin ebatları 190-270 x 30-40 nm olarak belirlendi. (Şekil 6 ve 7). Her virionda 1 ila 28 adet arasında nükleokapsid gözlemlendi. Işık mikroskobu incelemelerinde gözlenen viral-protist karma enfeksiyonları TEM çalışmalarında da net bir şekilde gözlemlendi (Şekil 10).

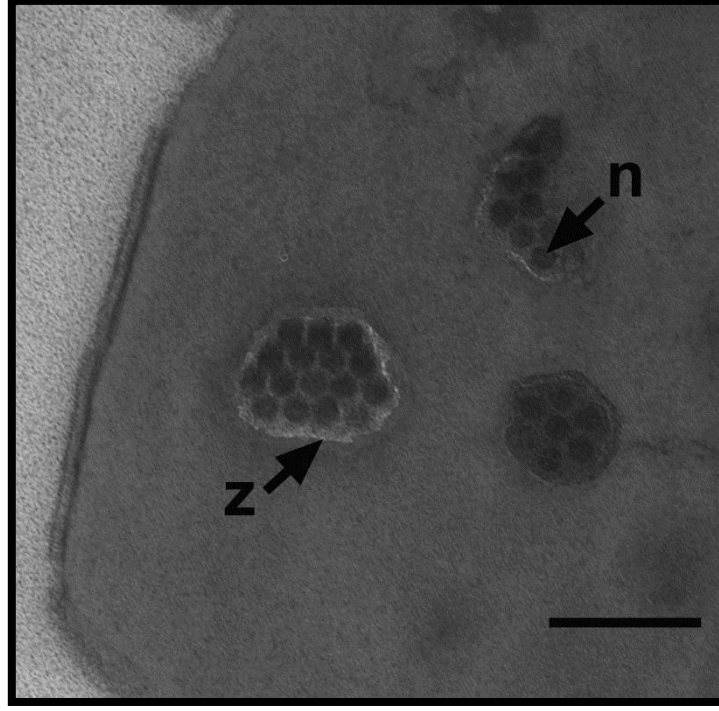
Elde edilen viral etmene ait ölçümler ülkemizde tespit edilen diğer Lepidopterler kaynaklı viral etmenlere ait ölçümler ile karşılaştırıldı.



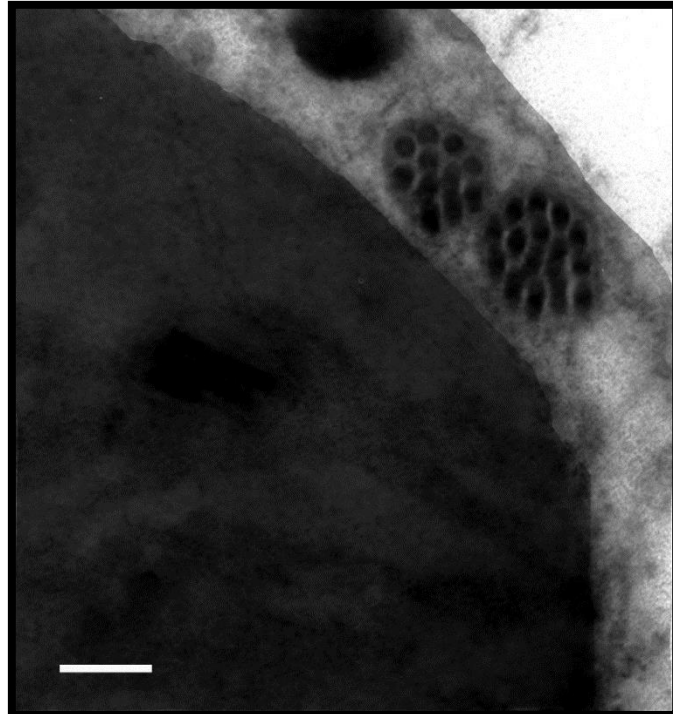
Şekil 6. *E. kuehniella*'da NPV'ye ait PIB'lerin TEM'deki enine kesiti;  
(Bar: 1.5µm)



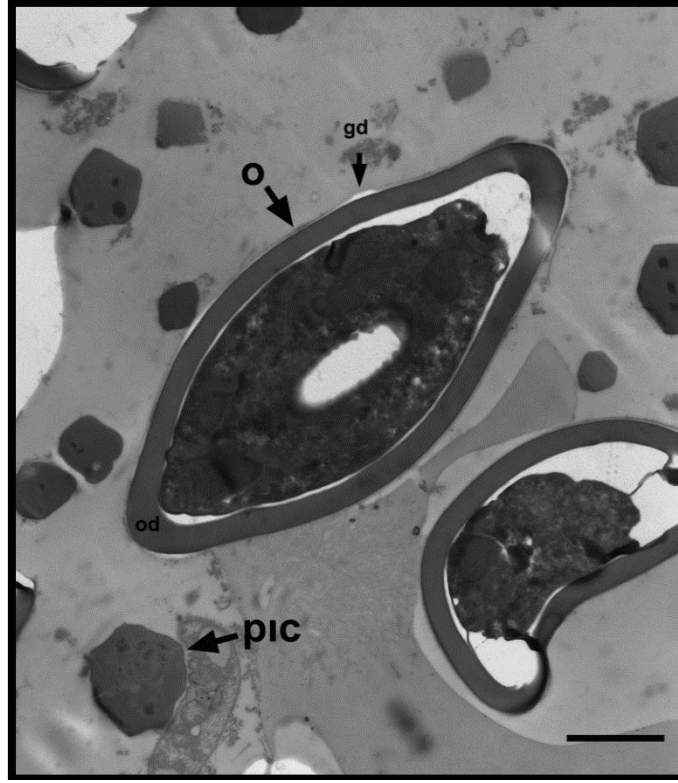
Şekil 7. *E. kuehniella*'da NPV'ye ait PIB'lerin TEM'deki enine kesiti; v:  
Virion (Bar: 350 nm)



Şekil 8. *E. kuehniella*'da NPV'ye ait PIB'lerin TEM'deki enine kesiti; z: Zarf, n: Nükleokapsit (Bar: 400 nm)



Şekil 9. *E. kuehniella*'da NPV'ye ait virionlar PIB'yi terk ederken TEM'deki enine kesiti; (Bar: 400 nm)



Şekil 10. *E. kuehniella*'da NPV ve Neogregarin etmenlerinin bir arada TEM görüntüsü; O: Ookist, gd: Gametokist duvarı, od: Ookist duvarı pic: Poliinklüzyon cisimciği (Bar: 1,5 µm)

### 3.1.2. *Ephestia kuehniella*'da Mikrospor Etmeninin Belirlenmesi

*Ephestia kuehniella*'da enfeksiyon yapan mikrosporidyum etmeni makroskobik, morfolojik ve anatomik (ışık ve elektron mikroskobu) yöntemler kullanarak karakterize edildi.

#### 3.1.2.1. Mikrospor Etmenine Ait Belirtilerin Makroskobik Olarak Belirlenmesi

Mikrospor enfeksiyonu böcek üzerinde makroskobik olarak gözlenebilen birtakım semptomlar oluşturur. Böcekte iştah kaybı, harekette yavaşlama, bazı vücut kısımlarının genişlemesi, deride gözlemlenebilen renk değişimi, kütikül üzerinde belirgin leke oluşumları ve larvaların gömlek değişimlerindeki anormallikler bu semptomlar arasında sayılabilir. Ayrıca dişi böceklerde yumurtlama veriminde azalmanın gerçekleştiği de

bilinmektedir (Joudrey ve Bjørnson, 2007). Çalışmalar sırasında, enfekte olmuş böceklerin hareket yeteneklerinde azalma görüldü. Ayrıca, diseksiyon esnasında bazı böceklerin hemolenfinin süt beyazı bir renge büründüğü belirlendi. Hemolenfin süt beyazı bir renk alması mikrospor enfeksiyonunun belirlenmesinde önemli bir kriterdir. Şüphelenilen enfeksiyonun belirlenmesinde makroskobik bulgular önemli olsa da, kesin yargıya varabilmek için mikroskobik düzeydeki bulguların değerlendirilmesi gereklidir.

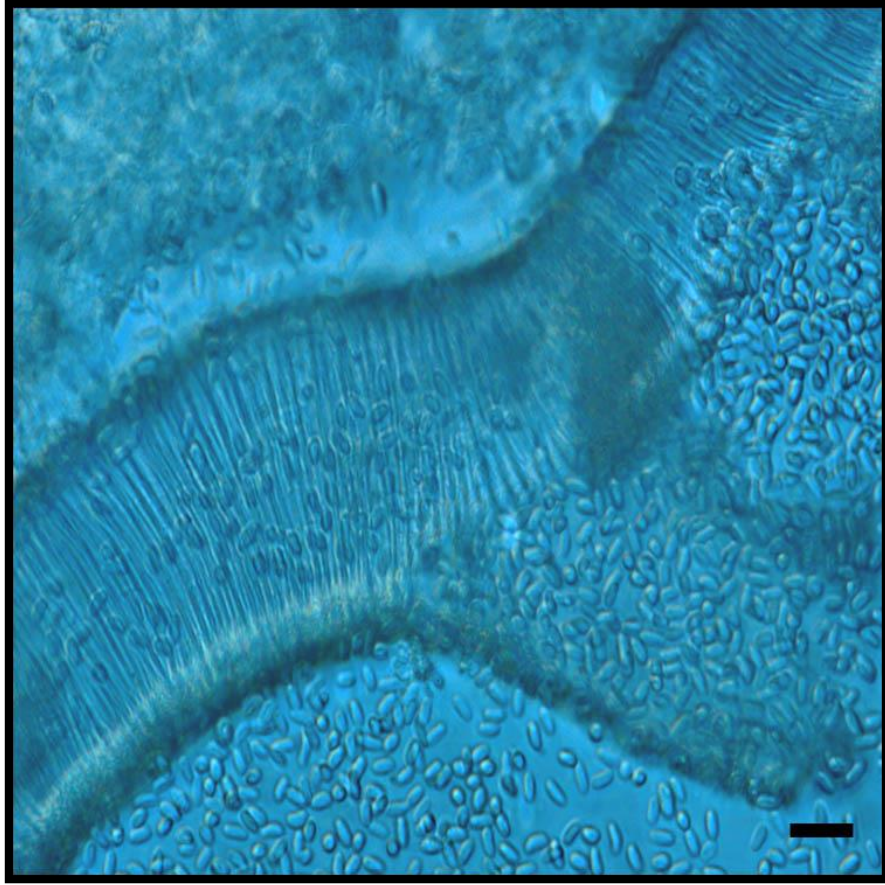
### **3.1.2.2. Mikrospor Etmeninin Mikroskobik Olarak Belirlenmesi**

Bu doktora tezinde, tespit edilen mikrospor etmeni ışık ve elektron mikroskobu (TEM) çalışmaları ile mikroskobik olarak tespit edildi. Tespit edilen mikrospor patojeni, ilk olarak ışık mikroskobu altında saptandı. Taze preparatlardaki ışığı farklı açıyla kıran sporlar, mikrosporların karakteristik hayat safhası olup, incelemelerde gözlemlendi. Mikrospor varlığının teyit edilmesi için yaygın olarak kullanılan Giemsa boyama tekniği uygulandı ve spor yapıları yeniden incelendi. Son aşama olarak TEM çalışmaları yapılarak mikrospor etmeninin ultrastrüktürel yapısı ortaya çıkarıldı. TEM çalışmaları ile mikrospor etmeninin karakteristik özellikleri detaylı olarak irdelendi. TEM çalışmaları moleküler yöntemler ile desteklendi.



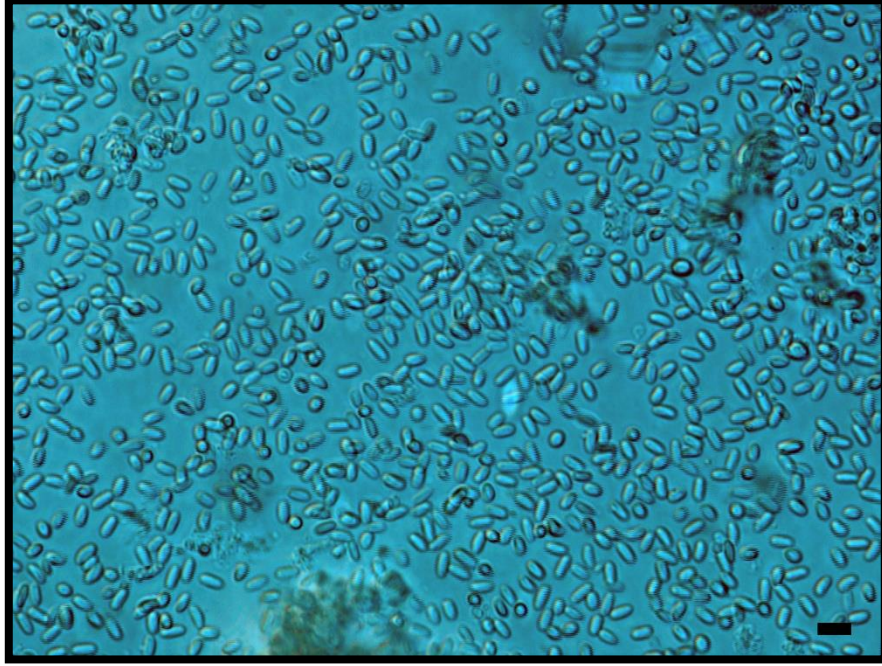
### 3.1.2.2.1. Işık Mikroskobu Çalışmaları ile Mikrospor Etmeninin Belirlenmesi

İncelenmek üzere diseksiyonu yapılan örneklerde mikrospor etmenine ait önemli hayat safhaları ışık mikroskobu çalışmalarında dikkatli bir şekilde tespit edilmeye çalışıldı. Yapılan diseksiyonlarda etmenin mikroskop altında tespitinde en temel safha olan spor safhası gözlemlendi. Mikrosporidyum etmeni konağa ait bağırsak, yağ dokusu, malpigi tüpleri, hemolenf (Şekil 11) ve salgı bezleri gibi birçok doku ve organda gözlemlendi.



Şekil 11. *E. kuehniella*'nın trake ve hemolenfnde mikrosporidyum etmenine ait serbest sporlar (Bar: 10 µm)

Mikroskopik alışmalar sonucunda patojene ait serbest sporlar ve kese içerisinde sporlar (oktosporlar) olmak üzere iki farklı spor tipi gözlendi. Serbest sporlar  $4,00 \pm 0,38$  (3,06-4,54)  $\mu\text{m}$  uzunlukta ve  $1,74 \pm 0,20$  (1,41-2,28) genişlikte ölçüldü (n = 50) (şekil 12).

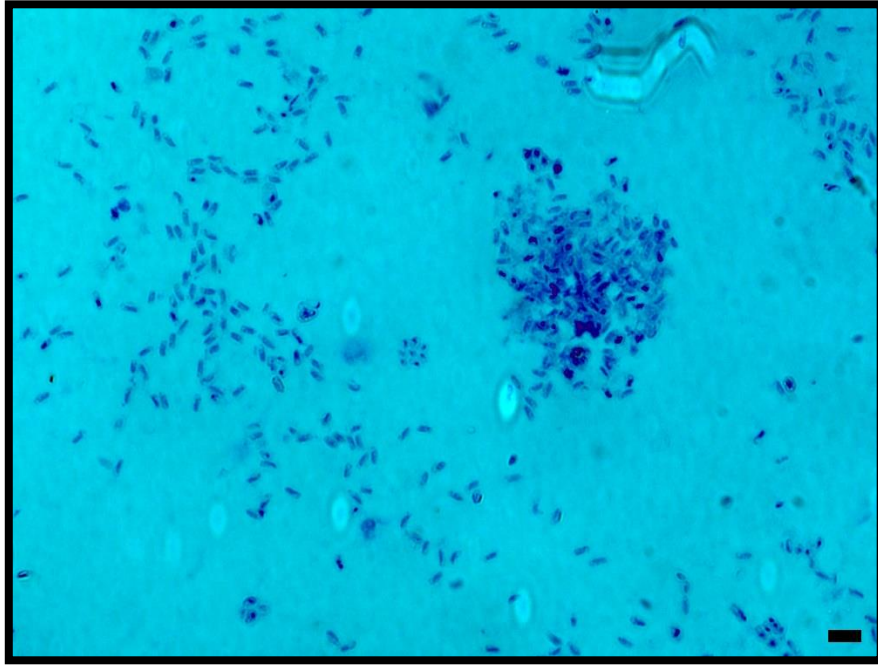


şekil 12. *E. kuehniella*'daki mikrosporidyum etmenine ait serbest sporlar (Bar: 5  $\mu\text{m}$ )

### 3.1.2.2.1.1. Giemsa Boyama ile Mikrospor Etmeninin Belirlenmesi

Böceklerde enfeksiyona neden olan entomopatojenler ışık mikroskobu altında morfolojik olarak birbirlerine benzemektedir. Özellikle birçok mantar türüne ait morfolojik yapılar ile mikrospor patojenine ait karakteristik spor safhasına benzerlik göstermektedir. Bu tür karışıklıkları engellemek, mikrospor patojenini ayırmak ve tespit etmek için, Giemsa boyama metotları kullanıldı. Giemsa boyası kullanılarak enfeksiyona yakalanmış böceklerde mikrospor patojeninin varlığı ayırt edildi. Giemsa boyası nüklear ve sitoplazmik hücresel ayrıntıları boyayarak hücresel yapıları net olarak ayırabilen farklı bir boyadır.

Mikrosporidyum varlığı giemsa boyamasıyla da teyit edildi (Şekil 13) ve boyama sonucunda serbest sporlar  $3,83 \pm 0,34$  (3,12-4,73)  $\mu\text{m}$  uzunlukta ve  $1,71 \pm 0,22$  (1,11-2,23)  $\mu\text{m}$  genişlikte ölçüldü (n = 50).

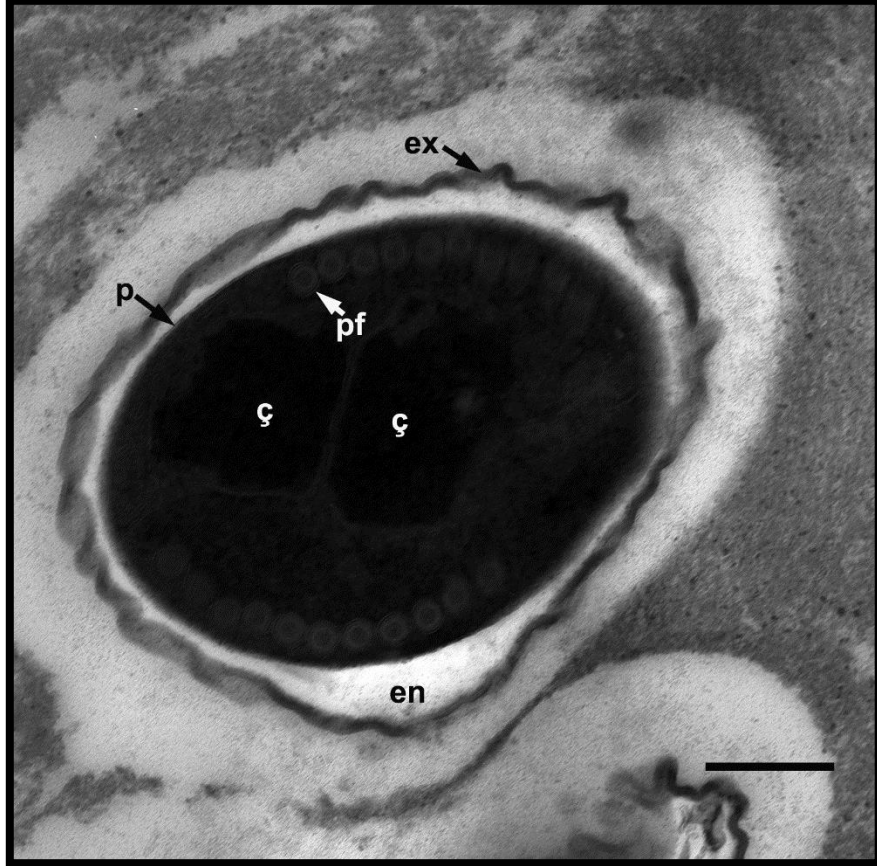


Şekil 13. *E. kuehniella*'daki mikrosporidyum etmenine ait giemsa boyalı serbest ve oktosporlar (Bar: 10  $\mu\text{m}$ )

### 3.1.2.2.2. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile Mikrospor Etmeninin İncelenmesi

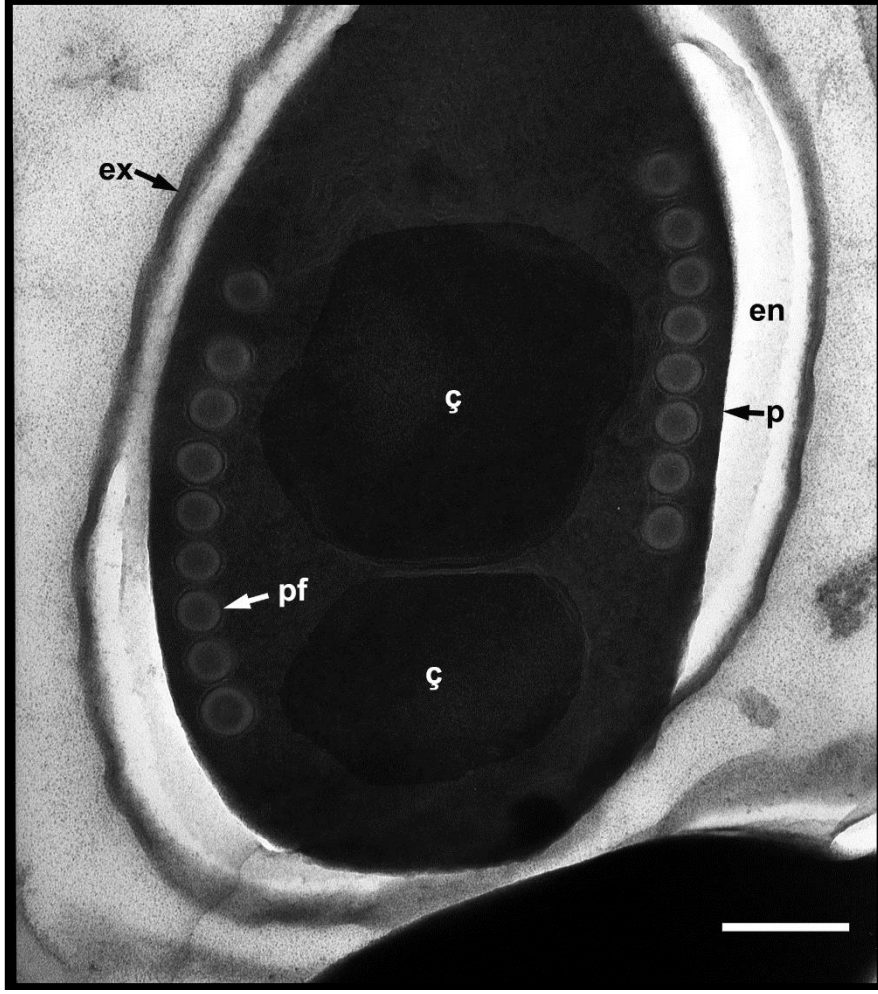
Işık mikroskobu altında ve giemsa boyama metodu ile yapılan incelemelerde *Ephestia kuehniella*'da hastalık oluşturan etmenlerden birinin mikrospor olduğu tespit edildi. TEM çalışmaları sayesinde tespit edilen etmen, diğer etmenlerden ayırt edilebildi ve tür seviyesinde tespiti yapıldı. Günümüzde mikrosporların 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 14), sporoblast (Şekil 14) ve spor (Şekil 14) safhaları tespit edildi. Ultrastrüktürel çalışmalar serbest oval sporların iki çekirdekli (Şekil 14), diplokaryotik olduğunu gösterdi. Çekirdek çapları 450-600 nm olarak belirlendi. Spor duvarı 105-180 nm olarak tespit edildi. Spor duvarı ekzospor ve endospor olmak üzere iki tabakadan oluşurken, endospor 75-130 nm, ekzospor ise 30-50 nm olarak belirlendi (Şekil 15). Mikrosporidyum patojeninin polar filamentleri 10-11 kıvrımlı ve izofilar polar filament tipinde belirlendi (Şekil 16). Polar filament çapı 90-100 nm olarak belirlendi. Bu etmene ait polaroplastın lamellar tip olduğu ve anteriörde ince ve posteriörde düzensiz kalın lamellar tip polaroplast olduğu belirlendi (Şekil 16).

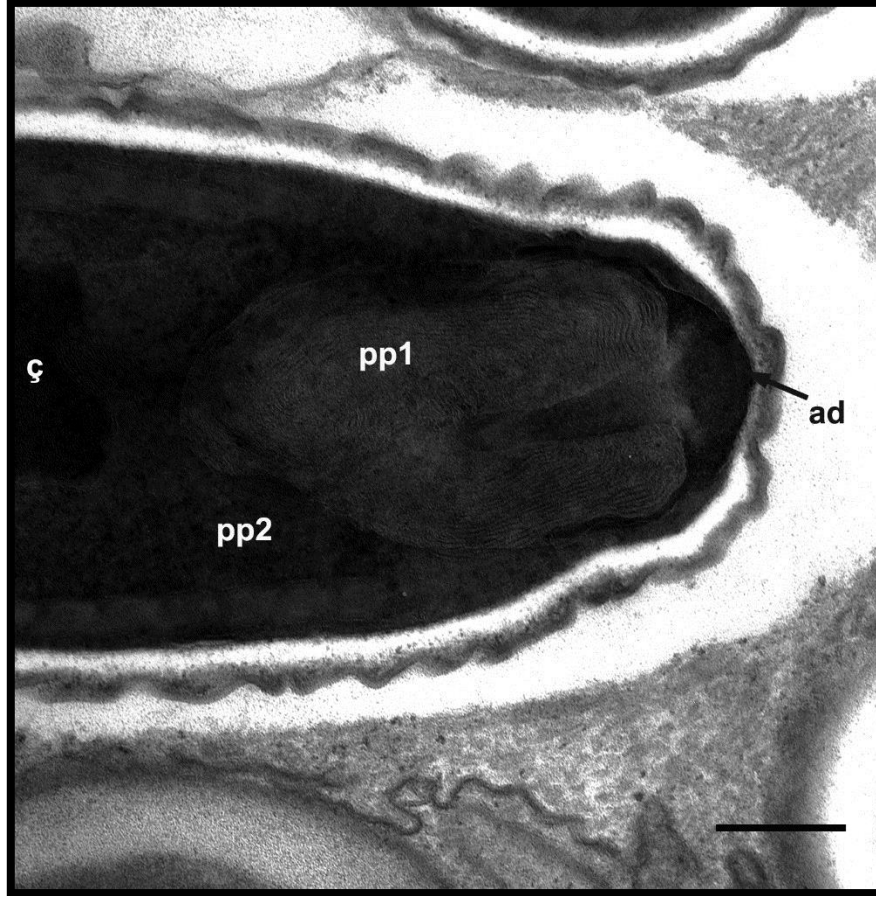


Şekil 14. *E. kuehniella*'da tespit edilen mikrosporidyum etmenine ait spor yapısı; ex: Ekzospor, en: Endospor, p:Plazma zarı, pf: Polar filament, ç: çekirdek (Bar: 500 nm)





Şekil 15. *E. kuehniella*'da tespit edilen mikrosporidyum etmenine ait hüresel yapı; ç:Çekirdek, ex: Ekzospor, p:Plazma zarı, pf: Polar filament (Bar: 500 nm)



Şekil 16. *E. kuehniella*'da tespit edilen mikrosporidyum sporunun anteriöründeki hücresel yapı; ad: Anchoring disk, ç: Çekirdek, pp1: İnce lamellar tip polaroplast, pp2: Kalın lamellar tip polaroplast (Bar: 500 nm).

### 3.1.2.3. Moleküler Yöntemler ile Mikrospor Etmeninin İncelenmesi

*E. kuehniella*'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 mikrosporidialar için spesifik olan 1000 bp ile 1500 bp arasında bir büyüklüğe sahip olduğu belirlendi.

### **3.1.3. *Ephestia kuehniella*'da Neogregarin Etmeninin Belirlenmesi**

*Ephestia kuehniella*'da enfeksiyon yapan neogregarin etmeni makroskobik, morfolojik, anatomik (ışık ve elektron mikroskobu) ve moleküler yöntemler kullanılarak karakterize edildi.

#### **3.1.3.1. Neogregarin Etmenin Makroskobik Görünümü**

Böceğin dikkatli bir şekilde incelenmesiyle neogregarin enfeksiyonuna ait bazı makroskobik bulgular elde edilebilir. Özellikle üçüncü ve beşinci instarlar arasındaki dönemde larvanın gömlek kalıntıları kahverengimsi ise neogregarin enfeksiyonundan şüphelenilebilir. Eğer enfeksiyon larvaya beşinci instardan önce bulaştıysa zamanla kütikül kırmızımsı kahverengi bir renk alır. Bu halde yaşamına belli bir süre devam edebilse de ilerleyen zamanlarda larva buruşur ve ölür (Hansen, 1999). Bunların yanı sıra enfeksiyonlu larvaların hareketlerinde yavaşlama ve beslenmelerinde azalma görülür (Valigurova ve Koudela, 2006). Çalışmalar esnasında bu belirtiler görüldü ve belirtileri gösteren böceklerin diseksiyon işlemleri yapılarak patojenin varlığının teyit edilmesi için mikroskobik çalışmalar gerçekleştirildi.

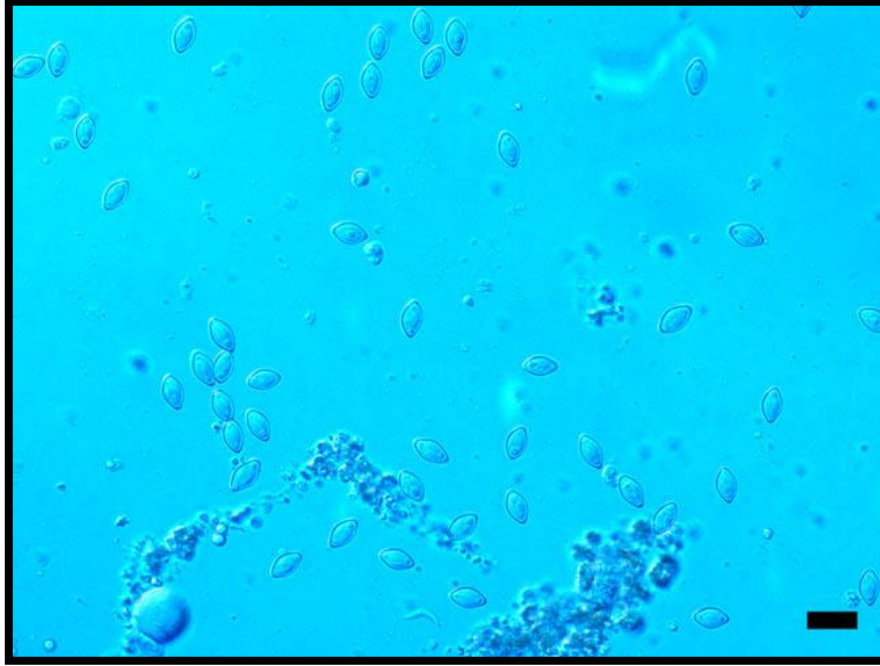
#### **3.1.3.2. Neogregarin Etmenin Mikroskobik Olarak Belirlenmesi**

Bu doktora tezinde, tespit edilen neogregarin patojeni ışık, elektron mikroskobu (TEM) ve moleküler çalışmaları ile tespit edildi. Neogregarinin ilk tespiti ışık mikroskobu altında yapıldı. Taze preparatlardaki ışığı farklı açıyla kıran ookistler, neogregarinlerin karakteristik hayat safhası olup, incelemelerde gözlemlendi. Neogregarin varlığının teyit edilmesi için, entomopatojenlerin detaylı bir şekilde ele alınmasında yaygın olarak kullanılan Giemsa boyama tekniği uygulandı ve spor yapıları yeniden incelendi. Son aşama olarak TEM çalışmaları yapıldı ve neogregarin etmeninin ultrastrüktürel yapısı ortaya çıkarıldı. TEM çalışmaları ile neogregarin etmeninin karakteristik özellikleri detaylı olarak irdelendi. Bu çalışmalar sayesinde tür tespiti sağlandı.

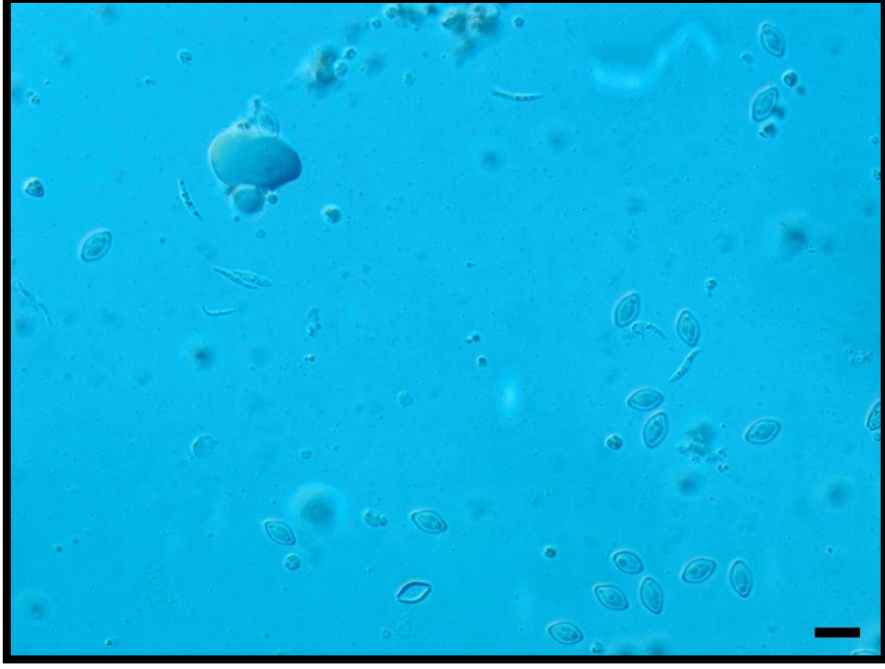


### 3.1.3.2.1. Işıık Mikroskobu ile Neogregarin Etmeninin Belirlenmesi

İncelenmek üzere diseksiyonu yapılan örneklerde neogregarin patojeninin varlığı ışık mikroskobu çalışmalarıında dikkatli bir şekilde tespit edilmeye çalışıldı. Yapılan diseksiyonlarda patojenin mikroskop altında tespitinde en temel safha olan ookist safhası gözlemlendi. Ookistlerin boyut ve şekilleri birbirinin hemen hemen aynıdır. Tipik olarak iki kutuplarında birer çıkıntı olan kayığımsı bir şekle sahiptirler (Şekil 17 ve 18). Ookistlerin boyutları birbirlerinden çok farklı olmayıp; ookistler  $12,88 \pm 0,67$  (11,70-14,18)  $\mu\text{m}$  uzunlukta ve  $6,58 \pm 0,46$  (5,89-8,49)  $\mu\text{m}$  genişlikte ölçüldü (n = 50). Enfeksiyon çoğunlukla konağın hemolenfi ve yağ dokusunda gözlemlendi.



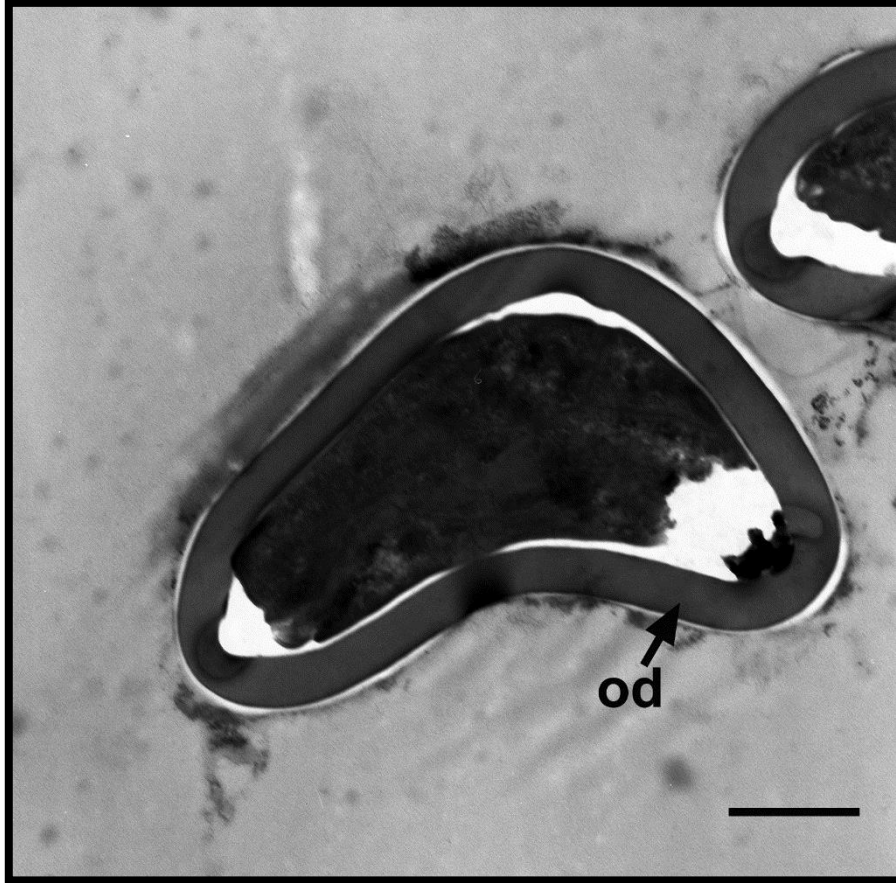
Şekil 17. *E. kuehniella*'da tespit edilen Neogregarin etmenine ait serbest ookistler (Bar: 20  $\mu\text{m}$ )



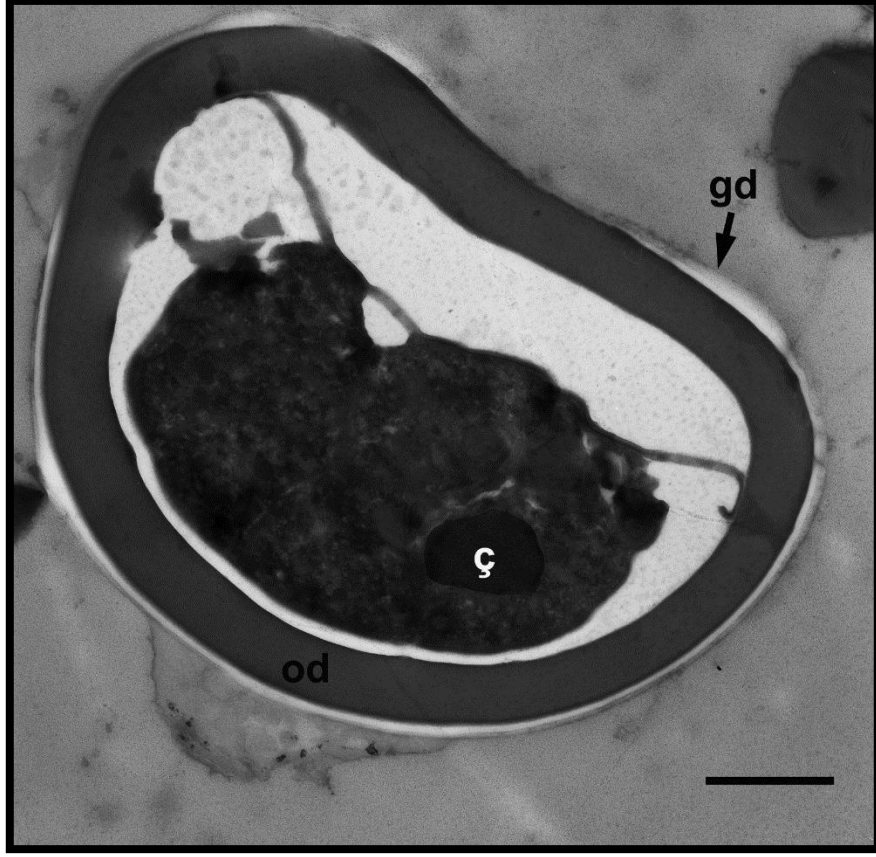
Şekil 18. *E. kuehniella*'da tespit edilen Neogregarin etmenine ait serbest ookistler ve onlardan çıkmış sporozoitler (Bar: 20  $\mu$ m)

### 3.1.3.2.2. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile Neogregarin Etmeninin İncelenmesi

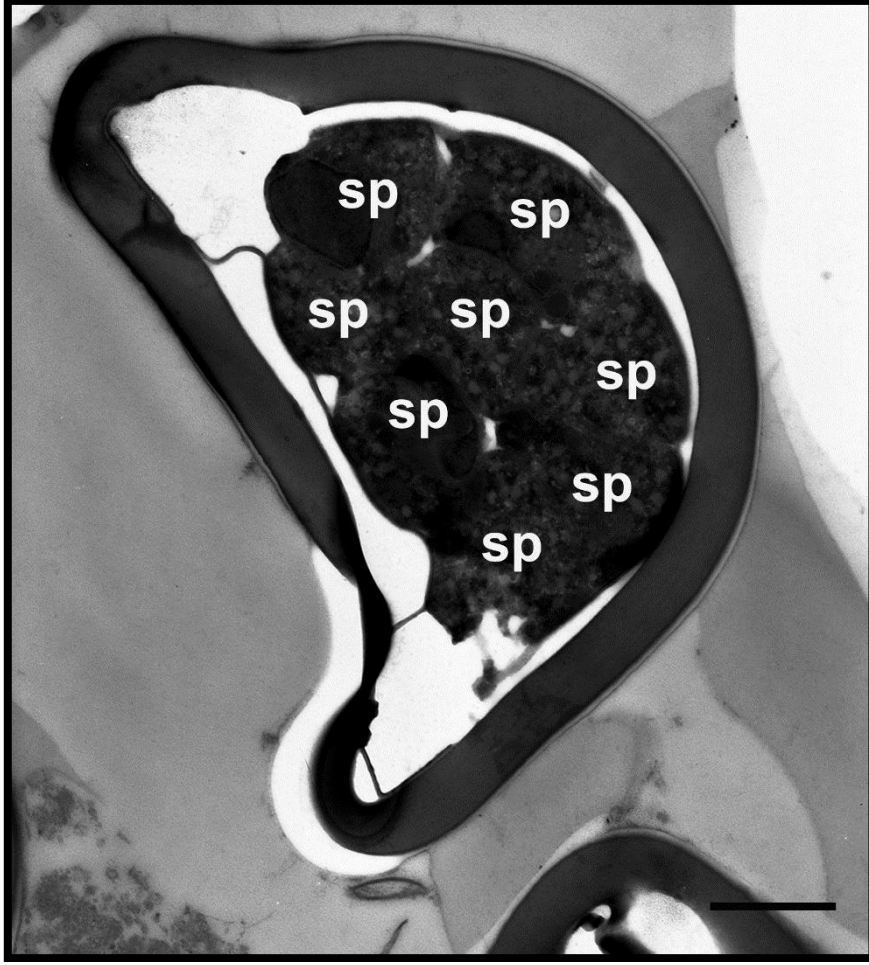
Işık mikroskobu altında ve giemsa boyama metodu ile yapılan incelemelerde *E. kuehniella*'da hastalık oluşturan neogregarin etmeninin yapısı TEM çalışmaları sayesinde detaylı bir şekilde incelendi. TEM çalışmaları sayesinde tespit edilen patojen diğer patojenlerden ayırt edilebildi ve tür seviyesinde tespiti yapıldı (Şekil 19, 20 ve 21). Tespit edilen neogregarin etmeninin nispeten kalın 460-560 nm'lik bir ookist duvarına sahip olduğu belirlendi. Her bir gametokist içinde 1 ya da 2 ookist sayılırken (Şekil 20), her bir ookistin *Mattesia* cinsi için karakteristik olan 8 sporozoit içerdiği belirlendi (Şekil 21).



Şekil 19. *E. kuehniella*'da tespit edilen Neogregarin etmeninin enine kesiti TEM görüntüsü; od: Ookist duvarı (Bar: 500 nm)



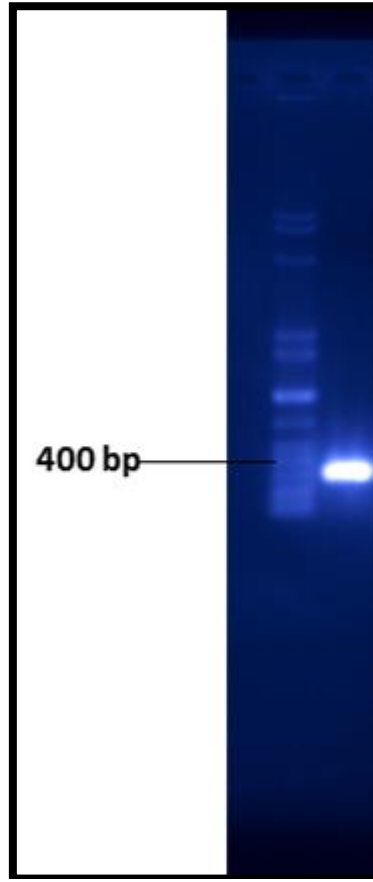
Şekil 20. *E. kuehniella*'da tespit edilen Neogregarin ookisti enine kesiti TEM görüntüsü; gd: Gametokist duvarı, od: Ookist duvarı Ç: Çekirdek (Bar: 500 nm)



Şekil 21. *E. kuehniella*'da tespit edilen Neogregarin ookisti enine kesiti TEM görüntüsü; sp: sporozoit (Bar: 500 nm)

### 3.1.4. *E. kuehniella*'da Tespit Edilen Neogregarin Etmeninin Moleküler Yöntemler ile Karakterizasyonu

*E. kuehniella*'da tespit edilen neogregarin etmenine ait sporelerden elde edilen total DNA'ya ait 18S rDNA'nın PCR ile primerler (P71 ve P80) kullanılarak çoğaltılması sonucunda neogregarin etmenine ait rDNA'nın literatürde *Mattesia* türleri için spesifik olan 300 bp ile 400 bp arasında bir büyüklüğe sahip olduğu belirlendi (Şekil 22).



Şekil 22. *E. kuehniella*'da Neogregarin etmeninin 18S rDNA (yaklaşık 300 bp)'nın P71 ve P80 primerleri ile çoğaltımı

### **3.2. *Ephestia kuehniella*'da Patojenik Organizmaların Varlığı ve Dağılımı**

Depolardan alınan böceklerin bir kısmı disekte edildi, bir kısmı da laboratuvarında yetiştirildi. Depolardaki feromon tuzaklarından alınan erginler laboratuvara getirilip en kısa sürede diseksiyonları yapılarak incelendi. Laboratuvarında yetiştirilen böcekler ise ergin çıkışları gözlemlendikten ortalama iki hafta sonra disekte edildi. Ayrıca, saf döl elde etme çalışmaları sırasında çeşitli gömlek değiştirme dönemlerinde pupaya geçmeden kendiliğinden ölü bulunan larvaların ve ergin çıkışı gerçekleşmeyen pupaların varlığı görülüp, bunların diseksiyonları ise günlük olarak gerçekleştirildi ve kaydedildi. Feromon tuzaklarından elde edilen ergin böceklerde enfeksiyona rastlanmadı. Çalışmalar boyunca feromon tuzaklarından elde edilen böcekler de dahil olmak üzere toplam 1030 *E.kuehniella* örneği disekte edildi. Bunların 472'si ergin, 20'si pupa ve 538'i larvadır. Bu örneklerden 409'u Trabzon iline ait bir fındık fabrikasının feromon tuzaklarından alındığı için dağılım çalışmasına dahil edilmedi. Buna rağmen bu erginlerin de diseksiyonları yapıldı ve sonuçta enfeksiyona rastlanmadı.

Larva, pupa ve ergin aşamasında tespit edilen hastalık etmenlerin dağılımı aşağıda başlıklar halinde verilmektedir.

#### **3.2.1. *Ephestia kuehniella*'da Viral Etmenin Varlığı**

Yapılan incelemelerde virüs enfeksiyonu 2013 yılında Trabzon'da bir fındık fabrikasından toplanan erginlerin laboratuvarında yetiştirilen larvalarında tespit edildi. Bu grupta yer alan 162 larvadaki 2'sinde (%1,23) neogregarinle birlikte karma enfeksiyon olarak görüldü (Tablo 2).

Tablo 2. 2013 yılında Trabzon'dan toplanan *E.kuehniella* erginlerinden laboratuvarıda yetiştirilen nesillerdeki viral etmen varlığı

<b>Hayat Evresi</b>	<b>Disekte Edilen Böcek Sayısı</b>	<b>Enfekte Olan Böcek Sayısı</b>	<b>Virüs (%)</b>
<b>Ergin</b>	16	0	0
<b>Pupa</b>	8	0	0
<b>Larva</b>	162	2	1,23
<b>Toplam</b>	<b>186</b>	<b>2</b>	<b>1,07</b>

### 3.2.2. *Ephestia kuehniella*'da Mikrospor Etmeninin Varlığı

İncelenen *E. kuehniella* örnekleri arasında mikrospor patojenine böceğin yalnızca larva evresinde rastlandı. 2012 yılında Trabzon'da bir fındık fabrikasından toplanan erginlerin laboratuvarıda yetiştirilen 206 larvasından 18 (%8,73), Rize'de bir toptancı deposundan toplanan erginlerin laboratuvarıda yetiştirilen 83 larvasından 12 mikrospor (%14,45) tespit edildi (Tablo 3). 2012 yılında incelenen toplam 289 larvanın 20 (% 6,92) tanesinde bu enfeksiyon gözlenirken, 2013 yılında incelenmiş 249 larvanın 38'inde (% 15,26) mikrospor enfeksiyonuna rastlandı. Bunların % 17,28'i ( 162 larvada 28 mikrospor) Trabzon, % 11,49'u (87 larvada 10 mikrospor) Rize'den alınıp yetiştirilen nesillerde tespit edildi. Tüm çalışma boyunca 538 larvanın 58'inde (%10,78) mikrospor patojeni tespit edildi (Tablo 4).



Tablo 3. 2012 yılında Trabzon ve Rize'den toplanan *E. kuehniella* erginlerinden laboratuvarda yetiştirilen nesillerdeki mikrosporidyum etmeninin varlığı

Hayat Evresi	Toplandığı il	Disekte Edilen Böcek Sayısı	Enfekte Olan Böcek Sayısı	Mikrospor (%)
<b>Ergin</b>	Trabzon	20	0	0
	Rize	15	0	0
<b>Pupa</b>	Trabzon	12	0	0
	Rize	0	0	0
<b>Larva</b>	Trabzon	206	18	8,73
	Rize	83	12	14,45
<b>Toplam</b>	<b>Trabzon</b>	<b>238</b>	<b>18</b>	<b>7,56</b>
	<b>Rize</b>	<b>98</b>	<b>12</b>	<b>12,24</b>
<b>Genel Toplam</b>		<b>336</b>	<b>30</b>	<b>8,93</b>

Tablo 4. 2013 yılında Trabzon ve Rize'den toplanan *E. kuehniella* erginlerinden laboratuvarda yetiştirilen nesillerdeki mikrosporidyum etmeninin varlığı

Hayat Evresi	Toplandığı il	Disekte Edilen Böcek Sayısı	Enfekte Olan Böcek Sayısı	Microspor (%)
<b>Ergin</b>	Trabzon	16	0	0
	Rize	12	0	0
<b>Pupa</b>	Trabzon	8	0	0
	Rize	0	0	0
<b>Larva</b>	Trabzon	162	28	17,28
	Rize	87	10	11,49
<b>Toplam</b>	<b>Trabzon</b>	<b>186</b>	<b>28</b>	<b>15,05</b>
	<b>Rize</b>	<b>99</b>	<b>10</b>	<b>10,10</b>
<b>Genel Toplam</b>		<b>285</b>	<b>38</b>	<b>13,33</b>

### 3.2.3. *Ephestia kuehniella*'da Neogregarin Etmeninin Varlığı

İncelenen *E. kuehniella* örneklerinin ergin, pupa ve larvalarında neogregarin patojenine rastlanmıştır. 2012 yılında Trabzon'da bir fındık fabrikasından toplanan erginlerin laboratuvarında yetiştirilen 206 larvasında 80 (%38,83), 12 pupasında 10 (%83,33); Rize'de bir toptancı deposundan toplanan erginlerin laboratuvarında yetiştirilen 83 larvasında 41 (%49,40) neogregarin tespit edildi (Tablo 5). 2013 yılında Trabzon örneklerinde 16 erginde 2 (% 12,5), 8 pupada 7 (% 87,5), 162 larvada 140 (% 86,41); Rize örneklerinde ise 87 larvada 46 (% 52,87) neogregarine rastlandı. Tüm çalışma boyunca erginlerde toplam enfeksiyon yüzdesi % 0,42 (472 erginde 2 neogregarin), pupada toplam enfeksiyon yüzdesi %85 (20 pupada 17 neogregarin), larvada toplam enfeksiyon yüzdesi % 57,06 (538 larvada 307 neogregarin) olarak belirlendi (Tablo 6).

Tablo 5. 2012 yılında Trabzon ve Rize'den toplanan *E. kuehniella* erginlerinden laboratuvarında yetiştirilen nesillerdeki neogregarin etmeninin varlığı

Hayat Evresi	Toplandığı il	Disekte Edilen Böcek Sayısı	Enfekte Olan Böcek Sayısı	Neogregarin (%)
<b>Ergin</b>	Trabzon	20	0	0
	Rize	15	0	0
<b>Pupa</b>	Trabzon	12	10	83,33
	Rize	0	0	0
<b>Larva</b>	Trabzon	206	80	38,83
	Rize	83	41	49,40
<b>Toplam</b>	<b>Trabzon</b>	<b>238</b>	<b>90</b>	<b>37,81</b>
	<b>Rize</b>	<b>98</b>	<b>41</b>	<b>41,83</b>
<b>Genel Toplam</b>		<b>336</b>	<b>131</b>	<b>38,99</b>

Tablo 6. 2013 yılında Trabzon ve Rize'den toplanan *E. kuehniella* erginlerinden laboratuvarda yetiştirilen nesillerdeki neogregarin etmeninin varlığı

Hayat Evresi	Toplandığı il	Disekte Edilen Böcek Sayısı	Enfekte Olan Böcek Sayısı	Neogregarin (%)
<b>Ergin</b>	Trabzon	16	2	12,5
	Rize	12	0	0
<b>Pupa</b>	Trabzon	8	7	87,5
	Rize	0	0	0
<b>Larva</b>	Trabzon	162	140	86,41
	Rize	87	46	52,87
<b>Toplam</b>	<b>Trabzon</b>	<b>186</b>	<b>149</b>	<b>80,10</b>
	<b>Rize</b>	<b>99</b>	<b>46</b>	<b>46,46</b>
<b>Genel Toplam</b>		<b>285</b>	<b>195</b>	<b>68,42</b>

### 3.3. *Ephestia kuehniella*'ya Uygulanan Biyoassay Deneyleleri

Biyoassay deneyleleri için kullanılan *Ephestia kuehniella* larvaları Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi bünyesinde kurulan Böcek Üretim Merkezi (BÖCÜM)'nden temin edildi. Mikrospor ve neogregarin patojenlerinin böceği ne kadar etkileyeceğini tespit etmek için gerçekleştirilen deneylelerde toplam 600 *Ephestia kuehniella* larvası kullanıldı. Yapılan deneyleler için iklimlendirme dolabı  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de  $\%75 \pm 1$  nem oranına uygun şekilde 21 gün boyunca çalıştırıldı. Yürütülen deneylelerin sonuçları yürütülen 3'er deneyleyin ortalaması şeklinde verilerek, Abbott (1925) formülü ile düzeltildi.

#### 3.3.1. Mikrosporidyum Etmeni Kullanılarak Yapılan Biyoassay Deneyleleri

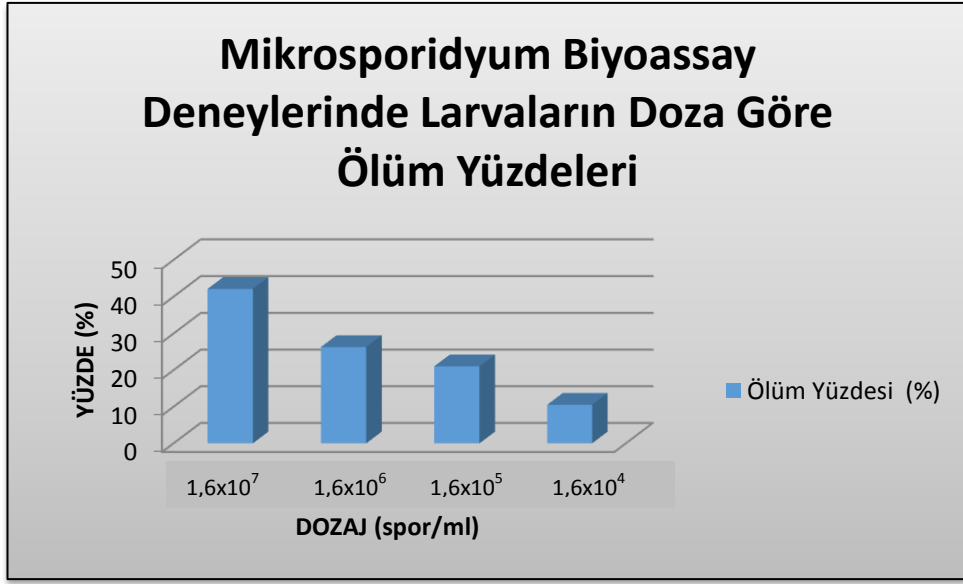
Tez çalışması boyunca enfeksiyon tespit edilen larvalardan izole edilen mikrospor patojeni *E.kuehniella* larvalarına uygulandı. Yapılan bu biyoassay deneyleleri ile uygulanan mikrospor patojeninin, *E.kuehniella*'da gerçekleştireceği enfeksiyonun zararlıyı ne şekilde etkileyeceği ortaya konmaya çalışıldı. Mikrospor biyoassay deneyleleri için toplam 300 tane 2. instar *E. kuehniella* larvası kullanıldı. Sonuçların daha güvenilir olabilmesi için deneyleler

üç tekrar şeklinde yapıldı. Her bir deney için her grupta 20'şer larva olmak üzere 5 grup oluşturuldu. Bu gruplardan bir tanesi kontrol grubu olarak ayrıldı ve bu gruptaki larvalar enfeksiyonsuz besinle beslendi. Diğer gruplarda enfeksiyon dozajları  $1,6 \times 10^7$  spor/ml,  $1,6 \times 10^6$  spor/ml,  $1,6 \times 10^5$  spor/ml,  $1,6 \times 10^4$  spor/ml olarak ayarlandı. Yapılan deneylerde ilk ölüm 7. günde görüldü (Tablo 7).

Tablo 7. Mikrosporidyum biyoassay çalışmalarında larvaların doza göre ölüm zamanları

Uygulamalar (spor/ml)	Enfekteli Larva Sayısı							Enfeksiyon Oranı (%)
	7. Gün	11. Gün	13. Gün	17. Gün	18. Gün	19. Gün	21. Gün	
$1,6 \times 10^7$	2	0	1	2	1	1	2	42,10
$1,6 \times 10^6$	2	0	1	1	1	0	1	26,31
$1,6 \times 10^5$	2	2	1	0	0	0	0	21,05
$1,6 \times 10^4$	1	1	1	0	0	0	0	10,53
<b>0 (Kontrol)</b>	0	1	0	0	0	0	0	5

Deney sonlandırıldığında dozajı  $1,6 \times 10^7$  spor/ml olan gruptaki ölüm yüzdesi % 42,10,  $1,6 \times 10^6$  spor/ml olan gruptaki ölüm yüzdesi % 26,31,  $1,6 \times 10^5$  spor/ml olan gruptaki ölüm yüzdesi % 21,05,  $1,6 \times 10^4$  spor/ml olan gruptaki ölüm yüzdesi % 10,53 olarak bulundu. Spor dozu azaldıkça ölüm yüzdesinin doğrusal bir şekilde azalmakta olduğu gözlemlendi (Şekil 23).



Şekil 23. Mikrosporidyum biyoassay çalışmalarında larvaların doza göre ölüm yüzdeleri

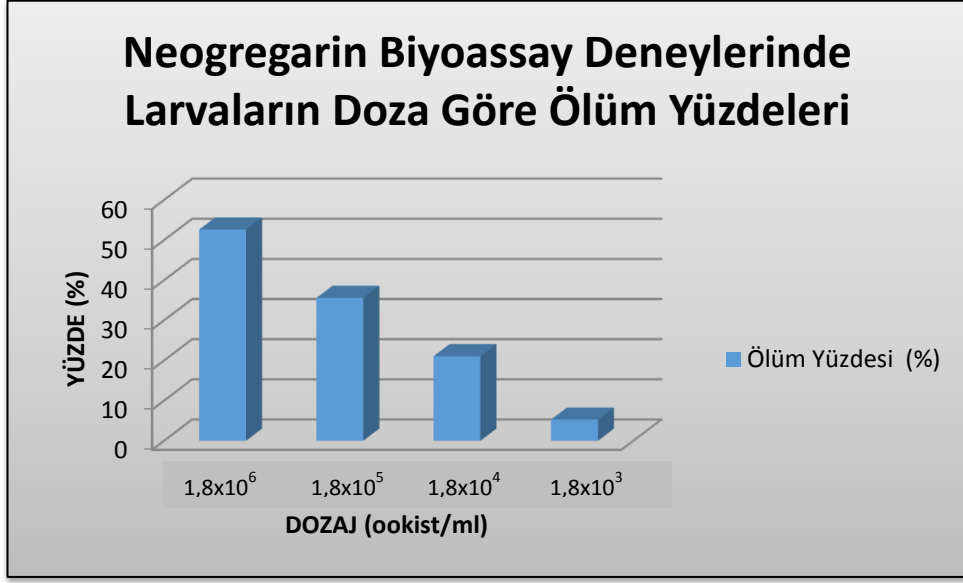
### 3.3.2. Neogregarin Etmeni Kullanılarak Yapılan Biyoassay Deneyleri

Tez çalışması boyunca enfeksiyon tespit edilen larvalardan izole edilen neogregarin patojeni *E. kuehniella* larvalarına uygulandı. Yapılan bu biyoassay deneyleri ile uygulanan mikrospor patojeninin, *E. kuehniella*'da gerçekleştireceği enfeksiyonun zararlıyı ne şekilde etkileyeceği ortaya konmaya çalışıldı. Mikrospor biyoassay deneyleri için toplam 300 tane 2. instar *E. kuehniella* larvası kullanıldı. Sonuçların daha güvenilir olabilmesi için deneyler üç tekrar şeklinde yapıldı. Her bir deney için her grupta 20'şer larva olmak üzere 5 grup oluşturuldu. Bu gruplardan bir tanesi kontrol grubu olarak ayrılarak, bu gruptaki larvalar enfeksiyonsuz besinle beslendi. Diğer gruplarda enfeksiyon dozajları  $1,8 \times 10^6$  ookist/ml,  $1,8 \times 10^5$  ookist/ml,  $1,8 \times 10^4$  ookist/ml,  $1,8 \times 10^3$  ookist/ml olarak ayarlandı. Yapılan deneylerde ilk ölüm 6. günde görüldü (Tablo 8).

Tablo 8. Neogregarin biyoassay çalışmalarında larvaların doza göre ölüm zamanları

Uygulamalar (ookist/ml)	Enfekteli Larva Sayısı							Enfeksiyon Oranı (%)
	6.	9.	11.	15.	16.	17.	21.	
	Gün	Gün	Gün	Gün	Gün	Gün	Gün	
$1,8 \times 10^6$	2	3	2	1	1	1	1	52,63
$1,8 \times 10^5$	1	2	1	0	1	1	1	35,58
$1,8 \times 10^4$	1	2	0	0	1	1	0	21,06
$1,8 \times 10^3$	0	1	0	0	0	1	0	5,26
<b>0 (Kontrol)</b>	1	1	0	0	0	0	0	10

Deney sonlandırıldığında dozajı  $1,8 \times 10^6$  ookist/ml olan gruptaki ölüm yüzdesi % 52,63, dozajı  $1,8 \times 10^5$  ookist/ml olan gruptaki ölüm yüzdesi % 35,58, dozajı  $1,8 \times 10^4$  ookist/ml olan gruptaki ölüm yüzdesi % 21,06, dozajı  $1,8 \times 10^3$  ookist/ml olan gruptaki ölüm yüzdesi % 5,26 olarak bulundu. Neogregarinler üzerinde yapılan biyoassay deneylerinin sonucunda, patojen dozunun azalması ile orantılı olarak doğrusal bir azalma görülmektedir (Şekil 23).



Şekil 24. Neogregarin biyoassay çalışmalarında larvaların doza göre ölüm yüzdeleri

#### 4. TARTIŞMA

Dünya nüfusunun hızlı bir biçimde artmasıyla beslenme problemleri ortaya çıkmaya başlamıştır. Dünya nüfusu ile kullanılabilir tarım alanları arasındaki ters orantı bu problemin ana sebeplerindendir. Nüfus artışı ile artan yapılaşma, tarımsal arazinin yok edilmesine yol açmaktadır. Bundan ötürü, yalnızca birim alandan elde edilen ürün miktarının artırılması çalışmaları yeterli olmayıp, ürünlerin üretimden tüketime kadar geçen her aşamada korunması da çok önemlidir (Ferizli ve Emekçi, 2014).

Depolanmış ürünlerin tüketimdeki payı düşünüldüğünde bu ürünlerin korunması gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Bu ürünlerin korunması için yapılan uygulamalar ise büyük çoğunlukla kimyasal madde kullanımına yöneliktir. Ancak kimyasal madde kullanımının yol açtığı olumsuzluklar nedeniyle son yıllarda tartışılır hale gelmesi, alternatif mücadele yöntemleri üzerinde çalışmaların yapılmasına imkan sağlamıştır. Bu çalışmalar arasında biyolojik mücadele faydaları bakımından göz doldursa da bu alanda yapılan çalışmalar ihtiyacı karşılamamaktadır.

Depolanmış ürünlerde önemli derecede kayıplar meydana getiren un güvesi olarak da bilinen *E. kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) üzerinde son yıllarda yapılan çeşitli çalışmalar olsa da, bu çalışmalar arasında patojen tespitine yönelik çalışma sayısı yok denecek kadar azdır. Özellikle ülkemizde şimdiye dek *E. kuehniella*'nın doğal hastalık etmenleri üzerine bir çalışma yapılmamıştır. Bu doktora tezinde, Lepidoptera grubuna ait olan ve önemli bir depo zararlısı olarak kabul edilen Akdeniz Un Güvesi (*E. kuehniella* Lep.; Pyralidae)'nde hastalık oluşturan etmenlerin varlığı, karakterizasyonu ve bunların biyolojik mücadelede kullanılma potansiyelleri irdelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda *E. kuehniella* larvalarında Baculoviridae familyasından bir nucleopolihedrovirus, Nosematidae familyasından bir mikrospor ve Lipotrophidae familyasından bir neogregarin tespit edilmiştir.

Virus varlığı tespitinde ilk olarak ele alınan özellik makroskobik belirtiler olmuştur. Böceğin doğrudan incelenmesiyle bazı larvalarda tespit edilen hareketlerde yavaşlama, beslenmeyi bırakma davranışları ve vücut formlarının değiştiği gözlenmiştir. Bu makroskobik belirtiler bunun tipik bir viral hastalık olduğunu göstermektedir. Coppel ve Mertins, (1977) yaptığı çalışmada virüs varlığının konak hareketlerinde azalmaya ve vücut yapısında değişikliklere neden olduğunu rapor etmiştir.



Enfeksiyon varlığından şüphelenilen dokuların mikroskopik incelemelerinde dokuda meydana gelen deformasyon, özellikle çekirdeğin dağılması, çekirdek ve sitoplazmada yoğun gruplaşmış belirgin şekillerin olması gibi sağlıklı dokulardan farklılık gösteren belirtiler, literatürde kayıt altına alınan bir çok enfeksiyon gibi virojenik bir enfeksiyonu gelişim aşamaları ile benzerlik göstermektedir (Evans ve Shapiro, 1997). Enfeksiyonun gözlemlendiği böcek dokularında tespit edilen gruplaşmış yuvarlak yapılar enfeksiyona neden olan viral etkenin oluşturmuş olduğu inklüzyon yapılarıdır.

Baculoviridae familyasından olan NPV virüsleri 0,2-15 µm çapındaki polihedral inklüzyon yapılarına sahiptirler (Cunningham, 1988). Her bir virüsün kendine özgü bir çap genişliği vardır. Bu nedenle bu tez süresince tespit edilen NPV'nün oluşturmuş olduğu PIB yapılarından tesadüfi olarak 50 tanesinin ölçülmesi sonucunda tespit edilen virusun  $1,97 \pm 0,46$  (1-3,04) µm çapında PIB yapılarına sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç Tablo 9'da ülkemizden tespit edilen Lepidoptera orijinli NPV'ler ile karşılaştırılmıştır. Tablodan görüldüğü gibi burada tespit edilen virüs 1 µm ile 3,04 µm arasında oldukça değişken boyutlarda PIB oluşturmuştur.

Tablo 9. Ülkemizde bazı Lepidoptera türlerinden izole edilen NPV PIB'lerinin çapları

Konak Tür	Çap	Kaynak
<i>L. dispar</i>	2,03±0,25µm	Yaman vd., 2012
<i>L. salicis</i>	2,08±0,31 (1,51-2,64) µm	Yaman, 2008b
<i>M. neustria</i>	1,64±0,52 µm	Yaman, 2003
<i>E. kuehniella</i>	1,97 ± 0,46 (1-3,04) µm	Bu çalışmada

Böcek virüslerinin teşhisi ve karakterizasyonunda yalnızca morfolojik özelliklerin kullanılması her zaman yeterli değildir. Benzer makroskopik belirtiler kimi zaman başka enfeksiyon kaynakları sebebiyle de ortaya çıkabilir ve çok da dikkatli olmayan gözlerden kaçabilir. Ayrıca gözlemlenen inklüzyon yapıları çeşitli böcek dokularında bulunan inorganik kristallerle karıştırılabilir. Bu nedenle bu çalışmaların özellikle elektron mikroskopu çalışmaları ile desteklenmesi gerekir. Yapılan TEM çalışmaları virüsün detaylı yapısının ortaya çıkarılmasını sağlamıştır. Bu çalışmalar sonucunda Şekil 10'da görüldüğü gibi tespit edilen virusun inklüzyon yapıları NPV viruslarının PIB yapılarının temel

karakteristik özelliği olan hegzagonal kenarlara sahip oldukları tespit edildi. Bunun dışında bu grup virüslerde çok rastlanılmayan piramidal şekilli virion içermeyen inklüzyon yapıları da gözlemlendi (Şekil 6). Bu özellik bu virüs için en ayırt edici özellik olarak kaydedilmiştir.

Tespit edilen NPV'nin her bir virionunun içerdiği nükleokapsid sayısının bir ya da birden çok olduğunu belirlemek için yapılan elektron mikroskobu çalışmalarından bu virusun her bir virionunun Şekil 7 ve 9'da görüldüğü gibi 1 ila 28 adet arasında değişen oranda nükleokapsid içerdiği belirlenmiştir. Bilimoria (1986 ve 1991)'ya göre sahip olduğu virionun içerdiği nükleokapsid sayısının birden çok olmasına dayanarak bu NPV'nin bir MNPV (multi-nükleopolihedrovirüs) olduğu anlaşılmaktadır.

Tespit edilen virüsün sahip olduğu nükleokapsid hacmi ülkemizde tespit edilen diğer Lepidoptera orijinli virüslerin nükleokapsid hacimleri ile karşılaştırılmıştır (Tablo 10). Literatürde Lepidoptera takımına ait böceklerden izole edilen mevcut MNPV'ler ile bu izolatın morfolojik ve anatomik yapıları karşılaştırıldığında (Tablo 10), bu izolatın tespit edilen diğer virüslerden daha küçük nükleokapsidlere sahip olduğu ve her bir virionunda literatürdeki mevcut virüslerden daha fazla sayıda nükleokapsid (bir virionda 28 nükleokapsid) bulunduğu görülmektedir.

Tablo 10. Ülkemizde bazı Lepidoptera türlerinden izole edilen NPV nükleokapsidlerinin büyüklüğü ve sayısı

<b>Tür</b>	<b>Nükleokapsid büyüklüğü</b>	<b>Her viriondaki nükleokapsid sayısı</b>	<b>Kaynak</b>
<i>L. dispar</i>	366,67±54,72 (312-500) x 42,95±6,12 (30-47) nm	1-8	Yaman vd., 2012
<i>L. salicis</i>	250-290 x 32-40 nm	1-12	Yaman, 2008b
<i>M. neustria</i>	240 x 35 nm	1-18	Yaman, 2003
<i>E. kuehniella</i>	190-270 x 30-40 nm	1-28	Bu çalışmada

Tablo 10'da görüldüğü gibi, bu tez çalışmasında *E. kuehniella*'da tespit edilen virüs her viriondaki nükleokapsid sayısı bakımından ülkemizde tespit edilen diğer virüsler içerisinde en yüksek nükleokapsid sayısına sahip virüştür.

Yapılan literatur taraması sonucunda *E. kuehniella*'dan daha önce dünya literatürüne geçmiş herhangi bir virüs kaydı bulunmadığı görülmüştür. Bu tez çalışmasında tespit edilen viral etken bu alanda hem ülkemiz için hem de dünya literatürü için ilk çalışma olma niteliğini taşımaktadır. Bu doktora tezi süresince yapılan morfolojik ve ultrastrüktürel çalışmalara ait veriler, tespit edilen virüsün Baculoviridae familyasından bir NPV olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca gerçekleştirilen TEM çalışmasıyla bu virüsün yapısı detaylı bir biçimde ortaya konulmuştur. Literatürde *E. kuehniella*'da tespit edilmiş bir baculovirüs yoktur. Bu nedenle ilk olan bu virüs, virüs isimlendirme kurallarına göre *Ephestia kuehniella* multinucleopolyhedrovirus (*EpkuMNPV*) olarak isimlendirilmiştir. Bakülovirüsler zararlı böcekler ile mücadelede etkili bir şekilde kullanılan ve ticari olarak üretilen biyolojik insektisidlerdir. Burada tespit edilen virüs dünya literatürü için ilk olup, *E. kuehniella* ile mücadelede önemli bir boşluğu dolduracaktır.

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

Tespit edilen mikrosporidyum patojeni üzerinde yapılan morfolojik, ultrastrüktürel ve moleküler çalışmalar patojenin *Vairimorpha* cinsine ait bir patojen olduğunu gösterdi. *Vairimorpha* cinsi biri serbest diplokaryotik diğeri bir spor kesesi içinde 8 sporlu (oktopor) olmak üzere disporoblastik bir gelişim göstermesiyle karakterize edilir (Malone ve Canning, 1982). Bu tez süresince, hem serbest diplokaryotik sporlar hem de 8 sporlu spor keseleri gözlenerek, bu yapılar ışık ve TEM mikroskobu ile gösterilmiştir. Literatürde, *E. kuehniella*'dan *Vairimorpha* cinsine ait bir tür kaydı mevcuttur. Bu tür *V. ephestia* olarak isimlendirildi (Weiser ve Purrini; 1985). Bu tür ilk olarak *Thelohania ephestiae* olarak, sonra da *Octosporea ephestiae* olarak tanımlanmıştır.

Bu tez çalışmalarında tespit edilen mikrosporidyumun çoğunlukla konakta yağ doku, malpigi tüpleri, bağırsak, salgı bezleri gibi doku ve organları enfekte ettiği gözlenmiştir. Doku seçiciliğinde, tespit edilen patojen *E. kuehniella*'da tespit edilen *V. ephestia* (Weiser ve Purrini, 1985) ile benzerlik göstermektedir.

Mikrosporidyumlar için spor morfolojisi ve boyutları türler arasında ve aynı türün farklı coğrafik izolatlarının karşılaştırılmasında önemli bir karakterdir. Bu tez çalışmasında tespit edilen mikrosporidyum etmenine ait spor ebatları açısından [ $4,00 \pm 0,38$  ( $3,06-4,54$ ) x  $1,74 \pm 0,20$  ( $1,41-2,28$ )  $\mu\text{m}$  ] enfekte ettiği konağa sistematik olarak yakın konakları enfekte eden mikrosporidyum türlerinden farklılık göstermiştir. Tanımlanan mikrosporidyum türü, spor ebatları açısından Lepidoptera kaynaklı diğer *Vairimorpha* türlerinden, örneğin *V. imperfecta* ( $4,3-2,0 \mu\text{m}$ ) (Canning vd., 1999), *V. mesnili* ( $3,84-1,82 \mu\text{m}$ ) (Malone ve McIvor, 1996) ve *V. disparis* ( $5,1-2,6 \mu\text{m}$ ) (Vavra vd., 2006)'den farklılık gösterirken, *V. ephestiae* ( $4,0-2,0 \mu\text{m}$ ) (Weiser ve Purrini, 1985) ile benzerlik göstermiştir.

Ayrıca, *E. kuehniella*'ya yakın tür olarak bilinen diğer bir depo zararlısı olan *Plodia interpunctella*'dan tespit edilen ve ilk teşhis olan *N. plodiae* ( $3,83 \pm 0,34 \mu\text{m}$  x  $1,71 \pm 0,22 \mu\text{m}$ ) (Kellen and Lindegren, 1969)'dan ve sonraki düzletilmiş tür olan *V. plodiae* ( $5,12 \pm 0,05 \mu\text{m}$  x  $2,90 \pm 0,03 \mu\text{m}$ ) (Malone ve Canning, 1982)'dan kayda değer oranda farklılık göstermektedir.

Mikrosporidyumlara ait sporların ultrastrüktürel yapılarına ait karakterler, özellikle yakın türlerin karşılaştırılmasında önemli faydalar sağlar (Yaman vd., 2005; 2011). Bir çok *Vairimorpha* türünün ultrastrüktürel yapısı detaylı bir şekilde çalışılmıştır (Canning vd., 1999; Vavra vd., 2006). Elde edilen bilgiler, yine lepidopterleri enfekte eden literatürdeki yakın diğer *Vairimorpha* türlerine ait özellikler ile karşılaştırılmıştır. Bu tez çalışmasında tespit edilen mikrosporidyum 10-11 polar filament kıvrımına sahiptir. Mikrosporidyumların sahip oldukları polar filament kıvrım sayısı türlerin karşılaştırılmasında önemli bir taksonomik kriterdir. Bu tezde tanımlanan patojenin polar filament kıvrım sayısı (10-11) Lepidoptera kaynaklı diğer *Vairimorpha* türlerinden, örneğin *V. necatrix* (10-15 kıvrım) (Maddox ve Sprengel, 1978), ve *V. ephestiae* (14-16 kıvrım) (Weiser ve Purrini, 1985)'dan belirgin bir şekilde, *Vairimorpha disparis* (11-13 kıvrım) (Vavra vd., 2006)'den ise nispeten farklılık göstermektedir.

Elde edilen morfolojik, ultrastrüktürel ve moleküler çalışmalara ait veriler ülkemizde *E. kuehniella*'dan tespit edilen mikrosporidyumun, dünyada yine bu zararlıdan izole edilen *Vairimorpha ephestia* ile bazı temel taksonomik karakterlerde benzerlik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Ancak polar filament sayısında belirgin bir farklılık vardır. Bu zamana kadar ülkemizde *E. kuehniella*'dan herhangi bir mikrosporidyum kaydı mevcut değildir. Bu tez çalışmasında tanımlanan mikrosporidyum patojeni, ülkemizde *E. kuehniella*'da tespit edilen ilk mikrosporidyum olmasının yanısıra, aynı zamanda

ülkemizde *Vairimorpha* cinsine ait ilk mikrosporidyum türüdür. Bu nedenle tespit edilen patojen, *V. ephestia*'nın bir Türk izolatu olarak belirlenmiştir. Türkiye yedi farklı coğrafik bölgesiyle farklı coğrafik şartlara sahiptir. Literatürde, aynı türün farklı coğrafik izolatlarının farklı insektisidal etki gösterdiği bir çok çalışma ile teyit edilmiştir. Bu açıdan bu tez çalışmasında tanımlanan mikrosporidyum ayrı bir değere sahiptir.

Bu çalışmada, tespit edilen son patojen ise protistlerden Apicomplexa şubesine ait bir neogregarindir. Tez süresince yürütülen makroskobik ve mikroskobik çalışmalar bunu kanıtlar niteliktedir. Enfeksiyonlu böcek larvalarının hareketlerinde belirgin bir şekilde yavaşlamanın olması, besin almayı azaltmaları ve kütikül renginin değişmesi gözlemleri makroskobik olarak enfeksiyonun tespitinde faydalı oldu. Işık mikroskobu çalışmalarında ise genel olarak neogregarinler limon şeklindeki sporları sayesinde ayırt edilmiştir. Gerçekleştirilen TEM çalışmalarında limon şekilli ookistlerde 8 sporozoit ve polar kutuplar net bir şekilde görüntülenmiştir. Bütün bu karakterler Valigurova ve Koudela'nın 2006'da belirttiği gibi *Mattesia dispora* ile örtüşmektedir. Bu patojen *E. kuehniella*'dan, ülkemizde tespit edilen ilk ve tek neogregarin olma özelliğini taşımaktadır.

Bu doktora tezinde tespit edilen neogregarinin çoğunlukla konağın yağ dokusunda ve hemolenfde enfeksiyon yaptığı gözlemlendi. Tespit edilen patojen doku seçiciliğinde daha önce *E. kuehniella*'da tespit edilen *M. dispora* (Valigurova ve Koudela, 2006) ile benzerlik göstermektedir.

Tablo 11'de görüldüğü gibi bu doktora tezinde tespit edilen patojen spor ebatları açısından  $12,88 \pm 0,67$  (11,70-14,18)  $\mu\text{m}$  x  $6,58 \pm 0,46$  (5,89-8,49)  $\mu\text{m}$  daha önce *E. kuehniella*'dan tespit edilen *M. dispora*'dan (13,75 x 6,25  $\mu\text{m}$ ) (Valigurova ve Koudela, 2006) farklılık göstermektedir.

Tablo 11. Bazı *Mattesia* türlerine ait spor boyutları

Tür	Spor boyutu	Enfeksiyon Görülen Organ	Kaynak
<i>M. dispora</i>	13,75 x 6,25 $\mu\text{m}$	Yağ doku ve hemolenf	Valigurova ve Koudela, 2006
<i>M. grandis</i>	9-10,9 x 4,9-11,3 $\mu\text{m}$	Yağ doku	McLaughlin, 1965
<i>M. schwenkei</i>	16,3-21,2 x 6,3-10,5 $\mu\text{m}$	Yağ doku	Purrini, 1978
<i>M. oryzaephili</i>	12 x 7 $\mu\text{m}$	Yağ doku	Ormieres, 1971
<i>Mattesia</i> sp.	11 x 6 $\mu\text{m}$	Yağ dokuda	Yaman ve Radek, 2008
<i>M. dispora</i>	12,88 x 6,58 $\mu\text{m}$	Hemolenfte	Bu çalışmada

*M. dispersa*'nın özellikle enfeksiyon yaptığı böcek yapıları göz önünde bulundurulduğunda, patojenin konak böcekte hızla çoğalmasının kaçınılmaz olduğu ve oluşan enfeksiyonun ölümcül olduğu bilinmektedir (Valigurova ve Koudela, 2006). Patojenin bu özelliği biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılması fikrini desteklemektedir. Gerçekleştirdiğimiz morfolojik ve ultrastrüktürel çalışmalarla *E. kuehniella*'dan tespit edilen neogregarin patojeninin, dünyada bu zararlıdan izole edilen *M. dispersa*'nın temel taksonomik karakterlerine benzerlik gösterdiği kanıtlanmıştır. Bu tespit, ülkemizde şimdiye dek *E. kuehniella*'dan tespit edilen ilk neogregarin olup, bunun yanı sıra *Mattesia* cinsine ait ilk türdür. Dolayısıyla tespit edilen patojen, *M. dispersa*'nın Türk izolatu olarak belirlenmiştir. Aynı türün farklı coğrafik izolatlarının farklı insektisidal etki gösterdiği düşünüldüğünde bu çalışmada tanımlanan neogregarinin önemi artmaktadır.

Bu doktora tezinde, disekte edilen *E. kuehniella* ergin, pupa ve larvalarında bakulovirüs, mikrosporidyum ve neogregarin etmenlerinin karakterizasyonunun yanı sıra bu patojenlerin varlığı ve dağılımı da detaylı bir şekilde irdelenmiştir.

Yapılan literatür taramasında *E. kuehniella*'da tespit edilen patojenlerden sadece neogregarinler üzerine yapılmış bir dağılım çalışması mevcuttur. Bu çalışma Purrini (1976)'nin Yugoslavya'nın Kosova kentindeki dokuz bölgede depo zararlısı böcekler üzerinde yaptığı çalışmadır. Purrini çalışmasında böcekleri topladığı dokuz bölgeye ait değirmenlerin tamamında *E. kuehniella*'da *M. dispersa* tespit ettiğini bildirmiştir (Lord, 2003). Aynı çalışmada bazı diğer lepidopterler de enfeksiyon varlığı açısından incelenmiştir. Yine dokuz bölgeden toplanan *Plodia interpunctella* örneklerinin sadece üç bölgede toplananlarında *M. dispersa* tespit edilmiştir (Purrini, 1976). Bu tez çalışmasında da Purrini (1976)'nin çalışmasına benzer şekilde, *M. dispersa* toplanan tüm bölgelerdeki *E. kuehniella* örneklerinde tespit edilmiştir. Purrini(1976) çalışmasında enfeksiyonun böceğin hangi hayat evresinde ve ne oranda olduğunu belirtmezken, bu tez çalışmasında enfeksiyonun larvalarda daha yoğun olduğu tespit edilmiştir. Bu açıdan bu çalışma literatürde tespit edilen önemli bir boşluğu dolduracak niteliktedir.

2013 yılında Trabzon'da bir fındık fabrikasından toplanan erginlerin laboratuvarında yetiştirilen larvalarında % 1,23 oranında tespit edilen virüs enfeksiyonu dünyada ilktir. Bu oran her ne kadar düşük gibi görünse de daha önce hiç virüs tespiti yapılmamış olması bu değeri anlamlı kılar. Ayrıca benzer olarak D'Amico ve Slavicek (2012)'in yine bir lepidopter olan *Lymantria dispar* larvalarında tespit ettiği LdMNPV enfeksiyonunun yüzdesi de % 3,8'dir. Bu oranın düşük olmasında virüs enfeksiyonlarının böceğin erken

larval gelişimi esnasında kısa sürede ölümüne yol açması, böylece ilerleyen hayat evrelerine ulaşamaması (D'Amico ve Slavicek, 2012) etken olabilir. Böcek gelişim evrelerini tamamlayamadan kısa sürede ölüm görülür ve buna bağlı olarak incelenen larvalarda ölüm yüzdesi düşük olabilir.

2012 yılında Trabzon'dan toplanan *E. kuehniella* erginlerinden laboratuvarda yetiştirilen nesillerdeki mikrosporidyum enfeksiyonuna böceğin ergin ve pupa safhalarında rastlanmamıştır. Böceğin larval evresinde ise enfeksiyon oranı % 8,73 olarak tespit edilmiştir. Rize ili için yapılan incelemelerde de 2012 yılına ait enfeksiyon verilerinde (Tablo 5) Trabzon verilerine benzerlik göstermektedir. Rize'den alınan örneklerde ergin ve pupa evrelerinde enfeksiyon görülmezken, larvalardaki enfeksiyon %14,45 olarak ölçüldü. 2013 yılında ise enfeksiyon oranı %11,49 şeklindedir. Depolarda yapılan fümigasyon uygulamaları aynı depodan bir sonraki sene böcek temin edilememesine yol açmıştır. Bu nedenle 2012 yılında toplanan erginlerle, 2013 yılında toplanan erginlerin toplanma yerinin aynı olmaması enfeksiyon oranlarının arasında kesin bir bağ kurulamamasına yol açmıştır.

Yine 2012 ve 2013 yılları Rize ve Trabzon illeri için birlikte ele alındığında Rize'deki % 11,17'lik enfeksiyon oranı, Trabzon'daki % 10, 85'lik enfeksiyon oranının az farkla önüne geçmektedir.

Neogregarinlerin konak böcekte hızla çoğalıp ve depo zararlısı böcekler üzerinde ölümcül enfeksiyonlar ortaya çıkardığı göz önünde bulundurulduğunda bu etkileri biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılmalarının önünü açar (Lipa ve Triggiani, 1992; Kleespies vd., 1997; Valigurova ve Koudela, 2006). Finlayson, 1950 yılında yaptığı çalışmada oran vermese de *E.kuehniella*'nın neogregarin patojenine duyarlı olduğunu belirtmiştir. Bundan sonra 1972 yılında Leibenguth tarafından yapılan çalışmada *M. dispersa*'nın *E. kuehniella*'yı enfekte ettiği bildirilmiştir.

2012 yılında Trabzon'dan toplanan *E. kuehniella* erginlerinden laboratuvarda yetiştirilen nesillerdeki neogregarin enfeksiyonuna böceğin pupa ve larva safhalarında rastlandı. Böceğin pupa evresindeki enfeksiyon oranı %83,33, larva evresindeki enfeksiyon oranı ise %38,83 olarak tespit edildi. Normalde larvaların pupaya göre enfeksiyon direncinin daha düşük olduğu bilindiği halde (D'Amico ve Slavicek, 2012) buradaki enfeksiyon oranları bu durumun tersini ortaya koymaktadır. Disekte edilen larva sayısı 206 enfeksiyon gözlenen larva sayısı ise 80 iken, disekte edilen pupa sayısı 12 enfekte olan pupa sayısı ise 10'dur. Yani, enfeksiyon yüzdelerinden bağımsız olarak durum değerlendirildiğinde, larvada görülen enfeksiyonun çok az da olsa böceğin pupaya

geçmesine müsaade ettiği ancak yine de bu evreden sonra böceğin enfeksiyon sebebiyle pupadan ergine dönüşemediği düşünülebilir. Pupada enfeksiyon yüzdesinin yüksek çıkması bu durumla açıklanabilir. 2013 yılı Trabzon örneklerine bakıldığında ise enfeksiyon yüzdelerinin artmış olduğu tespit edilmiştir. Enfeksiyon yüzdeleri erginde %12,5, pupada % 87,5 ve larvada % 86,41 şeklindedir. 2012 yılında *E. kuehniella* erginlerde enfeksiyona rastlanmazken 2013 yılında yapılan çalışmalarda disekte edilen 16 erginden 2'sinde neogregarin enfeksiyonu gözlenmiştir. Rize ili için yürütülen çalışmalarda ise 2012 yılında ergin ve pupadaki böceklerde enfeksiyona rastlanmazken larvalardaki enfeksiyon yüzdesi % 49,40 olarak tespit edildi. Benzer durum 2013 yılı için de geçerlidir. 2013 yılında yapılan incelemelerde yine ergin ve pupadaki böceklerde enfeksiyon görülmezken larvalardaki enfeksiyon yüzdesi % 46,46 olarak saptanmıştır. Rize ilinde 2012 ve 2013 yılında böceklerin toplandığı depolar farklı olduğundan enfeksiyon yüzdeleri arasında kesin bir bağlantı kurulamasa da depoların özellikleri açısından benzer olmaları (İki depo da hububat ve ürünleri üzerine toptancı deposudur) enfeksiyon yüzdelerinin birbirine yakın çıkmalarını ifade edebilir.

Bu çalışmada mikrosporidyum ve neogregarin ile yapılan biyoassay deneyleri, bu iki hastalık etmeninin *E.kuehniella*'da enfeksiyona yol açtığını teyit eder niteliktedir. Uygulanan en yüksek dozajlarda (mikrospor için  $1,6 \times 10^7$  spor/ml, neogregarin için  $1,8 \times 10^6$  ookist/ml) neogregarin enfeksiyonunun (% 52,63), yine bu doktora tezinde yapılan dağılım çalışmasındaki gibi, mikrospor enfeksiyonundan (% 42,10) daha öldürücü olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada yapılan biyoassay deneylerinde ilk ölüm, mikrospor deneyinde 7., neogregarin deneyinde ise 6. günde görülmüştür. Down vd. (2008)'nin, bir mikrosporidyum olan *Vairiomorpha necatrix* ile *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera: Noctuidae) üzerinde yaptıkları çalışmada ilk ölüm  $6,7 \times 10^7$  spor/mg'lık dozajda 9. günde görülmüştür. Yine bir neogregarin olan *Mattesia oryzaephili*'nin, *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera: Laemophloeidae) *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) *Cephalonomia* spp. (Hymenoptera: Bethyridae) böcekleri üzerinde yapılan benzer bir çalışmada böceklerin incelenmesi için 14 gün beklenmiştir. Aynı çalışmada sabit bir enfeksiyon yüzdesiyle çalışılmış olup, enfeksiyon yüzdesi  $10^7$  ookist/ml'dir (Lord, 2006). Bu doktora tezi çalışmasında ise 4 farklı enfeksiyon yüzdesinin böcek larvaları üzerindeki etkisi araştırıldı ve ölen larvalar öldükleri gün incelenmiştir. Her iki enfeksiyon etkeni için



de bizim çalışmamızda ilk ölümler literatürdeki diğer çalışmalardan daha erken görülmüştür. Bu nedenle bu tez çalışması daha ayrıntılı bilgiler vermektedir (Tablo 12).

Tablo 12. *Plodia interpunctella*'da *Mattesia oryzaephili* enfeksiyon yüzdeleri ile *E.kuehniella*'da *Mattesia dispora* enfeksiyon yüzdelerinin karşılaştırılması

Böcek Türü	Uygulanan Doz (ookist/)	Deneyin Süresi (gün)	Enfeksiyon Yüzdesi(%)	Kaynak
<i>P. interpunctella</i>	$1,0 \times 10^4$ g	21	6,25	Lord, 2003
<i>P. interpunctella</i>	$1,0 \times 10^6$ g	21	79,16	Lord, 2003
<i>P. interpunctella</i>	$1,0 \times 10^6$ ml	14	9,09	Lord, 2003
<i>E. kuehniella</i>	$1,8 \times 10^6$ ml	21	52,63	Bu çalışmada
<i>E. kuehniella</i>	$1,8 \times 10^5$ ml	21	35,58	Bu çalışmada
<i>E. kuehniella</i>	$1,8 \times 10^4$ ml	21	21,06	Bu çalışmada
<i>E. kuehniella</i>	$1,8 \times 10^3$ ml	21	5,26	Bu çalışmada

*E. kuehniella* üzerinde daha önce böyle bir deney yapılmadığından ona yakın olduğu düşünülen *P. interpunctella* için gerçekleştirilen deneyle kıyaslama yapılmıştır. Yakın dozajlarda yüksek doz için *P. interpunctella*'daki enfeksiyon yüzdesi *E. kuehniella*'dan yüksek iken düşük dozda *E. kuehniella*'daki enfeksiyon yüzdesi *P. interpunctella*'dan yüksek çıkmıştır.

Enfeksiyon yapan neogregarinlerin konak seçiciliği üzerine çok az çalışma yapılmıştır. Lord (2003) yaptığı çalışmada, Purrini (1976, 1977)'nin Yugoslavya'nın Kosova kentindeki dokuz bölgede depo zararlısı böcekler üzerinde yaptığı çalışmada *E. kuehniella*'da *M. dispora* tespit ettiğini bildirmiştir.

Literatürde yer alan çok az bilgiye rağmen bu çalışmada tespit edilen NPV, *M.dispora*'nın ve *V. ephestia*'nın Akdeniz Un Güvesi *E.kuehniella* üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Özellikle *M. dispora*'nın etkisi incelenen diğer patojenlere göre daha fazladır. Bu durum bu patojenlerin biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabileceklerini göstermektedir.

*M. dispora*'nın ve *V. ephestia*'ya göre daha düşük dozlarda daha yüksek ölüm yüzdelerine yol açması *M.dispora*'yı mikrobiyolojik kontrol ajanı olarak *V. ephestia*'nın önüne geçirebilir.

Gerek *E. kuehniella* erginlerinden laboratuvarda yetiştirilen nesillerin diseksiyonları, gerekse biyoassay deneylerinin sonuçları, *M. dispersa*'nın ve *V. ephestia*'nın, *E. kuehniella* popülasyonunu azalttığını göstermektedir. Bu azalmaya bağlı olarak, böceğin zararına maruz kalan depolarda bu patojenlerin biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılmasıyla kimyasal yöntemlerin olumsuz etkilerinden kurtulmak mümkün olacaktır. Ayrıca üründe oluşan zarar da doğal yollardan en aza indirgenebilecektir.

## 5. SONUÇLAR

Bu doktora tezi süresince elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

- 1- Lepidoptera takımına ait olan Akdeniz Un Güvesi *E. kuehniella* böceklerindeki entomopatojenlerin karakterizasyonu, varlığı ve dağılımı ayrıntılı bir şekilde çalışılmıştır.
- 2- 2012-2013 yılları arası Trabzon, Rize ve Ankara illerinden toplam 1030 böcek incelenmiştir. Bunların 472'si ergin, 20'si pupa ve 538'i larvadır. Çalışma boyunca incelenen erginlerin 409'u Trabzon ilinde bulunan feromon tuzaklarından alınmıştır.
- 3- Yapılan incelemeler sonucu *E. kuehniella* örneklerinde bir virüs, bir neogregarin ve bir mikrospor patojeni tespit edilmiştir.
- 4- *E. kuehniella* örneklerinden tespit edilen virüs patojeninin, ışık mikroskobu ve TEM ile yapılan ölçüm ve karşılaştırmalar sonucunda *EpkuMNPV* olduğu görülmüştür.
- 5- Bu tez çalışmasında *E. kuehniella* örneklerinden tespit edilen *EpkuMNPV*, dünya literatüründe yeni kayıttır.
- 6- *E.kuehniella* örneklerinden tespit edilen Mikrospor patojeninin, ışık mikroskobu ve TEM ile yapılan ölçüm ve karşılaştırmalar sonucunda *Vairiomorpha ephestia* olduğu görülmüştür.
- 7- Bu tez çalışmasında *E. kuehniella* örneklerinden tespit edilen *Vairiomorpha ephestia*, Türkiye için yeni kayıttır.
- 8- *E. kuehniella* örneklerinden tespit edilen neogregarin patojeninin, ışık mikroskobu ve TEM ile yapılan ölçüm ve karşılaştırmalar sonucunda *Mattesia dispora* olduğu görülmüştür.
- 9- Bu tez çalışmasında *E. kuehniella* örneklerinden tespit edilen *Mattesia dispora*, Türkiye için yeni kayıttır.
- 10- 2012 yılı genel enfeksiyon oranları *V. ephestia* için % 13,33, *M. dispora* içinse % 38,99 şeklindedir.
- 11- 2013 yılı genel enfeksiyon oranları *V. ephestia* için % 8,93, *M. dispora* içinse % 68,42 şeklindedir.
- 12- 2012-2013 yılları arası Trabzon iline ait *V. ephestia* enfeksiyon oranı % 11,89, Rize iline ait *V. ephestia* enfeksiyon oranı % 11,17; Trabzon iline ait *M. dispora*

enfeksiyon oranı % 58,95, Rize iline ait *M. dispersa* enfeksiyon oranı % 44,14 olarak bulunmuştur.

- 13- 2012 yılında Trabzon ilinde tespit edilen *V. ephestia* enfeksiyon oranı % 7,56, *M. dispersa* enfeksiyon oranı % 37,81 iken; aynı yıl için Rize ili enfeksiyon oranları *V. ephestia* için % 10,10, *M. dispersa* içinse % 41,83 olarak tespit edilmiştir.
- 14- 2013 yılında Trabzon ilinde tespit edilen *EpkuMNPV* enfeksiyon oranı %1,23, *V. ephestia* enfeksiyon oranı % 15,05, *M. dispersa* enfeksiyon oranı % 80,10 iken; aynı yıl için Rize ili enfeksiyon oranları *V. ephestia* için % 10,10, *M. dispersa* içinse % 46,46 olarak tespit edilmiştir.
- 15- 2012-2013 yıllarına ait erginlerdeki enfeksiyon yüzdesi %0,19, pupalardaki enfeksiyon yüzdesi % 1,65, larvalardaki enfeksiyon yüzdesi ise % 35,43 olarak bulunmuştur.
- 16- Enfeksiyonların en çok görüldüğü evrenin % 35,43 ile larva evresi olduğu tespit edilmiştir.
- 17- Ankara iline ait *E. kuehniella* larvaları üzerinde *V. ephestia* ve *M. dispersa* patojenleri kullanılarak biyoassay deneyleri yapılmıştır.
- 18- *V. ephestia* ile yapılan deneylerde dozajlar  $1,6 \times 10^7$  (spor/ml),  $1,6 \times 10^6$  (spor/ml),  $1,6 \times 10^5$  (spor/ml),  $1,6 \times 10^4$  (spor/ml) ve kontrol grubu şeklinde belirlenirken; *M. dispersa* dozajları  $1,8 \times 10^6$  (ookist/ml),  $1,8 \times 10^5$  (ookist/ml),  $1,8 \times 10^4$  (ookist/ml),  $1,8 \times 10^3$  (ookist/ml) ve kontrol olarak belirlenmiştir.
- 19- *V. ephestia* deneyinde en yüksek enfeksiyon yüzdesi % 42,10 ile  $1,6 \times 10^7$  (spor/ml) dozajının uygulandığı grupta; *M. dispersa* deneyindeki en yüksek enfeksiyon yüzdesi ise % 52, 63 ile  $1,8 \times 10^6$  (ookist/ml) dozajının uygulandığı grupta görülmüştür.
- 20- *V. ephestia* deneyinde ilk ölüm 7.; *M. dispersa* deneyindeki ilk ölüm ise 6. günde görülmüştür.

## 6. ÖNERİLER

Depolanmış tarımsal ürün ve gıdalar beslenmemizde ve ekonomimizde önemli yer tutar. Bu ürünlerin korunması üretici, işletmeci ve ihracatçılar açısından oldukça önemlidir. Ancak bugüne kadar bu ürünleri korumak adına yapılan uygulamalarda kimyasal yöntemler kullanılmıştır. Uygulanan kimyasal yöntemlerin hem çevre hem de insan sağlığı üzerinde ciddi olumsuz etkileri vardır. Bu nedenle, biyolojik mücadele, hedef canlının dışındaki canlılara zarar vermemesi, çevreye duyarlı olması nedeniyle kimyasal mücadeleye iyi bir alternatiftir.

Bu tez sonucunda tespit edilen *EpkuMNPV*, *Vairiomorpha ephestia* ve *Mattesia dispersa* önemli bir depo zararlısı olan *E. kuehniella* ile mücadelede alternatif olarak kullanılmalıdır. Böylece bu zararlıyla mücadelede kullanılan kimyasalların olumsuz etkileri ortadan kaldırılmış olacaktır.

Tespit edilen virüsün konak spektrumu ve etki oranı rekombinant teknikler kullanılarak geliştirilebilir. Virüsün genomik kütüphanesi oluşturularak biyoteknolojide kullanılma imkanları arttırılabilir. Ayrıca bu çalışmada bulunan virüs dünya için ilk kayıt olduğundan diğer ülkelerde de varlığı araştırılabilir. Yapılacak biyoassay deneyleriyle patojenin patojenitesi ve biyolojik mücadele amaçlı uygulanabilecek ölümcül dozlar tespit edilebilir. Tespit edilen neogregarin ve mikrosporidyum patojenleri ülkemiz için ilk tespitler olduğundan, ülkemizin başka bölgelerinde bulunan depolardaki varlıkları araştırılabilir. Bulunan patojenlerin böceklerin gelişim safhalarını, beslenmelerini ve yumurta bırakmalarını ne ölçüde etkilediği araştırılabilir. Bu patojenlerin moleküler karakterizasyonları da daha detaylı olarak yapılabilir. Bu çalışma ülkemizde bu alanda yapılan ilk çalışma olması nedeniyle, bu alanda çalışacak diğer araştırmacılar için örnek alınacak temel bir çalışma olacaktır.

## 7. KAYNAKLAR

- Abbott, W., S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide, J. Econ. Entomol., 18, 265-267.
- Abdel-Rahman H., A., Shaumar N., F., Soliman Z., A. ve El-Agoze M., M., 1977. Survey and taxonomy of parasites and predators of stored grain and grain products insects. Bulletin de la Societe Entomologique d'Egypte, 61, 53-74.
- Anderson, P. ve Löfqvist, J., 1996. Asymmetric oviposition behaviour and the influence of larval competition in the two pyralid moths *Ephestia kuehniella* and *Plodia interpunctella*, Oikos, 76, 1, 47-56.
- Andreadis, T., G., 1985. Experimental transmission of a microsporidian pathogen from mosquitoes to an alternate copepod host, Proc. Natl. Acad. Sci., 82, 5574-5577.
- Andreadis, T., G., 2007. Microsporidian Parasites of Mosquitoes, Amca Bulletin No. 7, 23, Supplement to no. 2.
- Ayvaz, A., Albayrak S., ve Tunçbilek A., Ş. 2007. Inherited Sterility in Mediterranean Flour Moth *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae): Effect of Gamma Radiation on Insect Fecundity, Fertility and Developmental Period, Journal of Stored Products Research, 43, 234-239.
- Bilimoria, S., L., 1991. The biology of nuclear polyhedrosis viruses, In: Viruses of Invertebrates (Edt. E. Kurstak), Marcel Dekker, New York, 1-72.
- Bilimoria, S., L., 1986. Taxonomy and identification of baculoviruses. In: The Biology of Baculoviruses (R. R. Granados and D.A. Federici. Eds.), CRC Press, Boca Raton, FL., 1, 37-59.
- Burges, H., D., Canning, E., U. ve Hulls, I., K., 1974. Ultrastructure of *Nosema oryzaephili* and the taxonomic value of the polar filament, Journal Invertebrate Pathology, 23, 135-139.
- 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. Pyhllum microsporidia Balbiani. In: J. J. Lee, G. F. Leedale and P. Brudbury (Eds.), The Illustrated Guide To The Protozoa, Second Edition, Vol. 1., Society of Protozoologist, Lawrance, Kansas, 39-126.
- Coşkuncu, K. S., 2005. Depolanmış Ürünlerde Zararlı Böceklerle Mücadele Feromon Tuzaklarının Kullanımı, Ondokuzmayıs Üniv Zir. Fak. Dergisi, 20, 2, 92-97.

- Coppel, C., H. ve Mertins, J., W., 1977. Biological Insect Pest Suppression, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 314 S.
- Cox P., D., Mfon M., Parkin S. ve Seaman J., E., 1981. Diapause in a Glasgow strain of the flour moth, *Ephestia kuehniella*. Physiological Entomology, 6, 4, 349-356.
- Cunningham, J., C., 1988. Baculoviruses- Their Status Compared to *Bacillus thuringiensis* as Microbial Insecticides, Outlook on Agriculture.
- Cunningham, J., C., 1995. Baculoviruses as microbial insecticides, In Novel Approaches to Integrated Pest Management, ed. R Reuveni, Lewis, Boca Raton, Fl, 261-292.
- Çanakçıoğlu, H., 1983. Orman Entomolojisi, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul.
- Daumal, J., 1987. Contribution à l'étude de la biologie d' *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae - Phycitinae) Application aux élevages intensifs. [Contribution to the study of the biology of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae - Phycitinae) Application to intensive production.], PhD Dissertation. Aix-Marseille, France, St Jérôme University.
- Daumal, J., Marconi D. ve Chassain C., 1985. Small-scale automated rearing of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera- Pyralidae), Bulletin de la Societe Linneenne de Lyon, 54, 1, 7-12.
- Daumal, J. ve Boinel H., 1994a. Trophic quality of eggs of *Ephestia kuehniella* Zell. after freezing treatment for the rearing of *Trichogramma* species, Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft, 67, 3-4, 373-383.
- Daumal, J. ve Boinel H., 1994b. Variability in fecundity and plasticity of oviposition behaviour in *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), Annals of the Entomological Society of America, 87, 2, 250-256.
- Daumal, J. ve Pintureau B., 1985. Study of the variability of the duration of development in *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep. Pyralidae), Acta Oecologica, 6, 4, 367-380.
- D'Amico, V. ve Slavicek, J., 2012. Interactions Between Nucleopolyhedroviruses and Polydnviruses in Larval Lepidoptera, U.S.A.
- Demirsoy, A., 2006. Yaşamın temel kuralları, Omurgasızlar / Böcekler, Entomoloji, Cilt II / Kısım II," Meteksan A.S., Ankara.
- Didier, E., S., 2005. Microsporidiosis: An emerging and opportunistic infection in humans and animals, Acta Tropica, 94, 61-76.
- Down R., E., Bell H., A., Bryning G., Kirkbride-Smith A., E., Edwards J., P. ve Weaver R., J. ,2008. Infection by the microsporidium *Vairimorpha necatrix* (Microspora: Microsporidia) elevates juvenile hormone titres in larvae of the tomato moth, *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera: Noctuidae), Journal of Invertebrate Pathology, 97, 223-229

- Edwards D., K., 1962. Laboratory determinations of the daily flight times of separate sexes of some moths in naturally changing light, Canadian Journal of Zoology, 40, 4, 511-530.
- Erdoğan P. ve Gürkan O., 1995. *Ephestia kuehniella* Zell. (Lep.:Pyralidae) ile *Rhyzopertha dominica* F. (Col.:Bostrychidae)'nın laboratuvar koşullarında gelişmeleri ve rekabetleri üzerinde araştırmalar, Bitki Koruma Bülteni, 35, 1-2.
- Ecevit, O., 1988. Zirai Mücadele İlaçları ve Çevreye Olan Etkileri, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayınları, Samsun.
- Erickson, B., W., Jr. ve Blanquet, R., S., 1969. The occurrence of chitin in the spore wall of *Glugea weissenbergi*, Journal Invertebrate Pathology, 14, 358-364.
- Evans, H. ve Shapiro, M., 1997. Viruses, Manual of Techniques in Insect Pathology, Academic Press, London, 17-54.
- 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), 15 Mart 2014.
- Goertz, D., Solter, L., F. ve Linde, A., 2007. Horizontal and vertical transmission of a *Nosema* sp. (Microsporidia) from *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: *Lymantriidae*), Journal of Invertebrate Pathology, 95, 9-16.
- Gordh, G. ve Hartman H., 1991. Hymenopterous parasites of stored-food insect pests, In: Gordham JR, ed. Ecology and management of food-industry pests, 217-227.
- Gül, M. ve Gülel, A., 1995. Parazitoid *Bracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae)' un Biyolojisi ve Konak Larva Büyüklüğünün Verim ve Eşey Oranı Üzerine Etkisi, Turkish Journal of Zoology, 19, 231-235.
- Hansen, L., S., 1999. Biological control of the Mediterranean flour moth *Ephestia kuehniella*, In: Bille N, Christensen M, eds. Danish Pest Infestation Laboratory, Annual Report. Lyngby, Denmark, 76-78.
- Hansen, L., S. ve Jensen, K., M., V., 2002. Effect of Temperature on Parasitism and Host-Feeding of *Trichogramma turkestanica* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), Journal of Economic Entomology, 95, 50-56.
- Hawlitzky, N., 1972. Mode of penetration of an egg-larval parasite *Phanerotoma flavitestacea* Fish.(Hym.:Braconidae) into the eggs of its host, *Anagasta kuehniella* Zell.(Lep.:Pyralidae), Entomophaga, 17, 4, 375-389.
- Hazard, E., I., Fukuda, T. ve Becnel, J., J., 1985. Gametogenesis and plasmogamy in certain species of Microspora, J. Invertebr. Pathol., 46, 63-69.



- 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.
- Hayakawa, T., Rohrmann G., F. ve Hashimoto Y., 2000. Patterns of genome organization and content in lepidopteran baculovirus, Virology, 278, 1-12.
- Herniou, E., A., Luque, T., Chen, X., Vlak, J., M., Winstanley, D., Cory J., S. ve O'Reilly D., R., 2001. Use of whole genome sequence data to infer baculovirus phylogeny, J. Virol., 75, 8117-8126.
- Henry, J., E., 1971. Experimental application of *Nosema locustae* for control of grasshoppers, Journal of Invertebrate Pathology, 18, 3, 389-394.
- Higes, M., Garcia-Palencia, P., Martin-Hernández, R. ve Meana, A., 2007. Experimental infection of *Apis mellifera* honeybees with *Nosema ceranae* (Microsporidia), Journal of Invertebrate Pathology, 94, 211–217.
- Higes, M., García-Palencia, P., Botías, C., Meana, A. ve Martín-Hernández, R., M., 2010. The differential development of microsporidia infecting worker honey bee (*Apis mellifera*) at increasing incubation temperature, Environmental Microbiology Reports, 2, 6, 745–748.
- Hylis, M., Weiser J., Obornik M. ve Vavra J., 2005. DNA isolation from museum and type collection slides of microsporidia, Journal of Invertebrate Pathology, 88, 3, 257-260.
- Joudrey, P. ve Bjornson S., 2007. Effects of an unidentified microsporidium on the convergent lady beetle, *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville (Coleoptera: Coccinellidae), used for biological control, Journal of Invertebrate Pathology, 94, 2, 140-143.
- 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.
- Knipe, D., M., Howley, P., M., Griffin, D., E., Lamb, R., A., Martin, M., A., Roizman, B. ve Straus, S., E., 2007. Fields Virology (5 Edition), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 3177 sayfa.
- Kost, T.A., Condreay, J., P. ve Jarvis, D., L., 2005. Baculovirus as versatile vectors for protein expression in insect and mammalian cells, Nat. Biotechnol., 23, 5, 567-575.
- Kleespies, R. G., Huger, A. M., Buschinger, A., Nahring, S. ve Schumann, R. D., 1997. Studies on the Life History of a Neogregarine Parasite Found in Leptothorax Ants from North America, Biocontrol Science and Technology, 7, 117-129.

- Larsson, J., I., R., 1986. Ultrastructure, Function and Classification of Microsporidia, Progress in Protistology, 1, 325-390.
- Leibenguth, F. ve Russell, G., E., 1986. Genetics of the flour moth, *Ephestia kuhniella*, Agricultural zoology reviews, Volume 1, Newcastle upon Tyne, UK, Intercept, 39-72
- Levine, N., D., 1971. Uniform terminology for the protozoan subphylum Apicomplexa, J. Protozool., 18, 352-355.
- Lipa, J., J., 1968. *Nosema leptinotarsae* sp. n., a Microsporidian Parasite of the Colorado Potato Beetle, *Leptinotera decemlineata* (Say)., Journal of Invertebrate Pathology, 10, 111-115.
- Lipa, J. J. ve Triggiani, O., 1992. A newly recorded neogregarine (Protozoa, Apicomplexa), parasite in honey bees (*Apis mellifera*) and bumble bees (*Bombus spp*), Apidologie, 23, 533-536.
- Lord, J., C., 2003. *Mattesia oryzaephili* (Neogregarinorida: Lipotrophidae), a Pathogen of Stored-Grain Insects: Virulence, Host Range and Comparison with *Mattesia dispersa*, Biocontrol Science and Technology, 13, 6, 589-598.
- Lord, J., C., 2006. Interaction of *Mattesia oryzaephili* (Neogregarinorida: Lipotrophidae) with *Cephalonomia spp.* (Hymenoptera: Bethyridae) and their hosts *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera: Laemophloeidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae), Biological Control, 37, 167-172.
- 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.
- McLaughlin, R. E., 1965. *Mattesia grandis* n. Sp., a sporozoan pathogen of the boll Weevil, *Anthonomus grandis* Boheman, Journal of Protozoology, 12, 405-413.
- Miller, L., K., 1997. Introduction to the Baculoviruses, In: Baculoviruses (Miller, L.K. Ed.), Plenum Press, New York, 1-6.
- Moscardi, F., 1999. Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera, Annu. Rev. Entomol., 44, 257-289.
- Norris, J., M., 1932. Contributions towards the study of insect fertility. I. The structure and operation of the reproduction organs of the genera *Ephestia* and *Plodia* (Lepidoptera: Phycitidae), Proceedings of the Zoological Society of London, 595-611.

- Norris, J., M., 1933. Contributions towards the study of insect fertility. II. Experiments on the factors influencing fertility of *Ephestia kuehniella* Z. (Lepidoptera, Phycitidae). Proceedings of the Zoological Society of London, 903-934.
- Norris, J., M., 1934. Contributions towards the study of insect fertility. III. Adult nutrition, fecundity and longevity in the genus *Ephestia kuehniella* Z. (Lepidoptera, Phycitidae), Proceedings of the Zoological Society of London, 333-380.
- Ormieres, R., 1971. *Mattesia oryzaephili* n. Sp. Neogregarin parasite *Oryzaeophilus surinamensis* L. (Col., Cucujidae). Cycle at action pathogene, Bulletin de la Societe Zoologique de France, 96, 547-556.
- Peter, G., 1984. Plant Pests and Their Control, Fenemore, London.
- Poinar, G., O., 1978. Identification of The Groups of Insect Pathogens, Plenum Press, New York.
- Purrini, K., 1976. Zwei Schizogregarinen-Arten (Protozoa, Sporozoa) bei vorratsschädlichen Insekten in jugoslawischen Mühlen, Anzeiger für Schändlingskunde, 49, 6, 83-85.
- Purrini, K., 1977. Über eine neue Schizogregarinen-Krankheit der Gattung *Mattesia naville* (Sporoz., Dischizae) des Zottigen Fichtenborkenkäfers, *Dryocoetes autographus* Ratz. (Coleopt, Scolytidae), Anzeiger für Schändlingskunde, 50, 9, 132-135.
- Purrini, K., 1978. Protozoen als Krankheitserreger bei einigen Borkenkaferarten im Königsee-Gebiet, Oberbayern, Anz. Schadingskde, Pflanzenschutz, Umweltschutz, 51, 171-175.
- Radek, R. ve Fabel, P., 2000. A new entomopoxvirus from a Cockroach: Light and electron microscopy, J. Invert. Pathol., 75, 19-27.
- Rees, D., 2003. Insects of Stored Products, CSIRO Publishing, London, 181s.
- Richards, O., W. ve Thomson W., S., 1932. A contribution to the study of the genera *Ephestia*, GN. (including *Strymax*, Dyar) and *Plodia*, GN. (Lepidoptera, Phycitidae), with notes on parasites of the larvae, London, UK, Transactions of the Royal Entomological Society, 80, 169-250.
- Riemann, J., G. ve Ruud R., L., 1974. Mediterranean flour moth: effects of continuous light on the reproductive capacity, Annals of the Entomological Society of America, 67, 6, 857-860.
- Robinson, R., 1971. Lepidoptera Genetics, Oxford, UK, Pergamon Press.
- Simakova, A., V., Vossbrinck, C., R. ve Andreadis, T., G., 2008. Molecular and ultrastructural characterization of *Andreanna caspii* n. gen., n. sp. (Microsporida: *Amblyosporidae*), a parasite of *Ochlerotatus caspius* (Diptera: *Culicidae*), Journal of Invertebrate Pathology, 99, 302-311.

- Slack, J. ve Arif B., M., 2007. The baculoviruses occlusion-derived virus: Virion structure and function, Adv. Virus Res., 69, 99-165.
- Sogaard-Andersen, F., 1968. Sleep in moths and its dependence on the frequency of stimulation in *Anagasta kuehniella*, Opuscula Entomology, 33, 1, 2, 15-24.
- Sokolova, Y., Y., Sokolov, I., M. ve Carlton, C., E., 2010. Identification of *Nosema bombi* Fantham and Porter 1914 (Microsporidia) in *Bombus impatiens* and *Bombus sandersoni* from Great Smoky Mountains National Park (USA), Journal of Invertebrate Pathology, 103, 71-73.
- Takov, D., Pilarska, D. ve Wegensteiner, R., 2010. List of Protozoan and Microsporidian Pathogens of Economically Important Bark Beetle Species (Coleoptera: *Curculionidae: Scolytinae*) in Europa, Acta Zoologica Bulgaria., 62, 1, 201-209.
- 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.
- Theilmann, D.A., Blissard, G., W., Bonning, B., Jehle, J., A., O'Reilly, D., R., Rohrmann, G., F., Thiem, S. ve Vlask, J., M., 2005. Baculoviridae, Eighth report of the international committee on taxonomy of viruses, Academi Press, San Diago, 177-185.
- Toguebaye, B., S. ve Marchand, B., 1988. Microsporidia of Chrysomelidae, In: Petitpierre E, Hsiao TH, Jolivet PH (eds) Biology of Chrysomelidae, Kluwer Academic Publishers, Boston, 399-416.
- Traynier R., M., M., 1968. Sex attraction in the Mediterranean flour moth *Anagasta kuehniella*: location of the female by the male, Canadian Entomologist, 100, 5-10.
- Traynier R., M., M., 1970. Sexual behavior of the Mediterranean flour moth *Anagasta kuehniella*: some influence of age, photoperiod and light intensity, Canadian Entomologist, 102-534.
- Traynier R., M., M. ve Wright R., H., 1972. Behaviour of the male Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella*, following attraction to a source of female sex pheromone, Entomologia Experimentalis et Applicata, 15(4):509-516.
- Tunçyürek, C., M., 1972. *Bracon hebetor* Say. (Hymenoptera: Braconidae ) ile *Carda cautella* (Walk.) ve *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera : Pyralidae) 'ya karşı biyolojik savaş imkanları üzerine araştırmalar," Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü araştırma eserleri serisi, Teknik bülten No:20, İzmir, 78 s.
- Ullyett, G., C., 1945. Oviposition by *Ephestia kuehniella* Zell., Journal of the Entomological Society of Southern Africa, 7, 53-59.

- Undeen, A. ve Vavra, J., 1997. Research methods for entomopathogenic protozoa. Lacey, L., (ed), *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, ISBN 92- 807-1448-1448-1, 304 s.
- URL-1, <http://bugguide.net/node/view/753639/bgimage>., 07 Mayıs 2014.
- Valigurova, A. ve Koudela, B., 2006. Ultrastructural study of developmental stages of *Mattesia dispersa* (Neogregarinorida: Lipotrophidae), a parasite of the flour moth *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera), European Journal of Protistology, 42, 313-323.
- Valles S., M. ve Pereira R., M., 2005. Use of ribosomal DNA sequence data to characterize and detect a neogregarine pathogen of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae), Journal of Invertebrate Pathology, 84, 2, 114–118.
- Vernick, S., H., Sprague, V. ve Krause, D., 1977. Some ultrastructural and functional aspects of the Golgi apparatus of *Thelohania* sp. (Microsporidia) in the shrimp *Pandalus jordani* Rathbun, Journal Protozool, 24, 94-99.
- Vávra, J., 1976a. Structure of the Microsporidia. In: Bulla, L.A. Jr. ve Cheng, T.C, eds., *Comparative Pathobiology*, Plenum Press, New York and London, 1, 1-85.
- Vávra, J., 1976b. Development of the microsporidia. In: Bulla, L.A. Jr. ve Cheng, T.C, eds., *Comparative Pathobiology*, Plenum Press, New York and London, 1, 87-109.
- 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.
- Weiser, J., Purrini, K., 1985. Light- and electron-microscopic studies on the microsporidian *Vairimorpha ephestiae* (Mattes) (Protozoa, Microsporidia) in the meal moth *Ephestia kuehniella*, Archiv für Protistenkunde, 130, 179-189.
- Weiser, J., 1977. Contribution to the classification of microsporidia, Vest. Cs. spol. zool., 41, 308-320.
- Weiser, J., Wegensteiner, R. ve Žižka, Z., 1995. *Canningia spinidentis* gen. Et sp. n. (Protista: Microspora), a new pathogen of the fir bark beetle *Pityokteines spinidens*, Folia microbiologica, 42, 1-10.
- Williams, J., H., 1938. The mating of *Ephestia kuehniella* Zeller and its results. Entomologists Newsletter, 49, 121-127.

- Yaman, M., Nalçacıoğlu, R. ve Demirbağ, Z., 2001. Viral Control of The European Pine Sawfly, *Neodiprion sertifer* (Geoffroy) in Turkey, Tr. J. Biology, 25, 419-425.
- Yaman, M., 2003. *Malacosoma neustria* (Lepidoptera: Lasiocampidae)'dan virüs izolasyonu, karakterizasyonu ve mikrobiyal mücadelede kullanılma potansiyeli, Doktora tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Yaman M., Radek R., Aslan I. 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., 2008a. First Results on the Distribution of *Nosema chaetocnema* Yaman and Radek, 2003 (Microspora) in the Populations of *Chaetocnema tibialis* Illiger, 1807 (Coleoptera: Chrysomelidae), Türkiye Parazitoloji Dergisi, 32, 1, 94-98.
- Yaman, M., 2008b. The First Record of Nucleopolyhedrovirus Isolated from the Satin Moth *Leucoma salicis* L. (Lepidoptera, Lymantriidae) in Turkey, Folia Biologica, 56, 3-4, 273-276.
- Yaman, M. ve Radek R., 2008. Pathogens and parasites of adults of the great spruce bark beetle, *Dendroctonus micans* (Kugelann) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) from Turkey, J Pest Sci., 81, 91-97.
- Yaman, M. ve Radek R., 2003. *Nosema chaetocnema* sp. n., a microsporidian (Microsporida; Nosematidae) parasite of *Chaetocnema tibialis* (Chrysomelidae, Coleoptera), Acta Protozool., 42, 231-237.
- Yaman, M., Radek, R. ve Toguebaye, B., S., 2008. A New Microsporidian of the Genus *Nosema*, Parasite of *Chaetocnema tibialis* (Coleoptera: Chrysomelidae) from Turkey, Acta Protozool, 47, 279-285.
- Yaman, M., Tosun, O. ve Aydın, Ç., 2009a. Occurrence of the Pathogens and Parasites of *Phyllotreta undulata* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Turkey, Turkish Journal of Zoology, 33, 139-146.
- Yaman, M., Radek, R., Tosun, O. ve Ünal, S., 2009b. *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., Weiser, J. ve Aydın, Ç., 2010. A microsporidian pathogen of the predatory beetle *Rhizophagus grandis* (Coleoptera: Rhizophagidae), Folia Parasitologica, 57, 233-236.
- Yaman, M., Özcan, N., Radek, R., Linde, A. 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, 1-7.

Yaman M., Bekircan Ç., Radek R., ve Linde A., 2012. The First Record of Nucleopolyhedrovirus Isolated from the Gypsy Moth, *Lymantria dispar* (Lepidoptera, Lymantriidae) in Turkey, Türkiye Parazitoloji Dergisi, 36, 2, 92-95.

## ÖZGEÇMİŞ

17.06.1985 tarihinde Bayburt'ta doğdu. İlkokul öğrenimini Trabzon Cudibey İlkokulu, ortaokul öğrenimini Trabzon Kanuni Anadolu Lisesi, lise öğrenimini Trabzon Yomra Fen Lisesi'nde tamamladı. 2003 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fatih Eğitim Fakültesi, Biyoloji Öğretmenliği bölümünde lisans öğrenimine başladı. 2008 yılında Trabzon Dernekpazarı Hasan Cansız Kom Lisesi'ne Biyoloji Öğretmeni olarak atandı. Aynı yıl KTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümünde Doktora eğitimine başladı. TÜBİTAK-BİDEB 2211 Yurt İçi Doktora Burs Programından burs kazandı. 2011 yılında Sürmene Cevdet Cavit Şenkaya Anadolu Sağlık Meslek Lisesi'ne tayin olmuştur ve halen burada çalışmaktadır. Evli olup, iyi seviyede İngilizce bilmektedir.