

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***DENDROCTONUS MICANS*'TAN ENTOMOPATOJENİK FUNGUSLARIN
İZOLASYONU, KARAKTERİZASYONU VE MİKROBİYAL MÜCADELE
POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elif TANYELİ ESMER

**OCAK 2011
TRABZON**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***DENDROCTONUS MICANS*'TAN ENTOMOPATOJENİK FUNGUSLARIN
İZOLASYONU, KARAKTERİZASYONU VE MİKROBİYAL MÜCADELE
POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Elif TANYELİ ESMER

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

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 29.12.2010
Tezin Savunma Tarihi : 21.01.2011**

**Tez Danışmanı : Doç Dr. İsmail DEMİR
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Mahmut EROĞLU**

Enstitü Müdürü : Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ

Trabzon 2011

ÖNSÖZ

“*Dendroctonus micans*’tan entomopatojenik fungusların izolasyonu, karakterizasyonu ve mikrobiyal mücadele potansiyellerinin araştırılması” başlıklı bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda “Yüksek Lisans Tezi” olarak hazırlanmıştır.

Çalışmalarımı yürütürken bana yardımcı olan danışman hocam Sayın Doç. Dr. İsmail DEMİR’e, çalışmam boyunca destek olan hocam Sayın Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ’a ve tezin geliştirilmesinde yardımcı olan tez jüri üyelerimden Sayın Prof. Dr. Mahmut EROĞLU hocama teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen hocam Sayın Arş. Gör. Dr. Ali SEVİM’e ve değerli arkadaşlarım Merve KONGUR’a, Mehtap DANIŞMAZOĞLU’na, Emrah Sami SEÇİL’e, Arş. Gör. Emine ÖZŞAHİN’e, Arş. Gör. Yeşim AKTÜRK DİZMAN’a, Cihan GÖKÇE’ye ve diğer Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, maddi desteklerinde dolayı TÜBİTAK (110O165) ve Karadeniz Teknik Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi’ne (2009.111.004.2) teşekkür ederim.

Benden hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen, varlıklarıyla güç veren anneme, babama, kardeşime ve zor zamanlarımı kolay eden, her zaman yanımda olan eşim Fırat ESMER’e yaptıkları için teşekkür ederim.

Elif TANYELİ ESMER

Trabzon 2011

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER	III
ÖZET	V
SUMMARY	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ	VIII
SEMBOLLER DİZİNİ	IX
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş	1
1.2. <i>Dendroctonus micans</i> , Dev Soymuk Böceği (K) (Coleoptera: Scolytidae)	5
1.2.1. <i>Dendroctonus micans</i> 'ın Yayılışı	5
1.2.2. <i>Dendroctonus micans</i> 'ın Zararı	6
1.2.3. <i>Dendroctonus micans</i> 'ın Biyolojisi	8
1.2.3.1. Yumurta	8
1.2.3.2. Larva	8
1.2.3.3. Pupa	9
1.2.3.4. Ergin	9
1.2.4. <i>Dendroctonus micans</i> 'ın Yaşam Döngüsü	10
1.2.5. <i>Dendroctonus micans</i> ile Mücadele	11
1.3. Zararlı Böceklerle Mücadele Yöntemleri	13
1.3.1. Biyolojik Mücadele	14
1.3.1.1. Entomopatojenik Funguslar (EPF)	14
1.3.1.1.1 Entomopatojenik Fungusların Sınıflandırılması	15
1.3.1.1.2 Entomopatojenik Fungusların Biyolojileri	15
1.3.1.1.3 Fungal Enfeksiyon	16
1.3.1.1.4 Entomopatojenik Fungusların Etki Şekilleri	18
1.3.1.1.5 Entomopatojenik Fungusların Özgüllüğü ve Konak Seçiciliği	19
1.3.1.1.6 Entomopatojenik Fungusların Dağılımı ve Yayılımı	20
1.3.1.1.7 Entomopatojenik Fungusların Avantaj ve Dezavantajları	22

1.3.1.1.8.	Entomopatojenik Fungusların Mikrobiyal Mücadelede Kullanımı.....	23
1.4.	Tezin Amacı	25
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	26
2.1.	Böcek Örneklerinin Araziden Toplanması ve Laboratuara Getirilmesi.....	26
2.2.	Böceklerden Fungus İzolasyonu	26
2.3.	Fungusların Depolanması.....	27
2.4.	Fungusların Tür Tayinleri.....	27
2.4.1.	Morfolojik Tür Tayini	27
2.4.2.	Moleküler Karakterizasyon	28
2.4.2.1.	DNA İzolasyonu.....	28
2.4.2.2.	rRNA ITS1–5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması.....	29
2.4.2.3.	PCR Ürünlerinin Dizi Analizi	30
2.5.	İzole Edilen Fungusların Patojenite Testleri	30
2.5.1.	Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması.....	30
2.5.2.	<i>Dendroctonus micans</i> 'a Karşı Biyotestler ve Entomopatojenik Fungusların Belirlenmesi.....	30
3.	BULGULAR	33
3.1.	Toplam Fungus İzolasyonu	33
3.2.	İzolatların Morfolojik Tür Tayinleri.....	33
3.3.	İzolatların Moleküler Karakterizasyonları.....	36
3.4.	<i>Dendroctonus micans</i> 'a Karşı Patojenite Testleri	38
4.	TARTIŞMA	41
5.	SONUÇLAR	46
6.	ÖNERİLER	47
7.	KAYNAKLAR	48
8.	EKLER	55

ÖZGEÇMİŞ

ÖZET

Picea orientalis (Doğu Ladini), Doğu Karadeniz Ormanlarının en yaygın ağaç türlerinden biridir. *Dendroctonus micans* ise *P. orientalis* ormanlarında sağlıklı ağaçlara saldıran en önemli kabuk böceğidir. Kimyasal, mekanik ve biyolojik tüm mücadele yöntemlerine rağmen, *D. micans*'ın ladin ormanlarındaki zararı halen etkili bir şekilde devam etmektedir.

Bu çalışmada *D. micans*'a karşı etkili bir fungal etmen tespit etmek amacıyla; zararlının larva ve ergin evrelerinden çeşitli doğal fungus suşları izole edildi ve bunların morfolojik (enfeksiyon şekli, koloni morfolojisi, spor şekli) ve moleküler (ITS1-5.8S-ITS2 gen bölgesi sekansları) karakterizasyonları yapıldı. İzolasyon çalışmaları sonucunda, zararlıdan dört cinse ait 12 fungal suş elde edildi. Bunlar *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare ve Gams (ARSEF 9276 ve ARSEF 9268), *Isaria farinosa* (Holmsk) Fr. (ARSEF 9269, ARSEF 9270, ARSEF 9275, ARSEF 9276, ARSEF 9277 ve ARSEF 9278), *Fusarium* sp. (ARSEF 9273 ve ARSEF 9274), *Beauveria bassiana* Sensus Lato (ARSEF 9271) ve *Beauveria* sp. (ARSEF 9272) olarak tanımlandı. Bu izolatlardan *L. muscarium*, *I. farinosa* ve *Fusarium* sp. *D. micans*'tan ilk kez izole edildi. Ayrıca, izolatların zararlıya karşı virülansları da belirlendi. Spor süspansiyonları 1×10^6 konidia mL^{-1} yoğunlukta hem larva hem de erginlere uygulandı. Larvalara karşı en yüksek ölüm ve mikoz oranı %90 olarak 10 gün içinde ARSEF 9271 (*Beauveria bassiana*)'den elde edildi. ARSEF 9271, erginler üzerinde de %93'lük ölüm ve mikoz etkisi gösterdi. Erginler üzerinde en yüksek ölüm ve mikoz oranı 10 günlük sürede %100 ölüm ve %80 mikoz ile ARSEF 9272 (*Beauveria* sp.) izolatından sağlandı. Bu sonuçlar, ARSEF 9271 ve ARSEF 9272 izolatlarının ileride *D. micans*'a karşı biyopreparat üretimi çalışmaları için oldukça umut verici olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Picea orientalis*, *Dendroctonus micans*, mikrobiyal mücadele, entomopatojenik funguslar

SUMMARY

Isolation and characterization of entomopathogenic fungi from *Dendroctonus micans* and investigation their microbial control potential

Picea orientalis (Oriental spruce) is one of the most common trees in Eastern Black Sea Forests. *Dendroctonus micans* is also the most common bark beetle that attacks healthy trees in the oriental spruce forests. Despite the chemical, mechanical and biological methods, the damage of *D. micans* in the oriental spruce forests is still continues effectively.

In this study, in order to determine an effective fungal agent against *D. micans*; variety natural fungus strains were isolated from larval and adult stages of the pest, and morphological (infection mode, colony morphology, shape of spore) and molecular characterisations of these isolates (ITS1-5.8S-ITS2 gene sequences) were performed. Twelve fungal strains were isolated from pest and these were identified as *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare and Gams (ARSEF 9276 and ARSEF 9268), *Isaria farinosa* (Holmsk) Fr. (ARSEF 9269, ARSEF 9270, ARSEF 9275, ARSEF 9276, ARSEF 9277 and ARSEF 9278), *Fusarium* sp. (ARSEF 9273 and ARSEF 9274), *Beauveria bassiana* Sensu Lato (ARSEF 9271) and *Beauveria* sp. (ARSEF 9272). Among these isolates, *L. muscarium*, *I. farinosa* and *Fusarium* sp. were isolated for the first time from *D. micans*. In addition, virulence of these isolates against this pest was determined. Spore suspensions of 1×10^6 conidia mL⁻¹ were applied to both larvae and adults. The highest mortality and mycosis for larvae were obtained from isolate ARSEF 9271 (*Beauveria bassiana*) with 90% mortality and mycosis within 10 days. ARSEF 9271 also produced 93% mortality and mycosis on adults. On the other hand, the highest mortality and mycosis for adults were obtained with isolate ARSEF 9272 (*Beauveria* sp.), with 100% mortality and 80% mycosis within 10 days. These results indicate that isolates ARSEF 9271 and ARSEF 9272 seem to be the most promising potential fungal biocontrol agents against *D. micans*.

Key Words: *Picea orientalis*, *Dendroctonus micans*, microbial control, entomopathogenic fungi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Hatila Vadisi Milli Parkında hasarlı ladin ağaçlarından bir görünüm	6
Şekil 2. <i>D. micans</i> 'ın ladin gövdelerinde yaptığı zarar	7
Şekil 3. <i>Dendroctonus micans</i> 'ın larvaları	9
Şekil 4. <i>Dendroctonus micans</i> 'ın ergini	10
Şekil 5. Böcek kütikulasındaki fungal enfeksiyon basamaklarının gösterimi.....	17
Şekil 6. Fungal örneklerin 'Scotch tape' tekniğiyle mikroskopik incelenmesi.....	28
Şekil 7. ITS1-5.8S-ITS2 bölgesini çoğaltmak için kullanılan primerlerin pozisyonları.....	29
Şekil 8. <i>D. micans</i> larvalarının patojenite testlerinde kullanılan biyotest düzenekleri ve enfekte olmuş larvalar	31
Şekil 9. <i>D. micans</i> larvalarının patojenite testlerinde kullanılan biyotest düzenekleri ve enfekte olmuş erginler	32
Şekil 10. <i>D. micans</i> 'tan izole edilen fungus cinslerine ait koloni morfolojileri.....	34
Şekil 11. Çeşitli entomopatojenik fungusların mikroskopik yapıları	35
Şekil 12. Entomopatojenik fungus izolatlarının rRNA ITS1-5.8S-ITS2 bölgesinin PCR ile çoğaltılması	37
Şekil 13. İnokülasyondan sonra 10 gün içerisindeki <i>D. micans</i> larvalarının ölüm oranı ve mikoz değerleri.....	39
Şekil 14. İnokülasyondan sonraki 10 gün içerisindeki <i>D. micans</i> erginlerinin ölüm oranı ve mikoz değerleri	40

TABLÖLER DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Entomopatojenik funguslar tarafından üretilen bazı metabolitler.....	18
Tablo 2. Fungus izolatlarının morfolojik tür tayinleri.....	35
Tablo 3. Fungus izolatlarının rRNA ITS1-5.8S-ITS2 dizisine göre tür tayinleri.....	38

SEMBOLLER DİZİNİ

ARSEF	: USDA-ARS entomopatojenik fungus koleksiyonu
bp	: Baz çifti
C	: Derece
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EPF	: Entomopatojenik fungus
ha	: Hektar
I:K	: Işık: karanlık
ITS	: İç transkript spacer
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
NCBI	: Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Enformasyon Merkezi
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PDA	: Patates dekstroza agar
PDAY	: Patates dekstroza agar + maya ekstraktı
PDB	: Patates dekstroza sıvı
pol	: Polimeraz
SPSS	: Sosyal Bilimlerde İstatistik Paketi
USA	: Amerika Birleşik Devletleri
UV	: Ultraviyole
V	: Volt
VIB	: Flandra Biyoteknoloji Enstitüsü
μ	: Mikro
μg	: Mikrogram
μL	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Zararlı böcekler, başta orman alanları olmak üzere, tarla ve bahçe bitkilerinde, seralarda, süs bitkilerinde, koruma altına alınmış bölgelerde yetişen bitki türleri üzerinde, depolanmış ürünlerde, veterinerlik ve tıbbi alanlarda büyük zararlara yol açarlar (Lacey vd., 2001). Özellikle dünya ekosisteminin en önemli unsurlarından biri olan ormanlarda, zararlı böcekler büyük tahribatlara neden olmaktadır. Zararlı böceklerin ormanlarda yol açmış olduğu zararlar, birden bire ortaya çıkmadığı için kamuoyunda orman yangınları kadar göze çarpmamakta ve önemsenmemektedir. Bu zararlı böceklerin tahribatı ancak, olayın salgın halini almasından sonra anlaşılmaktadır. Eldeki literatür bilgileri dünya ormanlarına sadece böceklerin yaptığı zarar toplamının, orman yangınlarının yol açtığı zararın en az 5 katından daha fazla olduğunu göstermektedir (Anonim, 2003).

Ülkemiz ormanlarında önemli zararlara neden olan 50'den fazla zararlı böcek türü yaşamakta ve bunlar, ormanlarda çeşitli ölçülerde ve yoğunlukta tahribatlar yapmaktadır. Bu böceklerden en zararlıları floem, kambiyum ve yakın dokularda yaşayan kabuk böcekleridir (Eroğlu, 1995). Kabuk böcekleri içinde ladinde zarar yapan *Dendroctonus micans* (Dev soymuk böceği) ve *Ips typographus* (Sekiz dişli ladin kabuk böceği) ile ladin ve çamlarda zarar yapan *Ips sexdentatus* (On iki dişli çam kabuk böceği) ülkemizdeki çok önemli 8 kabuk böceği türünün en tehlikeli olanlarıdır. Canlı ağaçlarda zarar yapan bu kabuk böcekleri içinde, diğerlerinden farklı olarak, bireysel saldırı stratejisiyle *Dendroctonus micans* sürekli olarak sağlıklı ağaçlara saldırmakta ve bu özelliğiyle çoğu kez sekonder karakterli olan diğer kabuk böceklerinden ayrılmaktadır. Ladin ağaçlarının kambiyum ve kambiyuma yakın dokularıyla beslenerek ağaçların kısa bir zaman diliminde kurumasına yol açan *D. micans*'la mücadelede, yakın zamana kadar uygulanan mekanik ve kimyasal mücadelenin etkisiz kalması sonucu, biyolojik mücadele uygulamalarına başlanmıştır.

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

mikroorganizmaların kullanılmasıdır (Eilenberg vd., 2001; Lacey ve Goettel., 1995; Demirbağ vd., 2008). Entomopatojen olarak adlandırılan bu mikrobiyal mücadele etmenleri zararlı böceklerde hastalık oluşturarak böcek popülasyonlarının dengede tutulmasını ve zararlarının minimuma indirilmesini sağlarlar. Bu entomopatojenlerin büyük çoğunluğu konağa özel olduğu için yalnızca mücadele yapılmak istenilen organizma üzerinde etkindir. Bu özelliğiyle, faydalı ve predatör böcekler, hayvanlar ve insanlar gibi hedeflenmemiş organizmalar üzerinde herhangi bir risk oluşturmazlar. Bunlar tamamen doğal olmaları sebebiyle ekosistemde herhangi bir kirliliğe yol açmazlar. Bu özellikleri, gelecekte kimyasal insektisitlerin yerini bu biyolojik etmenlerin alacağını göstermektedir.

Böceklerle mücadelede mikrobiyal etmenlerin kullanımı, 1800'lü yıllarda funguslarla başlamıştır (Oğurlu, 2000). Bu etmenlerin böceklerin mücadelelerinde kullanımı, çok eskiye dayanmasına ve genelde olumlu sonuçlar elde edilmesine rağmen, mikrobiyal mücadelenin önemi, 1900'lü yılların ortalarına kadar anlaşılamamış ve fazla gelişmemiştir. Bu tarihten sonra sıklıkla kullanılan kimyasal insektisitlerin zararlı etkilerinin ortaya çıkmasıyla, araştırmalar, böcekler üzerinde patojenik etkiye sahip mikroorganizmaların tespiti ve zararlılara karşı kullanımına yoğunlaşmıştır. Entomopatojenik funguslar mikrobiyal mücadele etmeni olarak 100 yılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır. Genel olarak, birçok böcek takımı fungal hastalıklara karşı duyarlıdır ve entomopatojenik funguslar, zararlı böceklerle karşı mikrobiyal mücadele etmeni olarak iyi bir potansiyele sahiptir (Roberts, 1989). Entomopatojenik funguslar pek çok zararlı böceğin doğal olarak mücadelesinde önemli bir etmen olup, bu organizmalar zararlı böcek popülasyonlarında sık sık geniş yayımlı epizootiklere neden olmaktadır. Pek çok entomopatojenik fungus, direkt olarak böcek kütikulasından enfeksiyon yapmaktadır. Bu nedenle, bunların konak tarafından yenilmelerine gerek yoktur. Bu özellik entomopatojenik fungusları özellikle bitki özsuuyula beslenen böceklerin mücadelesinde öncü aday konumuna getirmektedir. Günümüzde dünya çapında entomopatojenik funguslardan oluşan pek çok ticari preparat bulunmakta ve bunlar çeşitli zararlılarla mücadelede kullanılmaktadır (Goettel vd., 2005).

Entomopatojenik funguslar Doğu Karadeniz Bölgesi'nin iklimsel özelliklerinden dolayı, diğer zararlı böceklerin mücadelesinde iyi bir potansiyele sahiptir. Entomopatojenik funguslar gelişebilmeleri için yüksek nem ve ortalama 25°C sıcaklığa ihtiyaç duymaktadır. Bu durum, Doğu Karadeniz Bölgesi'nin iklimsel özellikleriyle uyumaktadır (Goettel vd., 2005; T.C. Tarım Bakanlığı, 2007).

Entomopatojenik funguslar, memeliler üzerinde herhangi bir toksik etkilerinin bulunmaması, böceklerde direnç oluşturmamaları, biyoteknolojik gelişmelere yönelik yüksek bir potansiyele sahip olmaları, uygulama sonrası çevrede uzun süre kalarak uzun süreli mücadele sağlamaları, konaklarının tüm gelişme fazlarını enfekte etmeleri, genellikle insektisidlerle birlikte sinerjistik hareket etmeleri ve onlarla beraber kullanılabilmeleri ve kitle üretimi problemlerinin üstesinden kolayca gelinmeleri gibi biyolojik mücadelede kullanılmaları açısından birçok önemli avantajlara sahiptir (Wan, 2003; Demirbağ vd., 2008).

Şu ana kadar yapılan tüm mücadele çalışmaları sonucunda kabuk böcekleriyle mücadelede belirli yerlerde bazı başarılar elde edilmiştir. Ancak, yürütülen tüm mücadele çalışmalarına rağmen, zararlı, yayılışını büyük bir hızla devam ettirmektedir. Zararlının küçük bir bölgeden başlayan bulaşmasının tüm Karadeniz Bölgesi ladin ormanlarına yayılması engellenememiştir. Zararlının ladin ormanlarında doğrudan yaptığı zarardan sonra, zayıf düşen ağaçlar, sekonder zararlı diğer kabuk böceklerinin bu ağaçlara saldırmasına da neden olmaktadır. Kabuk böceklerinin sebep olduğu zararlar nedeniyle her yıl on binlerce metreküp ağaç kurumaktadır. Kuruyan ağaçlar, grup ve kümeler halinde kesildiği için ormanlarda büyük açıklıklar meydana gelmektedir. Bu açıklıkların genişliği çoğu kez bir ağaç boyundan daha fazla olduğu için, bu durum sahanın yabanlaşmasına neden olmaktadır. Yabanlaşan sahaların tekrar eski haline dönüştürülebilmesi ise diri örtü ile mücadele, toprak işleme ve fidan dikimi gibi oldukça masraflı çalışmaları gerektirmektedir. Ayrıca, böcek kurutması sonucu yapılan anormal kesimler planlı işletmeciliği amacından uzaklaştırmaktadır (Eroğlu, 1995). Sonuç olarak, gerçek ve acı olan durum, bu zararlının halen etkili bir şekilde yayılmaya ve zararını sürdürmeye devam ettiğidir.

Dendroctonus micans, yukarıda da belirtildiği gibi hem dünya hem de ülkemiz ladin ormanları açısından büyük bir sorun olarak karşımızda durmaktadır. Bu zararlının Avrasya ladin ormanlarındaki mevcut zarar durumu ve potansiyel tehdit konumu, yürütülmekte olan değişik önlemlere ve mücadele yöntemlerine rağmen, çok önemli bir problem olarak ortada durmaktadır. Mevcut uygulamaların bu soruna yeterli bir çözüm sağlayamamış olması, ilave yeni çözüm yollarının da ortaya konulmasını gerektirmektedir. Bu noktada, zararlıyla mücadelede yeni yaklaşım ve entegre yöntemlerin geliştirilmesi ve uygulanması artık kaçınılmaz. Bahsedilen yeni açılımlarla, *Dendroctonus micans* ile mücadelede henüz yeterince araştırılmamış ve uygulanabilirliği henüz denenmemiş olan, bu zararlıya ait bir

veya birden çok entomopatojenden geliştirilmiş bir preparatın kullanılma potansiyelinin test edilmesini gerektirmektedir. Bilindiği gibi dünyada böceklerden izole edilen virüs, bakteri, fungus, nematod ve protozoonları kapsayan çeşitli preparatlar zararlıların mikrobiyal mücadelesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Boucias ve Pendland, 1998; Demirbağ vd., 2008).

Yılmaz (2004) ve Yılmaz vd. 2006 çalışmalarında *D. micans*'ın bakteriyal florasını belirlediler. Ancak, belirlenen bakteriyal izolatların böceğe yedirilmesi bir türlü başarılamadı. Dolayısıyla, izolatların *D. micans* üzerindeki patojeniteleri tespit edilemedi. Bu durum, etmenin böcek tarafından besinle alınması gerektiğinden, kabuk böceklerinin mücadelesinde diğer mikrobiyal etmenlerin kullanılabileceği alternatif yöntemlerin geliştirilmesi zorunluluğunu ortaya koymaktadır. *D. micans*'ın biyolojisi ve Doğu Karadeniz Bölgesi'nin iklimsel koşulları dikkate alındığında, bu zararlıyla mücadelede en etkili mikrobiyal yöntemin entomopatojenik funguslara ait bir preparatla yapılabileceği düşüncesini doğurmaktadır. Ayrıca, zararlıyla halen yürütülmekte olan mücadele programlarıyla birlikte, entegre mücadele şeklinde de entomopatojenik fungusların kullanılabileceği kuvvet kazanmaktadır. Diğer patojenlerin aksine, fungal preparatların böcek tarafından besinle yenilmesine gerek yoktur. Zaten bu, yukarıda da belirtildiği gibi zordur. Çünkü, böcek sadece kabuk altında beslenmektedir. Bakteriyal bir etmenin kabuk altına ulaştırılması da oldukça zordur. Fungal etmenlerin böcek galerilerine ulaştırılmasında ergin böceklerin kullanılma potansiyellerinin yüksek olması, bu etmenlerin kabuk zararlılarına karşı kullanılma potansiyellerini arttırmaktadır. Karadeniz Bölgesinin nem ve sıcaklık değerleri fungal sporların çimlenmesi ve fungal preparatların doğada devamlılıklarının sağlanması açısından yeterli görülmektedir. Aynı zamanda, fungal etmenin bu bölgeden izole edilmiş lokal bir preparat olması, bölgeye yabancı olmayan, doğal ve çevrede uzun süre kalabilen etkili bir etmenin kullanılmasını sağlayacaktır. Bu durumlar göz önünde bulundurularak, yapılan bir çalışmada Sevim (2010) ve Sevim vd. (2010) *Beauveria cf. bassiana*'nın *D. micans*'a karşı iyi bir mücadele etmeni olabileceğini belirlemiştir. Entomopatojenik fungusların *D. micans*'a karşı biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

Belirtilen hususlar doğrultusunda, bugüne kadar yeterince önem verilmemiş olan, ladin ormanlarımızın en büyük zararlısı *Dendroctonus micans* ile mücadele etmek amacıyla bu zararlıdan entomopatojenik fungusların izolasyonu, elde edilen izolatların morfolojik ve moleküler yöntemlerle identifikasyonu ve bunların zararlıya karşı

mikrobiyal mücadele materyali olarak kullanılabilme potansiyellerinin araştırılması planlanmıştır.

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

1.2.1. *Dendroctonus micans*'ın Yayılışı

Dünyada bilinen 50 ladin türünden biri olan Avrasya Ladini, *Picea orientalis* (L.) Link., doğal olarak Doğu Karadeniz ve Kafkas dağlarında yayılmıştır. Toplam alanı 297.396 ha olan ladin ormanlarımız (Konukçu, 2001), sırasıyla 1960 ve 1980'li yıllardan bu yana, Avrasya ladin ormanlarının en tehlikeli kabuk böcekleri olan *Dendroctonus micans* (Kug.) (Ladin dev soymuk böceği), *Ips sexdentatus* (Boern.) (Oniki dişli kabuk böceği) ve *Ips typographus* (L.) (Sekiz dişli kabuk böceği)'un çok ciddi tehdidi altına girmiştir. Dev Soymuk Böceği, *Dendroctonus micans*, Coleoptera takımına ait Scolytidae (Kabuk Böcekleri) familyasının en büyük böceğidir. *Dendroctonus* cinsi dünya üzerinde 20 türle temsil edilir. Bu türlerden iki tanesi Asya ve Avrupa konifer ormanlarında yaşar. Bu iki türden biri olan *Dendroctonus armandi* Tsai ve Li Çin'de endemiktir. Avrasya ormanlarında yayılış gösteren diğer bir tür olan *Dendroctonus micans* ise ilk kez 1794 yılında *Picea abies* üzerinde keşfedilmiştir (Brichet ve Severin, 1903). Fakat, yıkıcı etkisi ancak 1852 yılında fark edilmiştir (Fielding ve Evans, 1997). Kuzey Avrasya kökenli *D. micans*'ın yayılışı, yaklaşık son 100 yıldır düzenli olarak genişlemektedir. Doğuda Sakhalin Adası ve Kuzey Japonya'dan Kuzey ve Batı Avrupa'ya kadar uzanan alanda varlığını güçlü ve etkili bir şekilde sürdürmektedir. Belirtilen coğrafyada, ladinin yetiştiği tüm alanlarda bulunmaktadır. Almanya, Avusturya, Belçika, Bulgaristan, Çek Cumhuriyeti, Çin, Danimarka, Estonya, Finlandiya, Fransa, Gürcistan, İngiltere, İsveç, İsviçre, İtalya, İzlanda, Hollanda, Japonya, Kafkasya, Kazakistan, Kore, Kuzey Amerika, Litvanya, Lüksembourg, Macaristan, Norveç, Polonya, Romanya, Sibiry, Türkiye ve Yugoslavya'da varlığı tespit edilmiştir. Fransa, Gürcistan, Türkiye ve İngiltere'de yakın tarihlerde ulaştığı bölgelerde halen şiddetli zararını sürdürmektedir (Khobakhidze, 1965; Alkan, 1985; Fielding ve Evans, 1997). Ülkemizde tespit edildiği 1966 yılından (Acatay, 1968) bu yana ladin ormanlarımızın hemen tamamına yayılmıştır. Şekil 1, *D. micans*'ın ülkemiz ladin ormanlarında yaptığı zararın sadece çok küçük bir bölümünü göstermektedir. Doğu Karadeniz Bölgesi'nde ladin ormanlarının hemen tamamında bu görüntüler

kesintisiz bir şekilde tekrarlanmaktadır. Bu durum, bölgede, ormanlardan beklenenin daha ötesinde bir işlev üstlenmiş olan ladin ormanlarının büyük bir hızla yok olma tehlikesi ile karşı karşıya olduğunu göstermektedir. Ladin ormanlarında *D. micans*, *I. sexdentatus* ve *I. typographus*'un oluşturduğu yıkımlar, böcek zararlarının ortaya koyduğu tehdidin, orman yangınlarına göre ne kadar ileri boyutlarda olduğunu anlaşılmaması bakımından da oldukça etkili bir örnek olmaktadır.



Şekil 1. Hatila Vadisi Milli Parkında hasarlı ladin ağaçlarından bir görünüm (Fotoğraflar, 2008 yılında, arazi çalışmaları sırasında Doç. Dr. İsmail DEMİR tarafından çekilmiştir).

1.2.2. *Dendroctonus micans*'ın Zararı

D. micans'ın Türkiye'deki varlığı ilk olarak 1966 yılında Posof Ormanlarında ortaya çıkmıştır. Ardından 1971 yılında Şavşat Ormanlarında tespit edilmiştir. Artvin'de 1972-1985 yıllarında en az 8.000.000 adet ladin ağacını kuruttuğu hesaplanmıştır. Eroğlu (1995), *D. micans*'ın Artvin ve Giresun ormanlarında ağaçların %36'sına zarar verdiği ve bunların %25'inde zararını sürdürdüğünü tespit edilmiştir. Günümüze bu zararlının birikimli olarak

ladinlerin %39'una zarar verdiği belirlenmiştir (Özcan vd., 2006). *D. micans*'ın zararı nedeniyle, 1994-2006 yıllarında Trabzon Orman Bölge Müdürlüğü ladin ormanlarında 101.671 m³, 1999-2008 yıllarında Maçka Orman İşletmesi ladin ormanlarında 85.000 m³, 1986-2001 yıllarında Giresun Orman Bölge Müdürlüğü ladin ormanlarında 210.000 m³ ladin ağacı kurumıştır. Avrasya'daki yayılış alanı içinde *Picea*, *Abies*, *Pinus* cinslerine ait çeşitli türlerinde de zarar yaptığı tespit edilen *D. micans*, ülkemizde Avrasya ladini (*Picea orientalis*)'ni tercih etmektedir. Bulaştığı ağaçların floem ve kambiyum katmanlarını tüketerek öldürmekte; floem ve kambiyum alanlarının zarar görme derecesine göre ağaçlar ya ölmekte ya da diğer kabuk böceklerinin kolaylıkla üreyebileceği uygun kuluçka ortamlarına sahip olmaktadır (Şekil 2).



Şekil 2. *D. micans*'ın ladin gövdelerinde yaptığı zarar (Fotoğraflar, Trabzon ve Gümüşhane illeri arasında bulunan Zigana Dağı'nın Trabzon ili sınırları içerisinde kalan ladin ormanlarında Doç. Dr. İsmail DEMİR tarafından çekilmiştir).

Dendroctonus micans erginleri, konukçu olduğu ağaçların kabukları üzerinde bir giriş deliği açarak kabuk altına girer. Kabuk ve kambiyum arasında kalan proteince zengin olan bölgede gelişerek galeriler açar. Birkaç galerinin bir araya gelmesi sonucu ağaç büyük ölçüde yaralanır ve kurur. *Dendroctonus micans* öncelikle sekonder zararlıdır ve ilk etapta yaralı, budanmış veya zayıf düşmüş ağaçları tercih eder. Fırtına ve taban suyu eksikliği gibi sebeplerden dolayı güçsüz düşen ağaçlarda kitle halinde üreyerek çok ciddi fizyolojik

zararlara yol açar. Böcek popülasyonunun yüksek olduğu alanlarda sağlıklı ağaçlara da giderek primer zararlı konumuna geçer (Selmi, 1998). Yayılış alanında bulunan ince çaplı ağaçları (8 cm), bir *Dendroctonus micans* yuvası bir yılda kurutabildiği gibi, kalın çaplı ağaçları (100 cm), yuva sayısına göre zayıf düşürmekte ve üç yıl gibi kısa bir sürede kurutmaktadır (Keskinalemdar, 1986). Bu şekilde zayıf düşmüş veya kurumuş ağaçlar, sekonder zararlı konumunda olan başka böceklerin de istilasına uğramaktadır. Bu tarz bir zarara maruz kalan ladin ağaçları endüstrinin bir çok dalında kullanılan değerli bir meta iken, ancak yakacak olarak değerlendirilebilir duruma gelmektedir.

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

1.2.3. *Dendroctonus micans*'ın Biyolojisi

1.2.3.1. Yumurta

Dendroctonus micans'ın kirli beyazımsı açık renkli, oval veya bir tarafı az sivrice olan yumurtaları olgunlaşmamış haşhaş tohumunu andırır. Boyları 1095-1125 μm ve enleri ise 622-655 μm arasında değişmektedir.

1.2.3.2. Larva

Beyaz renkte, ayaksız ve gözsüz olan larvaların boyları 10-13 mm arasındadır. Vücutları 3 göğüs ve 9 karın segmenti olmak üzere 12 halkadan ibarettir. Larvaların üzerinde çeşitli bölgelerde görülebilen uzun kıllar vardır (Şekil 3).



Şekil 3. *Dendroctonus micans*'ın larvaları (URL-1).

1.2.3.3. Pupa

Beş evre geçiren olgunlaşmış *D. micans* larvaları kabuk altında biriken ögüntülerin altında ve diri oduna hafifçe dokunmuş olarak hazırladıkları pupa beşiklerinde pupaya yatarlar. Beyaz renkli olan pupalar ergine benzer.

1.2.3.4. Ergin

Avrasya'da yaşayan kabuk böceklerinin en büyüğü olan *D. micans*'ın erginleri 5,5-9 mm uzunluğunda, 2,2-2,5 mm enindedir. Koyu kahverengi veya siyahımsıdır. Genç erginlerin üzerinde grimsi sarı renkte kıllar vardır. Vücutları silindirimsi bir yapıda olan erginlerin öne doğru daralan boyun kalkanlarının eni boyundan fazladır. Antenlerin sapı ile topuzu arası beş parça olup, ikinci parça daha uzundur. Anten topuzu yassı ve dört parçadan oluşmuştur. Topuzun birinci parçası diğer üç parçanın uzunluğu kadardır (Şekil 4).



Şekil 4. *Dendroctonus micans*'ın ergini (URL-2).

1.2.4. *Dendroctonus micans*'ın Yaşam Döngüsü

Scolytidae familyasına ait türlerin en büyüğü olan *Dendroctonus micans*, çoğu diğer scolytid türlerinden farklı karakteristik bir hayat döngüsüne sahiptir (Fielding ve Evans, 1997). *Dendroctonus micans*'ın genç erginleri kabuk altında floem tabakasını yiyerek 30 gün içinde olgunluk yiyimini tamamlar. Çiftleşme ergin böcekler tamamen kitinleşmeden önce, dişilerin kardeş erkekler tarafından döllenmesiyle kabuk altında gerçekleşir (Insectuous çiftleşme). Dişilerin aynı yumurta galerisinden çıkan erkekler tarafından döllenmesi, popülasyondaki erkeklerin sayısının dişilerden daha az olmasını açıklar (Genellikle 1:10, bazı durumlarda 1:45'e kadar düşebilir). Dişilerin çiftleşmeden önce erkekleri cezbetmesi gerekmez. Bu nedenle ergin aggregasyon feromonu yoktur. Döllenmiş dişiler kabukta bir çıkış deliği açarak, yeni ağaçlara ya da bulundukları ağaçların farklı kısımlarına saldırır. Eğer koşullar uçuş için elverişli değilse, ergin dişiler kabuk altında uzun süre kalabilir (Fielding ve Evans, 1997).

Uçuş, mayıs ve eylül ayları arasında, coğrafi farklılıklara bağlı olarak 18-23°C arasında gerçekleşir (Vouland vd., 1985; Fielding ve Evans, 1997). Uçuş, sadece çok sıcak yazlarda olmasına ve ender gerçekleşmesine rağmen, türün doğal yayılışı ve karasal dağılımı açısından önemlidir. Yalnız dişiler uçar ve konukçu ağaçları aramaya başlar. Dişi ergin, konukçu ağacı bulduğunda kabuğu delmesi 5-7 gün sürebilir. Giriş deliğinde ağaçların oldukça kuvvetli reçine salgılamalarına rağmen, çoğu kez böcek kambiyuma

girmeyi başarır. Kabuğa girişi sırasında salgılanan reçineleri arka bacaklarıyla dışarıya doğru atarak öğüntüyle karışık bir reçine hunisi oluşturur. Bu huninin ortasındaki giriş deliği biraz yukarıya dönüktür. Düşmanların girişini engellemek için giriş deliği çoğu kez öğüntüyle kapatılır. Bu nedenle, böceğin konak ağaca girdiği ilk dönemlerde predatörlerle ilişkisi oldukça azdır (Yüksel, 1997).

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

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

Kışı, her yaşam evresinde 50 cm'ye kadar toprağın içinde veya ağacın kök boğazına yakın olan kısımlarında geçirir. Uçma zamanı, yumurta döneminde kışlaması halinde Eylül, larva döneminde kışlaması halinde ise temmuz ve ağustos, pupa döneminde kışlaması halinde de mayıs ve haziran başı olarak tespit edilmiştir. Özellikle mayıs ve ekim ayları arasında herhangi bir günde, konak ağaçta yumurta, larva, pupa ve ergin evrelerinde görülmeleri mümkündür (Fielding ve Evans, 1997). Yılda bir döl verir.

D. micans'ın hayat döngüsü, yayıldığı coğrafya, iklim koşulları ve yüksekliğe göre büyük bir çeşitlilik gösterir. Gözlemler *D. micans*'ın hayat döngüsünü 1-3 yılda tamamladığını göstermektedir (Lempériéré, 1994; Fielding ve Evans, 1997).

1.2.5. *Dendroctonus micans* ile Mücadele

D. micans ülkemizde ilk defa 1966 yılında Ardahan Orman İşletmesi, Posof Ormanlarında görülmüştür. İlk yıllarda (1966-1970 yılları arası) zararlıyla yapılan

mücadele kesilen ağaçların kabuklarının soyularak yakılması şeklinde gerçekleştirildi. Bu mücadele yöntemiyle yeterince başarı sağlanamayınca, 1970 yılında böcekli ağaçların gövdelerinin kimyasal maddelerle ilaçlanması şeklindeki kimyasal mücadele çalışmaları başlatılmış ancak, bu yöntemde de herhangi bir başarı sağlanamamıştır. Ayrıca, tamamen kimyasal kökenli ilaçların doğaya verilmesi şeklinde olan bu mücadele yöntemi, hem çok pahalı olmuş hem de ormanlara verilen kimyasallar bu zararlının mücadelesi için yeterince uygun olmadığı gibi, pek çok yararlı böcek ve diğer canlıları (parazitoid ve predatör böcekleri, bal arılarını ve kuşları) da öldürmüş ve büyük bir çevre kirliliğine yol açmıştır.

D. micans ile yapılan en etkili mücadele yöntemlerinden biri de *Rhizophagus grandis* (Gyll.) (Coleoptera: Rhizophagidae) adlı kınkanatlı bir predatör (yırtıcı = avcı) böceğin inektaryumlarda (laboratuar) üretilerek, zararlı böceğin yoğun olduğu sahalardaki bulaşık ağaçlara verilmesiyle yapılan biyolojik mücadeledir (King vd., 1991). Bu yöntem, komşu ülke Gürcistan'da 1963 yılında büyük boyutlu bir biyolojik mücadele programıyla uygulamaya konulmuştur (Khobakhidze, 1965; Khobakhidze vd., 1970). Daha sonra aynı yöntem 1983 yılında İngiltere ve Fransa'da uygulandı (Gregoire vd., 1984; Gregoire vd., 1989). Son olarak da 1984 yılında ülkemizde uygulanmaya başlandı (Alkan ve Aksu, 1990; Fielding vd., 1991a; Eroğlu, 1995; Eroğlu, 1997). Artvin, Trabzon ve Giresun Orman Bölge Müdürlükleri başta olmak üzere çeşitli bölge müdürlükleri bünyesinde yapılan çalışmalar sunucunda üretilen 8.000.000 adetten fazla *R. grandis* böcekli ladin ağaçlarına verildi (Eroğlu vd., 2010). *R. grandis*'in laboratuarda üretilmesi, predatörün ormandaki zararlı yuvalarına verilmesinin çok zahmetli bir çalışma olması ve büyük ölçüde insan gücü ve maliyet gerektirmesi, bu uygulamanın dezavantajlarını oluşturmaktadır. Üretim esnasında zaman zaman çeşitli sebeplerden dolayı çok sayıda *R. grandis* larva ve erginin ölümü meydana gelmekte, bu da maliyeti arttırmakta ve mücadelenin başarı şansını azaltmaktadır.

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

fungusların zararlıının mücadelesinde alternatif yöntemlerin birisi olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

1.3. Zararlı Böceklerle Mücadele Yöntemleri

Doğada yararlı ve zararlı olarak tanımlanan çeşitli böcek türleri bulunmaktadır. Doğaya ve insana zararlı olan çok az sayıda böcek türü bulunmasına rağmen, özellikle bu zararlı böcek türleri tarım alanlarında büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Hızlı nüfus artışı ile birlikte tarım alanlarında meydana gelen ürün kayıpları ülkemizi her geçen gün dışa bağımlı hale getirmektedir. Zararlı böcek türlerinin oluşturduğu zarar nedeniyle Türkiye birçok ülkeden tarım ürünleri ithal etmektedir.

Zararlı böcekler ile mücadele, kitle üremesi yapan veya yapma yeteneğinde olan böcek popülasyonlarının sayısının artmasını engellemek için gerçekleştirilen çalışmalar olarak bilinir. Tarımda ve ormancılıkta uygulanan çeşitli zirai mücadele yöntemleri bulunmaktadır (Demirbağ vd., 2008; Eilenberg vd., 2001). Bu mücadele yöntemlerini çeşitli gruplara ayırmak mümkündür.

- Doğal mücadele: İnsanın herhangi bir yardımı olmadan doğal kuvvetlerle böcek popülasyonlarının kontrol altında tutulmasıdır. Çevre direncinin bir sonucu olarak böceklerin önemli bir kısmı ya çoğalmadan ya da çoğaldıktan sonra ölürler.

- Yasal mücadele: Yasal yollardan yararlanarak, zararlıların yayılmasını önlemektir. Karantina, ambargo, muayene ve sertifika uygulamak bunların başında gelir.

- Mekanik mücadele: Böcekleri çeşitli yöntemlerle toplamak, pusuya düşürmek, yem tuzakları kurmak, feromonlar kullanmak, tuzak odunları hazırlamak veya gıda değişimi yapmak sureti ile yapılan mücadele şeklidir.

- Fiziksel mücadele: Sıcaklık ve nemden yararlanarak böceklerin öldürülmesi, elektrik veya radyoaktivite kullanarak böceklerin kısırlaştırılması işlemlerini içeren mücadele yöntemidir.

- Kültürel mücadele: Toprak bakımı, işlenmesi ve gübrenmesi, yabancı ot ve atıkların temizlenmesi ve bitki nöbetleşmesi gibi toprakla ilgili yapılması gereken işleri kapsar.

- Kimyasal mücadele: Çeşitli kimyasal maddelerin toz veya sulu halde kullanılması sureti ile yapılan mücadeledir. Ülkemizde çok yaygın olmasına rağmen, çevreye verdiği olumsuz etkilerden dolayı günümüzde, gelişmiş ülkelerde yavaş yavaş bu yöntemden

vazgeçilmektedir. Bu mücadele ülkemiz fındık bahçelerinde en çok kullanılan mücadele yöntemidir. Bu mücadele uygulanırken, birçok yan etkileri ortaya çıkmaktadır ve bu yüzden birçok canlı grubu zarar görmektedir.

- Biyolojik mücadele: Zararlı böcek popülasyonlarının dolayısıyla böceklerin zararını azaltmak için canlı organizmalardan (mikroorganizmalar, predatörler, parazitoid böcekler, omurgasızlar, omurgalılar, feromonlar, böcek büyüme düzenleyicileri, bitkisel maddeler ve genetik kontroller) faydalanılarak yapılan ekonomik, güvenilir ve başarılı bir mücadele yöntemidir.

1.3.1. Biyolojik Mücadele

Biyolojik mücadele, bir zararlı organizmanın popülasyon yoğunluğunu veya etkisini olabileceğinden daha aza indirmek ve daha zararsız hale getirmek için canlı organizmaların kullanılmasıdır (Eilenberg vd., 2001). Biyolojik mücadelenin ilk uygulama dönemleri çok eski tarihlere dayanmaktadır. Asya’da avcı karıncalardan bu hususta yararlanıldığı ve M.S. 900-1200 yılları arasında narenciye zararlılarına karşı kullanıldığı bilinmektedir. Bunlara ilave olarak, 1200’lü yıllarda Yemen’de palmiye ağaçlarındaki zararlılara karşı karıncaların kullanıldığı ve Arabistan’da her yıl dağlardan getirilen avcı karınca kolonilerinin, hurma ağaçlarında zarar yapan bir diğer karınca türüne karşı kullanıldığı kayıtlıdır (Çanakçıoğlu, 1998).

Biyolojik mücadelede kullanılan organizmalar büyük bir çeşitlilik göstermektedir. Bunlar, akarlar, örümcekler, diğer çeşitli avcı ve parazitoid böcek türleri, kuşlar, memeliler, kertenkeleler, amfibiler, sürüngenler, balıklar ve patojen organizmalardır.

Mikrobiyal mücadele ise biyolojik mücadele de zararlı böceklerle karşı etmen olarak nematod, fungus, virüs, bakteri ve protozoa gibi mikroorganizmaların kullanılmasıdır (Eilenberg vd., 2001; Lacey ve Goettel, 1995).

1.3.1.1. Entomopatojenik Funguslar (EPF)

Entomopatojenik funguslar, fungusların çeşitli şekillerde böceklerle ve diğer artropodlarla birlikte hareket eden genuslarını ihtiva eder. Bunlar, böcek konaklarıyla saprofitik, kommensalistik, parazitlik veya patojenik ilişkiler kurabilir. Entomopatojenik funguslar böcek popülasyonlarının düzenlenmesinde önemli role sahiptir. Beş farklı sınıf

içerisinde farklı bir diziliş göstermekte olan entomopatojenik funguslar spesifik böcek türlerini enfekte eden zorunlu patojenler, pek çok böcek türünü enfekte edebilen genel patojenler ve fakültatif patojenler olarak gruplandırılabilir. Fungal epizootikler bazı böcek türlerinde yaygın olmasına rağmen, bazı böcek türlerinde ise nadir görülür (Goettel vd., 2005). Entomopatojen funguslara olan ilgi çok eski dönemlere dayanır. Lepidoptera larvalarını enfekte eden *Cordyceps* ilk olarak eski Çin’de belirlenmiştir. Funguslar tarihi süreçte Mısır, Roma, Yunan, Çin gibi eski medeniyetlerde tıbbi ve beslenme amaçlı kullanılmıştır. Şimdilerde ise entomopatojenik funguslardan tıbbi bileşikler izole edilip kullanılmaktadır (Butt vd., 2001).

1.3.1.1.1. Entomopatojenik Fungusların Sınıflandırılması

Fungi alemi içerisinde 700’den fazla entomopatojenik fungus yer almaktadır. Bunlardan pekçoğu Ascomycota ve Zygomycota bölümleri içerisinde bulunmaktadır. Ascomycota içerisinde ise pek çok tür Hypocreales, Zygomycota ve Entomophthoralean takımları içerisinde yer almaktadır (Roy vd., 2006). Entomopatojenik fungusların sistematik pozisyonlarına dayanarak ortaya çıkarılan gruplandırmada entomopatojenik veya entomoparazitik funguslar Blastocladiomycota (*Coelomyces* spp, *Coelomycidium simulii*), Entomophthoromycotina, Kickxellomycotina (Harpellales ve Asellariales), Eurotiomycetes (Ascosphaera ve diğer cinsler), Laboulbeniomycetes (ektoparazitik ascomycetes), Dothideomycetes (Myriangium), Sordariomycetes (çoğunlukal Hypocreales içerisinde) ve Pucciniomycetes (Septobasidium ve akrabaları) grupları içerisinde yer aldığını söylemek mümkündür (Humber, 2008).

1.3.1.1.2. Entomopatojenik Fungusların Biyolojileri

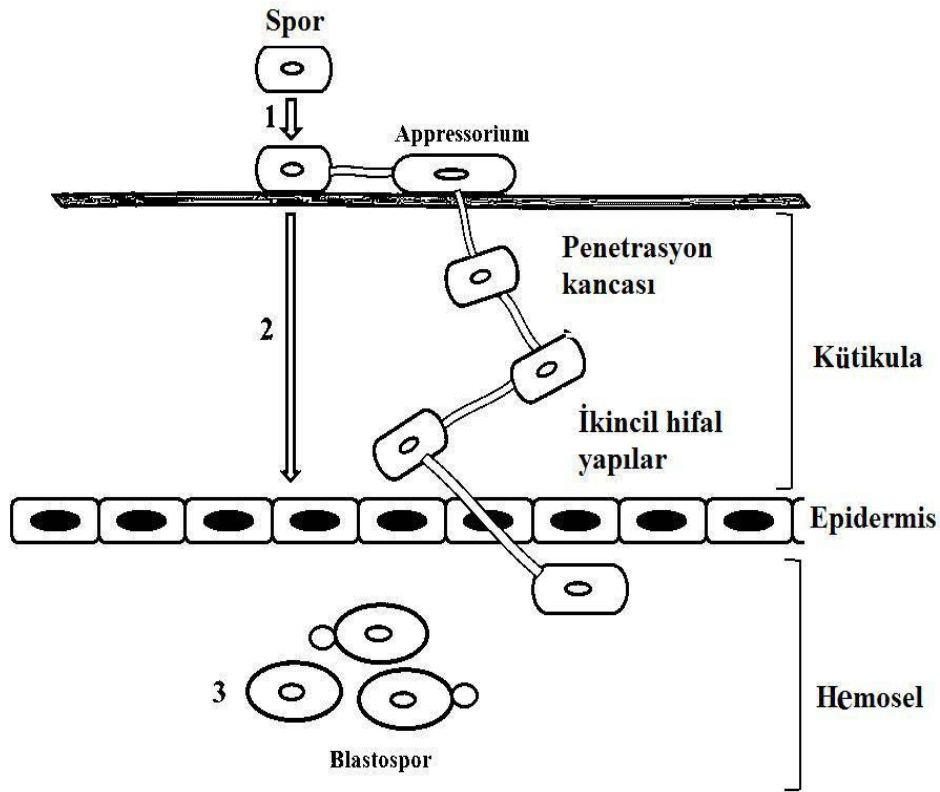
Entomopatojenik fungusların yaşam döngüleri çoğunlukla konaklarının gelişme safhalarıyla eş zamanlı olarak gerçekleşmektedir (Shah ve Pell, 2003). Fakat, pek çok entomopatojenik fungus, hayat döngülerinde birçok benzerliğe sahiptir (Roy vd., 2006). Bakteri ve virüslerden farklı olarak, funguslar konaklarını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

mikrobiyal mücadelesinde entomopatojenik funguslara önemli avantajlar sağlamaktadır (Lacey ve Goettel, 1995). Entomopatojenik fungusların yaşam döngülerinde ilk olarak fungus enfektif bir spor üretilir ve bu spor konağın kütikulasına tutunarak penetre olur. Penetrasyondan sonra spor çimlenerek germ tüpünü oluşturur ve bunu takiben appressorium oluşumu meydana gelir. Bu penetrasyon işlemi sıklıkla integümentin enfeksiyon bölgelerinde melanizasyon reaksiyonuna yol açmaktadır (Ferron, 1978). Melanizasyon sıklıkla geç olur veya yeterli büyüklükte olur. Bu da patojenin yavaş büyümesini veya gücünü durdurmasına yardımcı olur (Hajek ve Leger, 1994). Bundan sonra, fungus konağın hemoseline ulaşarak konağı istila eder ve konağı toksin üretimi veya çoğalma gibi nedenlerle öldürür. Uygun koşullar altında böceğin ölümünden sonra, fungus konaktan dışarı doğru sporlaşmaya başlar ve bu sporlaşma ya da konidiyogenezis kadavranın dış yüzeyinde meydana gelir (Goettel vd., 2005; Shah ve Pell, 2003). Alternatif olarak, fungus primer konağın olmadığı zamanlarda taksonomik olarak birinci derecede ilişkili bir başka konağı enfekte edebilir. Benzer olarak, alternatif konağın enfeksiyonundan sonra konak ölür ve üretilen sporlar primer ilişkili diğer bireyleri enfekte edebilir. Bunun haricinde, enfeksiyon için uygun olmayan çevresel koşullarda, fungus, bu koşullara dayanıklı dinlenme yapılarını (resting spores) oluşturur. Bu yapı çevrede konak olmadığı zaman uzun bir süre varlığını sürdürebilmektedir. Dinlenme yapılarının kendisi enfektif özelliğe sahip değildir. Fakat, yeniden enfektif spor oluşturabilir. Sporlaşmadan sonra çevreye yayılan sporlar başka konakları enfekte eder. Normal olarak bu yaşam döngüsünün pek çok istisnaları bulunmaktadır. Fakat, önemli olan çevresel faktörlerin fungusun üremesi ve hayatta kalması için son derece önemli olmasıdır. (Goettel vd., 2005).

1.3.1.1.3. Fungal Enfeksiyon

Entomopatojenik funguslar diğer böcek patojenlerinden farklı olarak konağın integümentinden enfeksiyon yapabilir. Bu nedenle, konak tarafından yenilme gerekli değildir ve böylece enfeksiyon, çiğneyici ağız yapısına sahip böcekler ile sınırlı kalmaz (Fuxa, 1987). Genellikle eşeysiz olarak üreyen sporlar enfeksiyondan sorumludur ve enfeksiyondaki başlangıç aşaması pasif veya spesifik olmayan tutunmadır (Castrillo vd., 2005; Shah ve Pell, 2003). Bu adım böceğin kütikulasına temas için birçok farklı yol içermektedir. Örneğin, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* ve *Nomurae rileyi* durumunda, tutunma işlemi sporlarda yer alan iyi organize olmuş fasikül rodletler ve böcek kütikulası arasındaki hidrofobik ilişkinin sonucu olarak meydana gelir. Sucul ortamlarda

yaşayan entomopatojenik funguslarda ise tutunma işlemi zoosporların kese oluşturmaları ile takip edilir (Castrillo vd., 2005). Tutunma işlemini takiben, sporlar konağın çeşitli bariyerlerinin üstesinden gelmek amacıyla fungusa yardımcı olan appressorium yapısını oluşturmak için çimlenmeye başlar (Hajek ve Leger, 1994). Bundan sonra, çimlenmiş spor, kütikulanın içerisine penetre olur. Penetrasyon safhasında, proteaz, kitinaz ve lipaz gibi kütikulayı parçalayan bazı enzimler konağa girişte önemli rol oynamaktadır (Clarkson ve Chamley, 1996). Penetrasyonu takiben, hemoselin içerisindeki filamentöz fungus yapıları maya benzeri hifal yapılara veya protoplastlara (blastospor) geçiş yapar. Bu yapılar hemolenf içerisinde dolaşırlar ve tomurcuklanma ile çoğalırlar. Daha sonra tekrar filamentöz yapılara geçiş yapılarak fungus iç dokuları ve organları istila eder ve sonunda böcek ölür (Castrillo vd., 2005). Son olarak fungus, ölü böcek üzerinde sporlaşır ve yeni oluşmuş sporlar başka bir konağı enfekte edebilir. Uygun koşullar altında, bu durum aynı şekilde devam eder. Fungal enfeksiyon işleminin ayrıntılı şeması Şekil 5’de verilmiştir.



Şekil 5. Böcek kütikulasındaki fungal enfeksiyon basamakları. 1. Böcek kütikulası ve spor arasındaki fiziksel temastan sonra fungusun konağı tanıması spor çimlenmesini ve appressorium oluşumunu başlatır. 2. Penetrasyon kancası ve çeşitli hifal yapılar kütikulayı ve epidermisi geçer. 3. Fungusun hemosele girmesinden sonra blastospor oluşumu başlar ve fungus konağı istila eder

1.3.1.1.4. Entomopatojenik Fungusların Etki Şekilleri

Entomopatojenik funguslar, farklı metabolitler üreterek konaklarını birçok farklı şekilde etkiler ve öldürürler (Zimmermann, 2007b). Kimyasal olarak farklı toksik metabolitler *Beauveria*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Metarhizium*, *Paecilomyces* ve *Verticillium* gibi biyolojik mücadele etmenlerinde tanımlanmıştır. Bu metabolitlerden bazılarının önemli patojenite etmenleri olduğu bilinmektedir (Strasser vd., 2000). Şimdiye kadar birçok araştırmacı *Beauveria* spp. ve *M. anisopliae* tarafından üretilen metabolitler üzerine odaklanmıştır. Çünkü, bu iki fungus en önemli mikrobiyal mücadele etmenleridir. Entomopatojenik funguslar tarafından üretilen bazı metabolitler Tablo 1’de verilmiştir (Zimmermann, 2007a; Zimmermann, 2007b; Strasser vd., 2000).

Tablo 1. Entomopatojenik funguslar tarafından üretilen bazı metabolitler

Fungus	Metabolitler
<i>Beauveria bassiana</i>	Beauverisin, bassianin, bassianolide, beauverolidler, tenellin, oosporein, oksalik asit, bassiakridin
<i>Beauveria brongniartii</i>	Oosporin
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Destruksinler (28 tip), swainsonie, sitokalsin C
<i>Metarhizium</i> sp.	Hidroksifungerin A ve B
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Beauvericin, beauverolidler
<i>Verticillium lecanii</i>	Dipicolonik asit, hidroksikarboksilik asit, siklosporin
<i>Hirsutella thompsonii</i>	Hirsutellin A, hirsutellin B, fomalakton

Beauveria spp. beauverisin, bassianin, bassianolide, oosporin, destruksin B gibi *in vivo* ve *in vitro* ortamda pek çok toksik bileşik üretmektedir (Zimmermann 2007a). Ayrıca, destruksinler (28 tip), sitokalsin C ve hidroksifungerin A ve B gibi metabolitler ise *Metarhizium* spp. tarafından üretilmektedir. Şimdiye kadar entomopatojenik fungusların hastalık sırasında herhangi bir toksini üretilip üretilmedikleri veya virülans için toksin gerekip gerekmediği belirlenmemiştir. Quesada-Moraga ve Vey (2003) *B. bassiana*’nın çekirgelere karşı patojenik olması için toksin üretimine gerek duymadığını belirtmiştir. Bazı durumlarda, toksin üretiminden şüphelenilmesine rağmen, kesin olarak belirtilmemektedir. *Coelomycidium*, *Coelomomyces* cins ve Entomophthoralean ordosuna ait bir kısım funguslar bazı çok zayıf toksinlere sahip olabilir. Fakat, büyük ihtimalle, bu funguslar konaklarını hayati dokuları istila ederek öldürürler (Goettel vd., 2005). İlave olarak, fungal

enfeksiyon konak hareketlerinde ateş artması, yüksek yerlere çıkma, aktivitede artış veya azalma, semikimyasallara karşı azalmış cevap ve üreme davranışlarında değişme gibi değişiklikler meydana getirebilir (Roy vd., 2006).

1.3.1.1.5. Entomopatojenik Fungusların Özgüllüğü ve Konak Seçiciliği

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

Pek çok Entomophthorales fungus konağa özgüdür ve hedef dışı organizmalar üzerinde bazı istisnalar hariç herhangi bir etki göstermez. Örneğin, *Entomophthora muscae* Lepidoptera takımına ait bireyleri enfekte ederken, *Zoophthora radicans*'ın Diptera,

Coleoptera, Lepidoptera ve Homoptera takımlarına ait 80'in üzerinde konağı enfekte ettiği bildirilmiştir (Hajek vd., 1999; Goettel vd., 2005).

1.3.1.1.6. Entomopatojenik Fungusların Dağılımı ve Yayılımı

Hyphomycetler ve diğer bazı grupların bulaşmasında, çok sayıda omurgasız, yağmur, rüzgar ve sporlar rol oynamaktadır. Genellikle, konidyaların yayılımında en büyük rol oynayan etmen ise rüzgardır. *Nomuraea rileyi*'nin yayılabilmesi için 2.7 km/saat olarak hesaplanan minimum hava akımı gerekmektedir.

Entomophthoralar genellikle primer konidyayı serbest bırakarak, kısa süreli yaşayan bu konidyanın yayılımını arttırmaktadır. Ayrıca, bazı Entomophthoraların spor formları, ürettiği sapsız kapillikonidyalar ve primer serbest bırakılan konidyalar da dahil olmak üzere, yayılmaya yardımcı olmaktadır. Yaprak biti patojeni olan, *Neozygites fresenii* her kadavraya yaklaşık 3000 primer spor bırakmaktadır. Steinkraus vd. (1999) Louisiana pamuk ekinlerinde akşam saatleri süresince, havanın her bir metre küpünde 90 000 kadar primer konidya teşhis etmişlerdir. Bu da hava akımının yayılmada ne kadar etkili olduğunu göstermiştir. Ancak, *N. fresenii* infeksiyonları, çevreye daha dirençli olan primer konidyalardan ziyade kapillakonidyalardan meydana gelmektedir. *Zoophthora phalloides*'in ise hareketli, konaklarını düşük düzeyde enfekte edebilecek ideal bir spor tipi oluşturduğunu, yaprak bitlerinin yaprak yüzeylerinde yürüdükleri zaman ayakları üzerine kapillakonidyalı nasıl topladıkları tanımlanmıştır.

Hifaların kadavra dışında gelişimi ve yayılmasına yardım eden farklı bir mekanizma daha vardır. *Cordyceps* spp. ve bunların bazı anamorfları, 30 cm'den daha fazla genişlikte olan bir stroma (bağ doku) ile birlikte, seksüel ya da aseksüel sporlar üretmektedir. *B. bassiana* gibi daha yaygın olan aseksüel türler, toprakta bulunan enfekte kadavradan birkaç santimetre kadar uzakta gelişmektedir. Toprakta bulunan sporların hareketi, su ya da hava içindeki sporların yayılımından daha sınırlıdır.

Böcek hareketleri de yayılmaya yardımcı olmaktadır. Bazı mantarlar, 'pik (zirve = en yüksek) hastalık' durumunda iken, enfekte çekirgelerin davranışlarında farklılıklara neden olmaktadır ve sonuç olarak, bu böceklerin ölmek için bitkilerin tepe kısmına tırmandıkları bildirilmiştir. Bu durum, sporların yayılmasına yardımcı olmaktadır. Aynı zamanda konak enfeksiyonunun azaltılması için kullanılan bir mekanizma ise yüksek miktarda UV'ye maruz bırakmaktır. Leş ile beslenen böceklerin (Örneğin, Collembolas) hareketi, doğal düşmanları (Örneğin, yırtıcı coccinellidler ya da parazitler) ve tozlaşma sağlayıcılar

(Örneğin, bal arıları), mantar inokulumunun yayılmasında etkili olabilmektedirler. Aslında bazı durumlarda, böcekler kadavraların bozulmasına da neden olmaktadır. Örneğin; olgun *Rhagonycha fulva*'nın kadavra gruplarını ziyaret ettiği gözlenmiştir. Vega vd. (2000), mikrobiyal mücadele etmenlerinin yayılmasında, böceklerin kullanılmasının faydalı olabileceğini ileri sürmektedir.

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

Bir çok mantarın bulaşmasında rol oynayan en büyük faktör dinlenme halinde bulunan sporların üretilmesiyle elverişsiz çevre koşullarından uzaklaşarak, sporların konağa geçmesidir. Entomophthorales'in bir çok türü sekronize şekilde dinlenme halindeki sporları oluşturamamaktadır. İnokulumun zamanla yayılımı artmakta ve mantar, yeni konağa geçme fırsatı bulmaktadır. Bu sporların yaşam süresi uzundur.

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

Karada yaşayan mantarların bir çoğunda etmenin konağa geçmesi için, konidyalardan üremesi ve sporulasyonunda gerekli olan nem yüksek oranda bulunmalıdır. Mantarın sabahın erken saatlerinde oluşan çiğ damlalarında yavaş yavaş gelişmesi nedeniyle, konağın ölümünün uzun sürmesine neden olması şaşırtıcı değildir. Gece alacakaranlıkta başlayan ve sabahın erken saatlerine kadar sporulasyon için uygun nemin olması entomophthoraleansların bir çoğunda, ölümün zaman almasına neden olmaktadır. Nadiren, ürünlerin üzeri gölgelendiği zaman *Pandora neoaphidis* ve Entomophthorales konidyalari

aktif olarak serbest bırakılmasına rağmen, rüzgarın yardımıyla 1 m'den daha fazla hareket edemezler.

Multiple (çoklu) hayat evreleri de hastalıkların bulaşmasında oldukça önemli bir durumdur. Kanatlı böcekler, özellikle grup olarak yaşayanlar, hastalığın yayılmasından sorumlu olabilmektedir. Sivrisinek patojenleri olan su mantarlarının, bulundukları yerlerdeki hareketleri sivrisineklerle sağlanabilir. Bu durumda sivrisinekler ya spor taşıyıcısı konumunda ya da enfekte durumdadır. Örneğin, *Coelomomyces* ile enfekte olgun dişi sivrisinekler normal olarak çiftleşir ve kan emerler ancak, yumurtlayacağı zaman yumurta yerine sporogonileri serbest bırakırlar. Memeliler ve kuşlar hasta kadavralardan sindirim sistemine aldıkları enfektif sporları yayarlar. Kayın ağacı kınkanatlılarından diamondback pervanelinin, *Zoophthora radicans* ve *Platyphus* (Coleoptera)'nın *B. bassiana* ile enfekte edilmesi sonucunda bazı Hyphomyceteslerin larva ve erginlerde nasıl bulaştığı tanımlanmıştır.

Sulak alanlarda, *Coelomomyces* spp. ve *Lagenidium giganteum*'un zoosporları gibi hareketli olan sporlar, konağı bulmak üzere su içerisinde hareket etmektedir. Dinlenme aşamasında olsalar dahi, zoosporlar ve sporogoniler, hareketli olan ve uzun süre yaşamını sürdüren zoosporları üretebilmektedir. Zoosporlar, *L. giganteum* için ana yayılma aşamasıdır ve sivrisinek larvaları vasıtasıyla çekici özelliği olan kemotaktik ajanları aktif olarak yaymaktadır. *Coelomomyces* spp. zoosporları sudaki larvaları kendilerine çekmektedir (kemotaktik ajanlarla). Zoosporlar, fiziksel bir bariyer olmadığı sürece doğal sistemlerde metrelerce, durgun sularda ise 10 cm'ye kadar hareket edebilir. Ancak, entomopatogenik türlerin sulak ortamlardaki tek yayılma ve konağı enfekte etme metodu bu değildir. Sulak alanlarda bulunan ve buralarda 8 gün kadar kalıcılığını koruyabilen, *Culicinomyces*'ler ise konağı enfekte etmek için sapsız sporlarını kullanmaktadır.

1.3.1.1.7. Entomopatogenik Fungusların Avantaj ve Dezavantajları

Entomopatogenik fungusların mikrobiyal mücadelede bazı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. İnsektisit olarak fungusların kullanım avantajları şöyle sıralanabilir:

1. Birçok böcek bir veya daha fazla fungus tarafından etkilenebilir ve bazı durumlarda funguslar yegane mikrobiyal mücadele etmenleridir.
2. Memeliler üzerine herhangi bir olumsuz etki göstermezler.
3. Çevre kirliliği gibi insektisit uygulamaları sonucu karşılaşılan zararları azdır.

4. Funguslar genellikle konaklarının tüm gelişme fazlarını enfekte ederler ve bu nedenle, herhangi bir uygun fazda kullanılabilirler.

5. Biyoteknolojik araştırmalar ile geliştirilmeye uygundurlar.

6. Uygulama sonrası çevrede uzun süre kalırlar ve böylece, uzun süreli mücadele sağlanır (Wan, 2003).

Öteyandan, fungusların insektisid olarak kullanımlarının bazı dezavantajları da bulunmaktadır:

1. Kimyasal insektisitler böcekleri sadece 2-3 saatte öldürürken, entomopatojenik funguslar daha uzun bir süre gerektirmektedir (bazen 10-15 gün).

2. Uygulamalar yüksek nem, düşük zararlı sayısı ve fungusitlerin kullanılmadığı periyod da olmalıdır.

3. Bazen yüksek seçiciliğinden dolayı ilave mücadele etmenlerinin kullanılması gerekebilir.

4. Üretimleri nispeten pahalıdır ve sporların saklanması için soğuk ortamlar gereklidir.

5. Zararlı popülasyonları üzerine entomopatojenik fungusların etkinliği ve devamlılığı farklı konaklarda farklılık göstermektedir ve böylece, böceğe özgül uygulama tekniklerinin optimizasyonu uzun süreli çalışma ve araştırma gerekmektedir.

6. Bağışıklık sistemi baskılanmış insanlara karşı bazen potansiyel risk oluşturabilirler (Wan, 2003).

7. UV ışınının ve desikasyonun fungal sporların üzerinde olumsuz etkileri vardır (Klingen vd., 2002).

8. Fungusların neden olduğu epizootikler çevresel faktörlerden (sıcaklık, nem gibi) etkilenir.

9. Bitki hastalıklarının kontrolünde yaygın olarak kullanılan fungusitlere duyarlıdırlar (Demirbağ vd., 2008).

1.3.1.1.8. Entomopatojenik Fungusların Mikrobiyal Mücadelede Kullanımı

Entomopatojenik funguslar, diğer doğal böcek düşmanlarıyla birlikte başlıca (1) klasik, (2) inokülatif salınım, (3) inundatif salınım ve (4) konzervatif olmak üzere dört geniş biyolojik mücadele stratejisinde kullanılabilirler (Eilenberg vd., 2001; Shah ve Pell, 2003).

Entomopatojenik fungusların klasik biyolojik mücadelede büyük bir kullanım potansiyeli mevcuttur. Fungusların klasik ve inokülatif biyolojik mücadele de kullanımları açısından pek çok tercih nedeni özellikleri vardır. Hızlı bir şekilde epizootiklere neden olabilir, dar konak aralığına sahiptir, çevrede ve böcek popülasyonlarında uzun süre varlıklarını sürdürebilirler (Goettel vd., 2005). Bunlar, ayrıntılı bir şekilde yukarıda belirtilmiştir.

Klasik biyolojik mücadele uzun süreli bir mücadele sağlamak amacıyla, biyolojik mücadele etmeninin doğal olarak bulunmadığı bir yere (genellikle bu organizma konağa göre zaman içerisinde değişikliğe uğramıştır (co-evolved)) isteğe bağlı olarak bırakılmasıdır (Eilenberg vd., 2001). Bu mücadele stratejisinde, ilgili zararlının mücadelesi zararlının mücadelesinin gerektiği alana doğal olmayan uygun bir biyolojik mücadele etmeninin bırakılmasına bağlıdır. Böylece, klasik biyolojik mücadele ekzotik bir organizmanın salınımını gerektirmektedir (Eilenberg vd., 2001). Klasik biyolojik mücadele programları genelde uzun süre sürdürülebilir ve ekonomik bir mücadele sağlanabilir (Shah ve Pell, 2003). Entomopatojenik fungusların klasik biyolojik mücadele de kullanımlarına yönelik çok sayıda örnekle karşılaşmak mümkündür. Amerika'da *Entomophaga maimaiga*'nın *Lymantria dispar*'a ve *Zoophthora radicans*'ın *Therioaphis trifolii*'ye karşı uygulanması bu alanda en güzel örneklerdir (Hajek vd., 1990; Pell vd., 2001; Milner vd., 1982; Shah ve Pell, 2003).

İnokülatif biyolojik mücadele ise biyolojik mücadele etmeni olan canlı bir organizmanın, mücadele bölgesine salınarak uzun bir süre zarfında çoğalması sonucu zararlı böceği kontrol altına almasıdır. Fakat, bu mücadele kalıcı değildir. Bu uygulama stratejisinde salınan organizmanın sayısı önemli değildir. Aksine biyolojik mücadele etmeninin salınan alanda çoğalması önemlidir. Genellikle alana düşük sayıda mücadele etmeni salınır. Bu kısmen de olsa salınan organizmanın kabul edilemez masraflarından kaynaklanmaktadır. Böcek patojenleri inokülatif mücadele için kullanılabilir. Örneğin, *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch (Deuteromycotina: Hyphomycetes) mayıs böceğiyle (*Melolontha melolontha* L. (Coleoptera: Scarabaeidae)) mücadele etmek için İsviçre'de kullanılmıştır. Buradaki amaç, salınan fungusun zaman içerisinde çoğalarak uzun süreli bir mücadele elde edilmesi idi (Keller vd., 1997; Eilenberg vd., 2001). Bununla birlikte, *Entomophaga maimaiga* Amerika'da *Lymantria dispar* popülasyonlarında epizootik başlatmak amacıyla inokülatif olarak kullanılmıştır (Hajek ve Webb, 1999; Goettel vd., 2005).

Üçüncü biyolojik mücadele stratejisi olan inundatif biyolojik mücadele de ise mücadele yalnızca canlı organizmanın kullanılmasıyla sağlanmaktadır (Eilenberg vd., 2001). Bu uygulama stratejisinde, biyolojik mücadele etmeni kısa dönemli bir mücadele için genellikle büyük miktarlarda salınır ve ikinci bir enfeksiyon beklentisi yoktur (Shah ve Pell, 2003). Sıklıkla biyopestisit, biyolojik pestisit veya mikopestisit olarak bilinen terimler funguslar ile yapılan inundatif biyolojik mücadeleyi tanımlamak için kullanılmaktadır (Goettel vd., 2005). Hyphomycetes funguslar inundatif biyolojik mücadele açısından büyük bir öneme sahiptir. Çünkü, kitle üretimleri ve formülasyonları nispeten kolaydır ve geleneksel sprey uygulamalarıyla kolaylıkla uygulanabilmektedirler. Pek çok ticari ürün farklı tarım alanlarında zararlılar ile mücadelede kullanılmaktadır.

Konzervatif biyolojik mücadele ise zararlı böceğin etkisini azaltmak için çevresel veya mevcut uygulamalarda değişiklikler yaparak alanda bulunan doğal düşmanın veya diğer organizmaların korunmasıdır (Eilenberg vd., 2001). Bu stratejide etmen salınımı yoktur fakat, tarım sistemleri ve uygulamaları doğal olarak mevcut olan düşmanı korumak veya sayısını arttırmak için modifiye edilir. Bu sayede zararlı böcek popülasyonunun zarar eşiğinin altında tutulması amaçlanmaktadır (Goettel vd., 2005). Bu uygulamada ilk örnek, *Neozygites fresenii*'nin Amerika'da bulunan pamuk tarlalarındaki uygulamadır. Çifçiler topladıkları afidelerin %15'inin bu fungusla enfekte olduğunu buldukları zaman mevcut patojeni korumak için herhangi bir insektisid uygulaması yapmadılar. Böylece, hem zamandan hem de paradan tasarruf ederek, çevresel kontaminasyonu azaltarak yararlı böcekleri de korumuş oldular (Shah ve Pell, 2003; Pell vd., 2001).

1.4. Tezin Amacı

Bu çalışmada, Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki ladin ormanlarında çeşitli zararlar oluşturan dev soymuk böceği, *Dendroctonus micans* (Kug.) ile mücadelede etkin, güvenli, ekonomik ve çevreye duyarlı fungal mikrobiyal mücadele etmenleri izole etmek, bunların morfolojik ve moleküler karakterizasyonlarını yapmak ve hedef zararlıya karşı insektisidal etkilerini belirlemek amaçlanmıştır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Böcek Örneklerinin Araziden Toplanması ve Laboratuara Getirilmesi

Doğu Karadeniz Bölgesi farklı ladin orman alanlarından *Dendroctonus micans* (Dev soymuk böceği) toplamak için arazi çalışmaları yapıldı. Zararlıının bulunduğu ladin ağaçlarında gövde kabukları küçük baltalarla açıldı ve kabuk altındaki galerilerde bulunan ergin ve larvalar suluboya fırçalarıyla plastik kutuların içine toplandı. Galerilerde ölü olarak bulunan ergin ve larvalar mikrosantrifüj tüplerinde laboratuara getirildi. Böceklerin beslenmelerine devam etmeleri için kutu içerisine ağaç kabukları da bırakıldı. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji laboratuvarına getirilen kutuların içindeki böcekler incelendi. Makroskobik incelemelerde ölü olanlar ayrıldı. Canlı ve hastalık semptomları gösterenler tespit edildi.

2.2. Böceklerden Fungus İzolasyonu

Laboratuara getirilen böcekler belirli bir süre laboratuar ortamında uygun besinlerle beslenirken ölenler, ölüm nedenlerinin fungal enfeksiyon olup olmadığının araştırılması için incelemeye alındı. Aynı incelemeler, arazi çalışmaları sırasında ölü olarak bulunan larvalara da uygulandı. Bunun için ilk olarak ölü böcekler %1'lik sodyum hipoklorit solüsyonuyla 3 dk. yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra, 3 kez distile su ile yıkandı. Daha sonra bu böcekler, içerisinde nemli filtre kağıdı bulunan steril petrilere alınarak, 25°C'de inkübasyona bırakıldı (Ali-Shtayeh vd., 2002). İnkübasyon neticesinde eksternal fungal büyüme görünen örneklerden öze yardımı ile fungusların saflaştırılması gerçekleştirildi (Vannien ve Husberg, 1989). Saflaştırma sırasında ilk besiyeri olarak PDAY [%1 yeast ekstrakt ilave edilmiş Patates Dekstrozu Agar (PDA) besiyeri] kullanıldı. Bakteri kontaminasyonunu engellemek için besiyerine 50 µg/ml ampisillin, 20 µg/ml oranında geniş spektrumlu bir antibiyotik olan tetrasiklin ve 200 µg/ml oranlarında streptomisin ilave edildi (Ihara vd., 2001).

2.3. Fungusların Depolanması

İzole edilen fungusların herbirinin saf kültürleri oluşturuldu. Bunun için funguslardan 1×10^4 spor/ml oranında spor süspansiyonu hazırlandı ve PDAY (Patates dekstrozu agar + % 1 maya ekstraktı) besiyerlerine yayma ekimleri yapıldı. Bir günlük inkübasyondan sonra görülen koloniler alınarak saf kültürler elde edildi. Tek spordan üreyen fungus örneklerinden saklama işlemi yapıldı. Saklama için funguslar PDA besiyerinde büyütüldükten sonra, belirli oranda sporları alındı ve 5:1 oranında gliserol stokları yapıldı. Elde edilen stoklar -80°C’de muhafaza edildi. Petrilerdeki saf kültürler ise +4°C’de bekletildi. Bu kültürlerden 6 ayda bir pasaj yapıldı. Ayrıca, bütün izole edilen fungusların ARSEF (ARS Collection of Entomopathogenic Fungal Cultures, Ithaca, New York, USA) kültür koleksiyonuna kayıtları yapıldı.

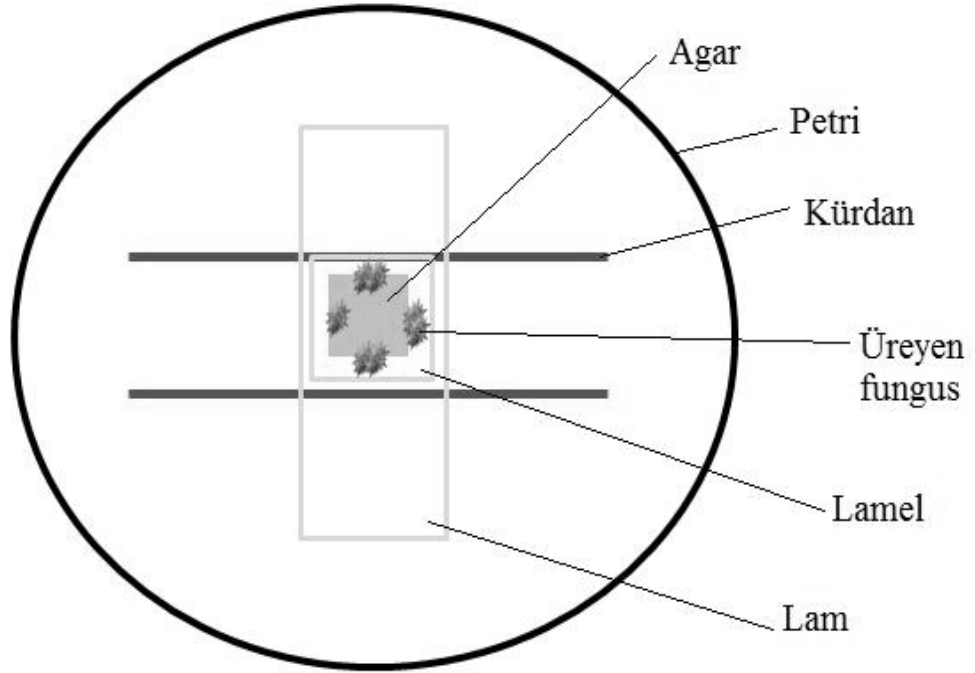
2.4. Fungusların Tür Tayinleri

2.4.1. Morfolojik Tür Tayini

Fungusların morfolojik tür tayinleri Dr. Richard Humber (USDA-ARS Collection of Entomopathogenic Fungi, Ithaca, NY, USA) tarafından yayınlanan “Entomopathogenic Fungal Identification” adlı kaynağa göre yapıldı (Humber, 1997). Tür tayinlerinde ilk önce böceklerde meydana gelen enfeksiyon şekli ve enfeksiyonun gelişim seyri değerlendirildi. Stereomikroskop ile böcek kadavraları üzerinde büyüyen patojenlerin koloni incelemesi yapıldı. Fungusların daha ayrıntılı incelenmeleri için mikroskopik preparatlar ‘Scotch tape’ ve ‘Slide mounts’ tekniklerine göre hazırlandı ve aseto-orsein boyası ile boyandı (Şekil 6). Hazırlanan preparatlar mikroskop altında incelendikten sonra hiflerin özelliği, havai olup olmadığı, üreme organlarının gelişme devreleri, konidiyoforların yapısı, varsa çap ve boylarının ölçüleri, sporların ölçüleri ve renkleri incelendi ve bu karakterler tür tayininde kullanıldı (Humber, 1997). Tür tayinlerinin doğrulanması Dr. Richard Humber tarafından gerçekleştirildi.

Preparatlar şu şekilde hazırlanmıştır: Cam petri kapları ve kürdanlar steril edildikten sonra, 2 adet kürdan birbirlerine paralel olacak şekilde steril petri kaplarına yerleştirildi. Kürdanlar üzerine steril lamalar konuldu ve bu şekilde düzenek tekrar steril edildi. Daha sonra, kare şeklinde kesilmiş kalın bir agar parçası (en az 0,5 cm kalınlıkta) hazırlanan düzeneğin içerisindeki lamanın üzerine yerleştirildi ve agar parçasının dört bir

yanına iğne uçlu öze ile ekimler yapıldı. Ekimden sonra mikroskop lamelleri alkol ile steril edildikten sonra inokülasyonu yapılmış agar parçalarının üzerine hafifçe konuldu. Son olarak, örnekler 1 hafta boyunca 25-28°C’de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda lameller nazikçe kaldırılarak bir damla aseto-orsein boyası içeren lam üzerine kapatıldı ve mikroskopta incelendi (Şekil 6).



Şekil 6. Fungal örneklerin ‘Scotch tape’ tekniğiyle mikroskopik incelenmesi

2.4.2. Moleküler Karakterizasyon

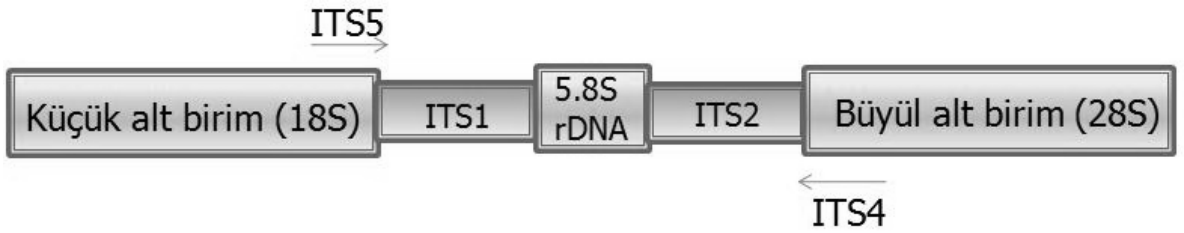
2.4.2.1. DNA İzolasyonu

Funguslardan DNA izolasyonu için kültürler ilk olarak PDAY besiyerine ekildi ve 1 hafta boyunca 28°C’de inkübasyona bırakıldı. Sonra bu kültürlerden koloniler alınarak 50 ml PDB (Patates dekstrozu sıvı) besiyerine inoküle edildi ve 1-2 hafta boyunca 28°C’de ve 250 rpm’de kuru çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı. Büyüyen kültürler steril filtre kağıdıyla süzildükten sonra sıvı azot içerisinde öğütüldü. Daha sonra üretici firmanın önerileri doğrultusunda DNeasy Plant mini Kit (50, QIAGEN) ve NucleoSpin Plant Kit (50, Clontech) kitleri kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı. İzole edilen DNA’lar %1’lik

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

2.4.2.2. rRNA ITS1–5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması

18S ve 28S rRNA alt üniteleri arasında kalan ITS1-5.8S-ITS2 bölgelerinin PCR ile çoğaltılması için forward olarak ITS5: 5’- GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG - 3’ ve reverse olarak ITS4: 5’TCCTCCGCTTATTGATATCG- 3’ primerleri kullanıldı (Şekil 7) (White vd., 1990). ITS1-5.8S-ITS2 bölgelerinin çoğaltılması için hazırlanan PCR reaksiyon karışımı, her bir dNTP’den 200 µM, her bir primerden 50 pmol, 2,5 unite *Taq*-DNA-polimeraz, 5 µl 10X *Taq* DNA polimeraz reaksiyon tamponu, 50 ng genomik DNA içerdi. Son hacim ddH₂O ile 50 µl’ye tamamlandı. PCR koşulları; 95°C’de 5 dakikalık denatürasyondan sonra 95°C’de 1 dakika, 50°C’de 45 saniye ve 72°C’de 2 dak. haline 35 döngü ve son adım olarak 72°C’de 10 dak. olacak şekilde gerçekleştirildi (Muro vd., 2005). PCR reaksiyonu sonucu elde edilen ürünlerden 5’er µl alınarak 0,5 µg/ml etidyum bromür katkılı %1’lik agaroz jelde 90 V’de 45 dakika elektroforez edildi. Geri kalan PCR ürünleri Qiaquick PCR 50 (Qiagen GmbH, Leuten, the Netherlands) kiti ile saflaştırıldı ve DNA dizi analizi için VIB Genetic Service Facility (Antwerp, Belçika) şirketine gönderildi. Elde edilen DNA dizileri tür tayinlerini doğrulamak için NCBI GenBank’ta yer alan DNA dizileri ile karşılaştırıldı..



Şekil 7. ITS1-5.8S-ITS2 bölgesini çoğaltmak için kullanılan primerlerin pozisyonları. ITS5 forward ve ITS4 revers primer olarak kullanılmıştır.

2.4.2.3. PCR Ürünlerinin Dizi Analizi

PCR ürünleri sekansa gönderildi. Olası polimorfizmleri ortaya çıkarmak için de her izolattan hazırlanan 3 klon sekans edildi. Elde edilen veriler gen bankasında blastlandı.

2.5. İzole Edilen Fungusların Patojenite Testleri

İzolatlar, her ne kadar böcekten izole edilmiş olsa da bunların entomopatojenik olup olmadıklarını doğrulamak ve virülanslarını belirlemek için patojenite testleri yapıldı.

2.5.1. Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması

Patojenite testlerinde kullanılan fungal izolatların 1×10^5 spor/ml'lik stok solusyonlarından PDAY besiyeriye 100 µl yayma ekim yapıldı ve 25°C'de 2-3 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Büyüme periyodunun sonunda, tek koloniler seçilerek başka bir PDAY besiyerine transfer edildi ve 25°C'de 4 hafta boyunca inkübe edildi. Büyüme periyodunun sonunda, petri üzerine 10 ml steril % 0,1'lik Tween 80 eklendi ve cam baget ile kazınarak sporlar elde edildi. Spor süspansiyonları iki katlı tülbent ile 50 ml'lik steril Falkon tüplerine süzülerek misel ve agar parçalarının uzaklaştırılması sağlandı. Elde edilen süspansiyonlar 5 dak. vortekslenerek homojen hale getirildi. Spor konsantrasyonları Neubauer hemositometresi ile arzu edilen konsantrasyonlara ayarlandı.

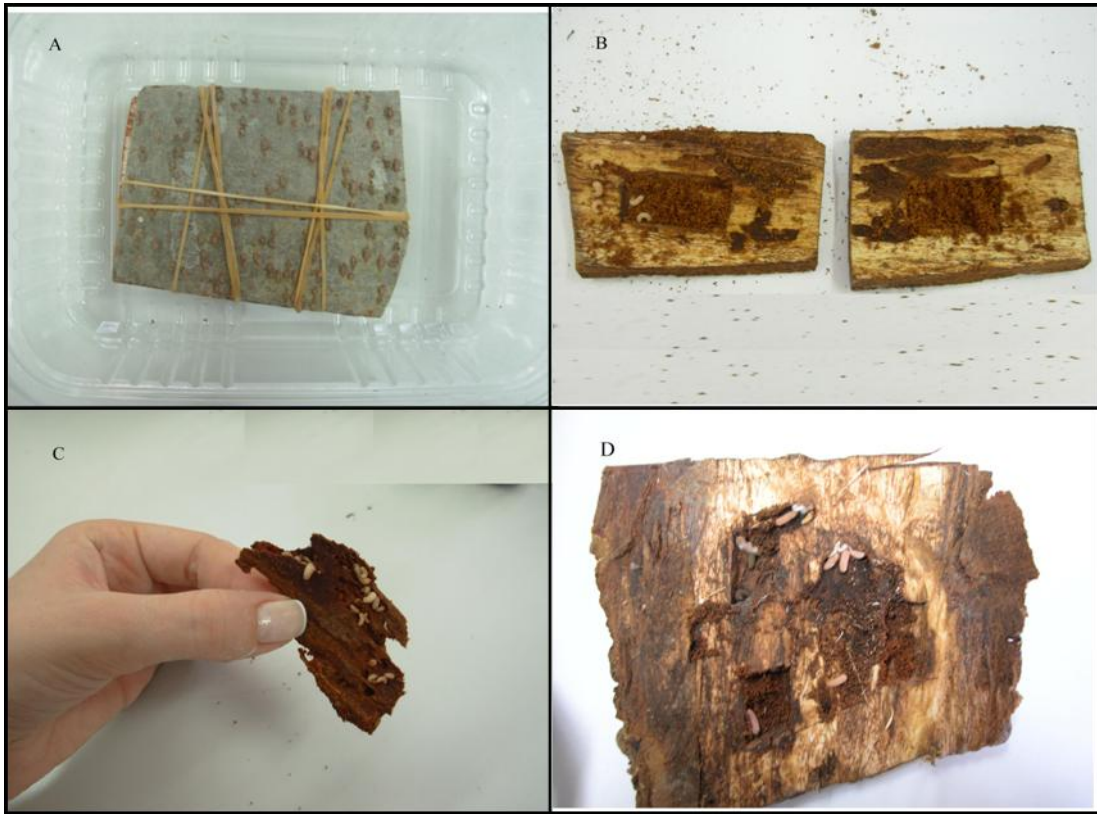
Sporların yaşayabilirliği, 100 µl spor süspansiyonun PDAY agar üzerine yayma ekim yapılması ve 24 saatlik bir inkübasyondan sonra çimlenme özelliğinin belirlenmesiyle test edildi. Germ tüpü spor çapından büyük olan sporlar çimlenmiş olarak kabul edildi. Bunun sonucunda %95 oranında çimlenen sporlar patojenite testlerinde kullanıldı.

2.5.2. *Dendroctonus micans*'a Karşı Biyotestler ve Entomopatojenik Fungusların Belirlenmesi

Biyotestlerde kullanılan *D. micans* larva ve erginleri Trabzon'un çeşitli orman alanlarından toplanarak laboratuara getirildi ve sağlıklı larva ve erginler seçilerek biyotestlerde kullanıldı. Spor süspansiyonları Bölüm 2.5.1.'de belirtilen şekilde

hazırlandıktan sonra, konsantrasyon 1×10^6 spor/ml olacak şekilde Neubauer hemositometresi ile ayarlandı.

D. micans'ın biyotestlerinde hem larva hem de ergin böcekler kullanıldı. Larvaların biyotestlerinde, her bir tekrar için 10'ar larva kullanıldı. Larvalar 2-3 saniye için spor süspansiyonuna batırılarak yeterli miktarda sporun larvalara bulaşması sağlandı. Kontrol grubu ise steril %0,1'lik Tween 80 ile muamele edildi. Larvalar spor süspansiyonuna batırıldıktan sonra, ortasında kare şeklinde bir çukur oluşturulan yaş ladin kabuğunun (yaklaşık 20 mm uzunluğunda ve 10 mm eninde) içine transfer edildi. Sonra, aynı boyutta diğer bir yaş ladin kabuğu birincisinin üzerine kapatıldı ve bir arada tutunmaları açısından lastik bantla çevrildi (Şekil 8).



Şekil 8. *D. micans* larvalarının patojenite testlerinde kullanılan biyotest düzenekleri ve enfekte olmuş larvalar. A: İçerisinde *D. micans* larvaları bulunan lastik ile sarılmış ladin kabukları. B: Ortasında kare şeklinde çukur açılan ve larva bulunan ladin kabuğu. C: Kabuğun içerisine girmiş larvalar. D: *Beauveria bassiana* ile enfekte olmuş larvalar

Erginlerin biyotestlerinde de 10'ar adet ergin böcek her bir tekrar için kullanıldı. Ergin böcekler de 2-3 saniye için spor süspansiyonuna batırılarak yeteri miktarda sporu

almaları sağlandı. Kontrol grubu ise steril %0,1'lik Tween 80 ile muamele edildi. Muamele edilen böcekler plastik bir kutu içerisine (15 mm) konuldu ve küçük bir parça ladin kabuğu da (10 mm) besin olarak kutunun içine bırakıldı (Şekil 9). Bütün deneyler 3 defa tekrar edildi. Bu şekilde hem larva hem de erginler için biyotest düzenekleri hazırlandıktan sonra, deney düzenekleri 20°C'de 12: 12 (I:K) ışık periyodunda 15 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. İncelemeler 6. ve 15. günlerde yapıldı ve 6. gün sonunda ölü larvalar sayıldı ve yüzde ölüm değerleri hesaplandı. Yüzde mikoz değerini hesaplamak için ise ölü bulunan larva ve erginler %1'lik sodyum hipoklorit çözeltisi ile yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra 3 kez steril distile su ile yıkandı ve steril nemli filtre kağıdı içeren petrilere alındı. Bunu takiben sporlaşan larva ve erginler sayılarak yüzde mikoz değerleri hesaplandı.



Şekil 9. *D. micans* larvalarının patojenite testlerinde kullanılan biyotest düzenekleri ve enfekte olmuş erginler. A ve B: İçerisinde *D. micans* erginleri ve ladin kabuğu bulunan biyotest kabı. C: Kabuğun içerisine girmiş erginler. D: *Beauveria bassiana* ile enfekte olmuş erginler

3. BULGULAR

Bu çalışma, *Dendroctonus micans*'tan entomopatojenik fungus izolasyonu, izolatların morfolojik ve moleküler yöntemlerle karakterizasyonu ve zararlıya karşı mikrobiyal mücadele materyali olarak kullanılabilme potansiyellerini araştırmak amaçlanmıştır.

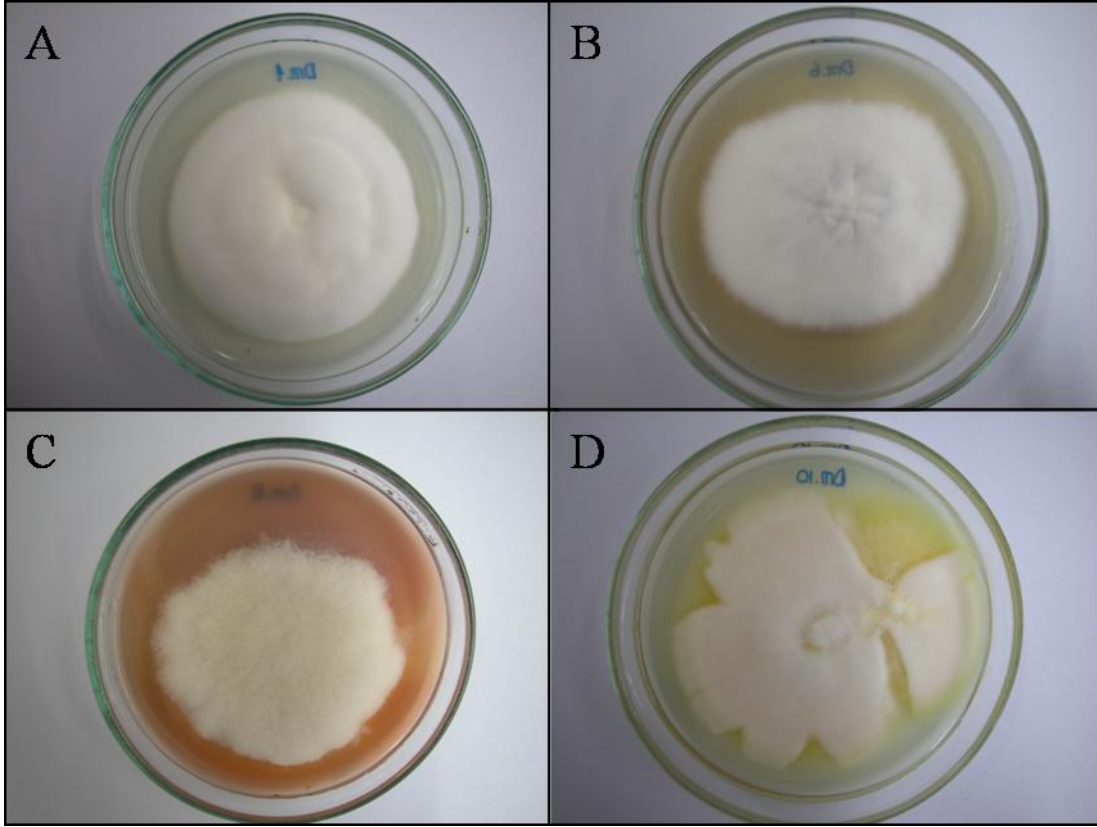
3.1. Toplam Fungus İzolasyonu

Bu çalışmada, 2008 ve 2009 yılları arasında Trabzon'un farklı bölgelerinden (Maçka ve Zigana), yaklaşık 120 ağaçtan 430 adet *D. micans* larvası, 400 adet *D. micans* ergini toplandı. Toplanan *D. micans* (Coleoptera: Scolytidae) larva ve erginler entomopatojenik fungus varlığı yönünden incelendi. Bu incelemeler sonucunda erginlerde enfeksiyon oranı erginlerde %2,7, larvalarda ise enfeksiyon oranı %0,23 olarak belirlendi.

Erginlerden izole edilen 7 izolatta, laboratuarda öldükten sonra enfeksiyon görüldü. Dört izolat ise toplanılan alanda ölü bulundu. Larvadan yalnızca bir izolat elde edildi ve laboratuarda öldükten sonra fungal enfeksiyon görüldü. Böylece *D. micans*'tan 4 farklı cinse ait toplam 12 adet fungus izolatu elde edildi ve bu izolatlar Dm-1, Dm-2, Dm-3, Dm-4, Dm-5, Dm-6, Dm-7, Dm-8, Dm-9, Dm-10, Dm-11 ve Dm-12 olarak numaralandırıldı.

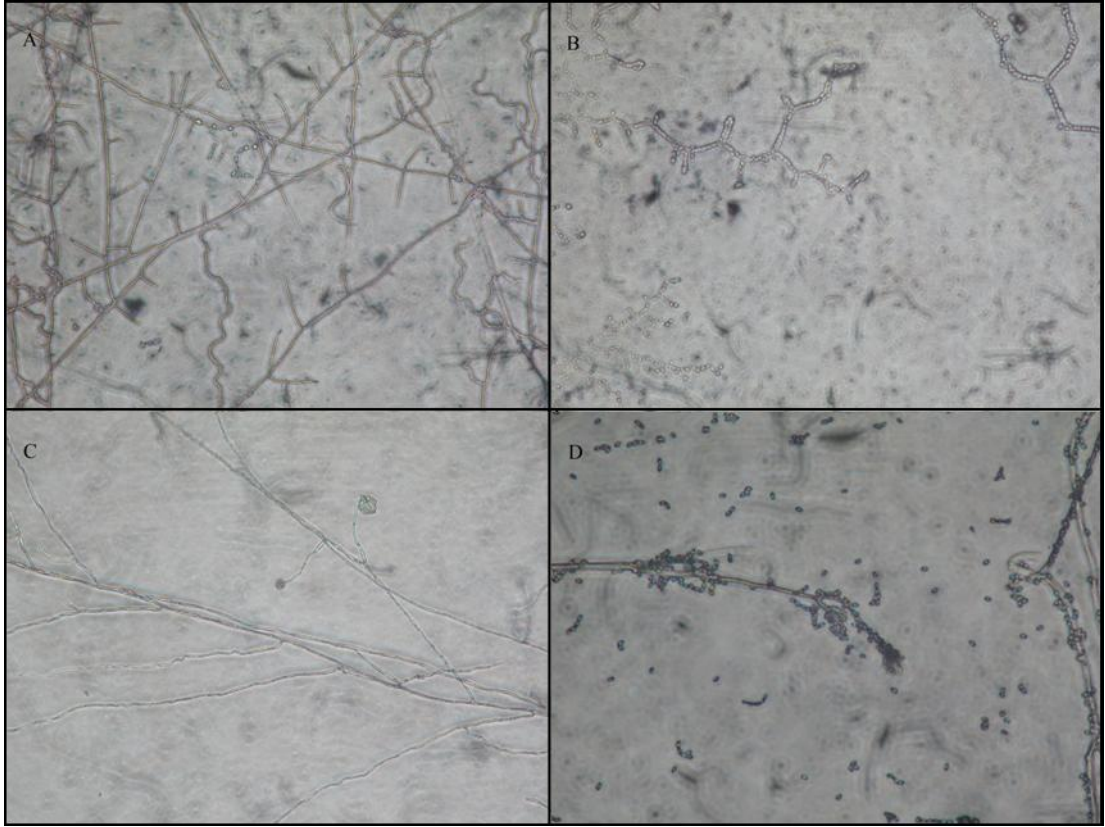
3.2. İzolatların Morfolojik Tür Tayinleri

İzole edilen fungal örnekler ilk olarak böceklerde meydana gelen enfeksiyon şekline göre değerlendirildi. Buna ilave olarak izolatların agar besiyerinde meydana getirdikleri koloni morfolojileri de aynı şekilde değerlendirildi (Şekil10).



Şekil 10. *D. micans*'tan izole edilen fungus cinslerine ait koloni morfolojileri. A: *Lecanicillium muscarium*. B: *Beauveria bassiana*. C: *Fusarium* sp. D: *Isaria farinosa*

İzolatların mikroskopik yapıları (spor, konidioforlar vb.) ‘Scotch tape’ ve ‘Slide mounts’ tekniklerine göre hazırlanan preparatların 40X’lik objektifte incelenmesiyle sağlandı (Şekil 11). Bunun sonucunda elde edilen veriler ile ‘Entomopatojenik Fungal Identifikasyon’ isimli teşhis anahtarı (Humber, 1997) kullanılarak morfolojik olarak tür tayinleri yapıldı. İzolatların morfolojik tür tayinlerini doğrulamak açısından bütün örnekler bu konuda uzman bir araştırmacı olan Dr. Richard Humber’a (USDA-ARS Collection of Entomopathogenic Fungi, Ithaca, NY, USA) gönderilip, teyit edildi. Fungusların birer örneği ARSEF’te stoklandı. Laboratuarda ölen erginlerden izole edilen 7 izolat, *Beauveria bassiana* (ARSEF 9271), *Beauveria* sp. (ARSEF 9272), *Fusarium* sp. (ARSEF 9273), *Isaria farinosa* (ARSEF 9269, ARSEF 9270), *Lecanicillium muscarium* (ARSEF 9267 ve ARSEF 9268), doğada ölü bulunan 4 izolat ise *I. farinosa* (ARSEF 9275, ARSEF 9276, ARSEF 9277 ve ARSEF 9278) ve larvadan izole edilen bir izolat ise *Fusarium* sp. (ARSEF 9274)’dir (Tablo 2). *L. muscarium*, *Fusarium* sp. ve *I. farinosa* *D. micans*’tan ilk defa izole edildi.



Şekil 11. Çeşitli entomopatojenik fungusların mikroskobik yapıları. A: *L. muscarium*'un konidioforları. B: *B. bassiana*'nın konidiofor yapıları. C: *Fusarium* sp. konidioforları. D: *I. farinosa*'nın konidioforları

Tablo 2. Fungus izolatlarının morfolojik tür tayinleri

İzolat No	Kaynak	Tür Tayini	ARSEF No	Toplama Tarihi
Dm-1	Ergin	<i>Lecanicillium muscarium</i>	ARSEF 9267	25.10.2008
Dm-2	Ergin	<i>Lecanicillium muscarium</i>	ARSEF 9268	25.10.2008
Dm-3	Ergin	<i>Isaria farinosa</i>	ARSEF 9269	25.10.2008
Dm-4	Ergin	<i>Isaria farinosa</i>	ARSEF 9270	25.10.2008
Dm-5	Ergin	<i>Beauveria bassiana</i>	ARSEF 9271	25.10.2008
Dm-6	Ergin	<i>Beauveria</i> sp.	ARSEF 9272	25.10.2008
Dm-7	Ergin	<i>Fusarium</i> sp.	ARSEF 9273	20.06.2009
Dm-8	Larva	<i>Fusarium</i> sp.	ARSEF 9274	20.06.2009
Dm-9	Ergin	<i>Isaria farinosa</i>	ARSEF 9275	20.06.2009
Dm-10	Ergin	<i>Isaria farinosa</i>	ARSEF 9276	20.06.2009
Dm-11	Ergin	<i>Isaria farinosa</i>	ARSEF 9277	20.06.2009
Dm-12	Ergin	<i>Isaria farinosa</i>	ARSEF 9278	20.06.2009

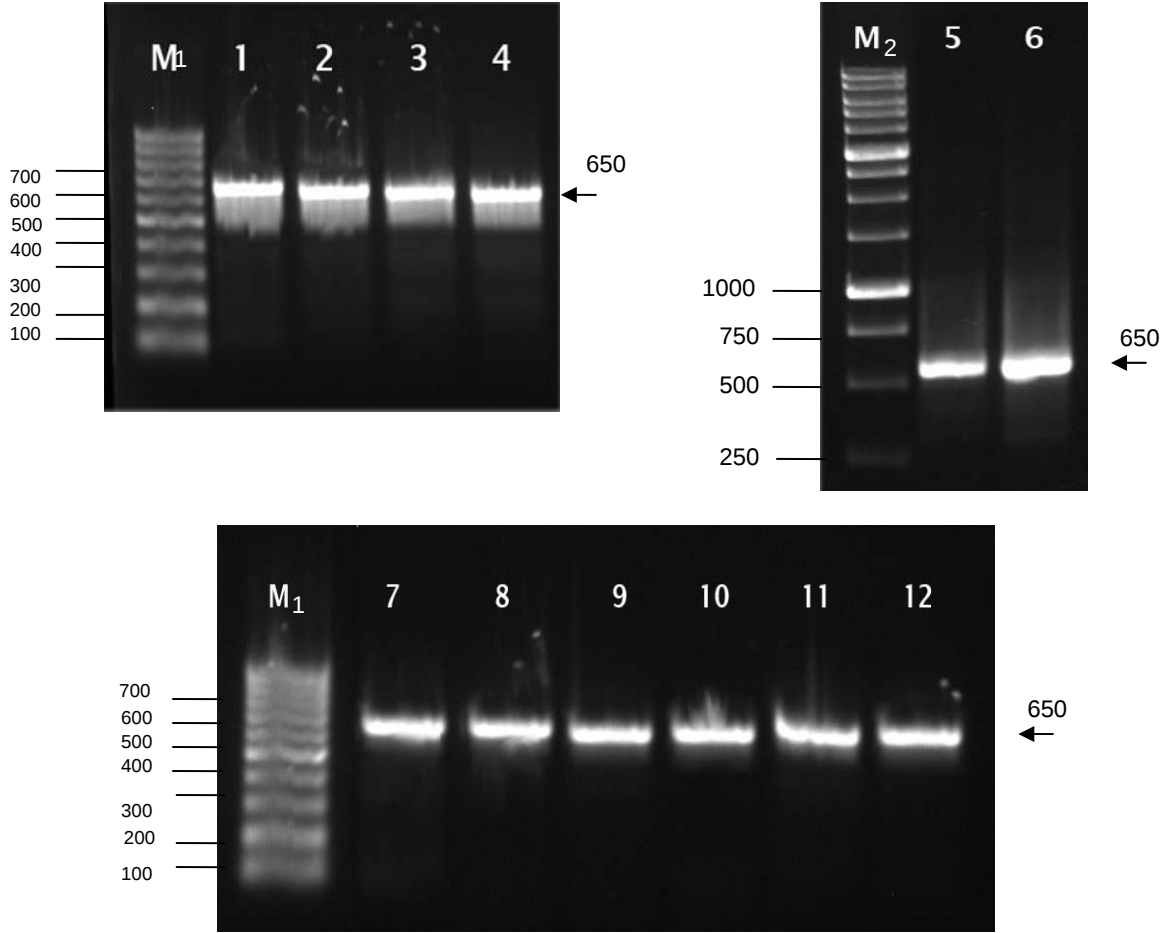
Lecanicillium cinsinde koloniler beyaz veya soluk sarı, pamuk gibi, demetler halinde hiflerden oluşur. *Beauveria bassiana* 25° C'de üreyebilirken 35° C'de üreyemez. Orta hızda yüzeyi tozsuz olan pamuksu görünümde koloniler oluşturur. Koloni başlangıçta

beyaz, sonraları pembe-ten rengi bir renk alır. *Fusarium* cinsi toz şeklinde koloniler oluşturur. Beyaz olan koloniler, daha sonra pembemsi bir renk alır. *Isaria* cinsinin agar kolonileri, toz şeklinde ya da göze çarpan sarı sinnemalar şeklindedir. İlk başta beyaz olan koloniler parlak sarı ya da krem rengine dönüşebilir.

Lecanicillium cinsine ait misel ve konidioforlar saydam veya parlak renklidir; konidiumlar saydam veya renklidir. Konidiumlar; kısa konidioforların ucunda oluşur. *Fusarium* cinsi ince ve dallanan konidioforlarla örtülür, konidioforlar sadece küçük elipsoid ve saydam konidiumlar taşırlar. *Beauveria* cinsinin konidiyajen hücreleri (konidiya üreten hücreler) globoz ya da şişe şeklinde ve çoğunlukla zig-zag'lı bir yapı oluşturmalarıyla karakteristiktir. Çok sayıda, ufak, mikrokonidyumlar konidyoforlar çevresinde kümeler oluşturabilir. *Isaria* cinsinde uzun olan konidioforlar, sıkışık bir sütun halinde bir arada bulunurlar, bu sütun halindeki konidioforlara sinnema denir.

3.3. İzolatların Moleküler Karakterizasyonları

Fungal izolatların moleküler karakterizasyonlarının gerçekleştirilmesi amacıyla *B. bassiana* izolatları için ITS1-5.8S-ITS2 gen bölgesinin yaklaşık olarak 558 bp'lik, *Lecanicillium muscarium* izolatları için yaklaşık 528 bp'lik, *Isaria* izolatları için yaklaşık 578 bp'lik ve *Fusarium* sp. izolatları için yaklaşık 556 bp'lik gen bölgesi PCR ile çoğaltıldı (Şekil 12) ve sekans analizleri yapıldı.



Şekil 12. Entomopatojenik fungus izolatlarının rRNA ITS1-5.8S-ITS2 bölgesinin PCR ile çoğaltılması. M1: 100 bp DNA ladder M2: 1 kb DNA ladder 1: Dm-1, 2: Dm-2, 3: Dm-3, 4: Dm-4, 5: Dm-5, 6: Dm-6, 7: Dm-7, 8: Dm-8, 9: Dm-9, 10: Dm-10, 11: Dm-11, 12: Dm-12

Elde edilen ITS DNA dizileri NCBI GenBank'ta blastlanarak izolatların GenBank'ta yer alan diğer entomopatojenik fungus türleriyle yüzde benzerlik oranları belirlendi. Morfolojik bakımdan *Lecanicillium muscarium* olarak tanımlanan 2 adet izolatın morfolojik karakterizasyonlarını doğrulamak açısından bu izolatların ITS bölgesinin DNA dizi analizi yapıldı ve NCBI GenBank'ta blastlanarak GenBank'ta yer alan diğer *Lecanicillium* türleri ile karşılaştırılarak tür tayinleri doğrulandı. Buna göre, bütün izolatların %100 oranında *L. muscarium* ile homoloji gösterdiği belirlendi (Tablo 3). Morfolojik tür tayinlerine göre 6 izolat *Isaria farinosa* olarak tanımlandı. Bu izolatlar GenBank'ta yer alan diğer *Isaria* türleri ile karşılaştırıldı ve buna göre bütün *I. farinosa* izolatlarının %100 ile homoloji gösterdiği belirlendi (Tablo 3). Morfolojik olarak *Beauveria bassiana* olarak tanımlanan 2 adet izolat *Beauveria* türleri ile karşılaştırıldı ve

bütün izolatların %100 oranında *B. bassiana* ile homoloji gösterdiği belirlendi (Tablo 3). Morfolojik tür tayinlerine göre 2 izolat *Fusarium* sp. olarak tanımlandı. GenBank'ta yer alan diğer *Fusarium* türleri ile karşılaştırıldı ve tür tayinleri doğrulandı.

Tablo 3. Fungus izolatlarının rRNA ITS1-5.8S-ITS2 dizisine göre tür tayinleri

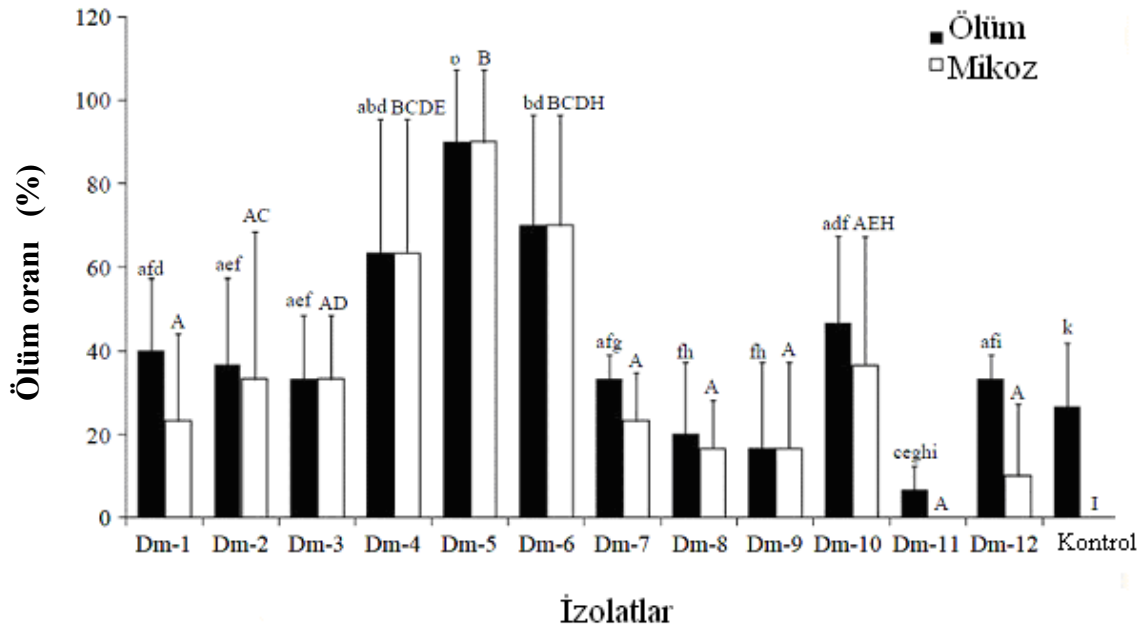
İzolat	ITS1-5.8S-ITS2 gen dizisi	ITS1-5.8S-ITS2 gen benzerliği	Accession No
Dm-1	<i>Lecanicillium muscarium</i> suş LEC16	%100	EF679162
	<i>Lecanicillium muscarium</i> suş LEC11	%100	EF679161
Dm-2	<i>Lecanicillium muscarium</i> suş LEC16	%100	EF679162
	<i>Lecanicillium muscarium</i> suş LEC11	%100	EF679161
Dm-3	<i>Isaria farinosa</i> izolat POC0701	%99	HQ115724
	<i>Isaria farinosa</i> izolat SY17-a	%99	HM242261
Dm-4	<i>Isaria farinosa</i> suş CBS 262	%99	AY624179
	<i>Isaria farinosa</i> suş CBS 240	%99	AY624178
Dm-5	<i>Beauveria bassiana</i> izolat KTU-68	%100	FJ792830
	<i>Beauveria bassiana</i> izolat KTU-66	%99	FJ792828
Dm-6	<i>Beauveria bassiana</i> izolat KTU-66	%100	FJ792828
	<i>Beauveria bassiana</i> izolat KTU-67	%99	FJ792829
Dm-7	<i>Fusarium</i> sp. JS1337	%100	AM176729
	<i>Fusarium</i> sp. NRRL 22389	%99	AF178404
Dm-8	<i>Fusarium</i> sp. JS1337	%99	AM176729
	<i>Fusarium</i> sp. NRRL 22389	%99	AF178404
Dm-9	<i>Isaria farinosa</i> suş KVL 07-60	%99	GU354359
	<i>Isaria farinosa</i> suş KVL 07-59	%99	GU354358
Dm-10	<i>Isaria farinosa</i> suş CBS 262	%99	AY624179
	<i>Isaria farinosa</i> suş CBS 240	%99	AY624178
Dm-11	<i>Isaria farinosa</i> izolat POC0701	%99	HQ115724
	<i>Isaria farinosa</i> izolat SY17-a	%99	HM242261
Dm-12	<i>Isaria farinosa</i> izolat POC0701	%99	HQ115724
	<i>Isaria farinosa</i> izolat SY17-a	%99	HM242261

3.4. *Dendroctonus micans*'a Karşı Patojenite Testleri

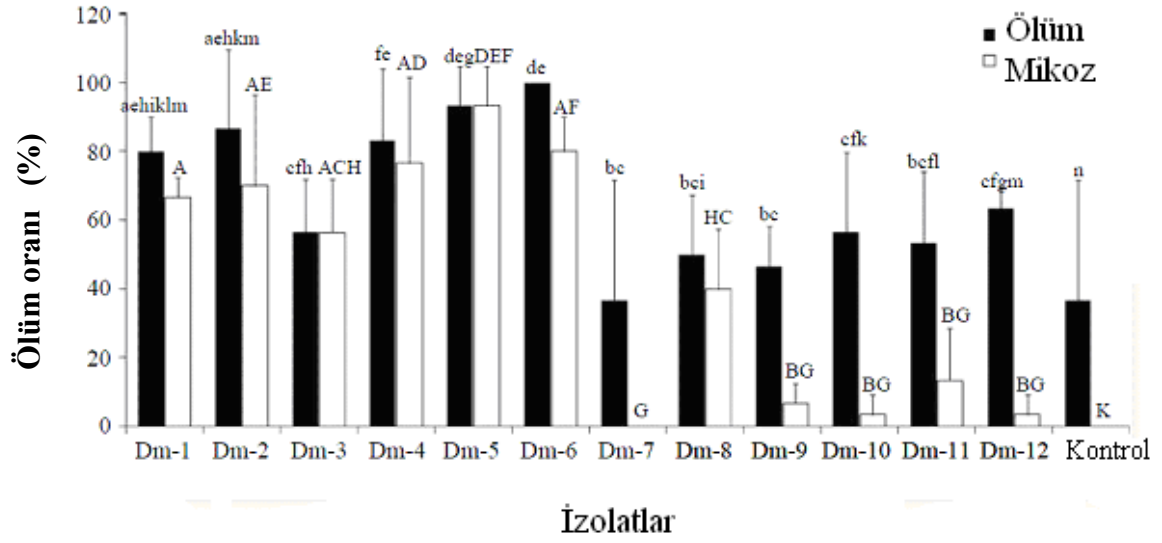
Yüksek patojeniteye sahip fungal izolatların seçimi ve fungal izolatlar arasındaki patojenite bakımından farkı belirlemek amacı ile bütün fungal izolatlar *D. micans*'a karşı test edildi. *D. micans*'a karşı yapılan patojenite deneyleri hem larva hem de ergin bireyler üzerinde gerçekleştirildi. Fungal izolatların hem larva hem de erginler üzerinde farklı ölüm oranlarına neden oldukları tespit edildi (Şekil 13). Larvalar için izolatlar istatistiksel olarak farklı ölüm oranına sebep oldu ($F=4,74$, $df=11$, $p<0,05$) fakat, bütün izolatlar kontrol grubundan farklı bulundu ($F=4,59$, $df=12$, $p<0,05$). *B. bassiana* (ARSEF 9271) diğer bütün izolatlardan farklı ölüm oranı gösterdi. Mikoz açısından ise bütün izolatlar kontrol grubundan farklıydı ($F=4,96$, $df=12$, $p<0,05$) ve aralarında değişik mikoz seviyeleri

gösterdiler ($F=4,38$, $df=11$, $p<0,05$). *I. farinosa* (ARSEF 9269, ARSEF 9270), *B. bassiana* (ARSEF 9271) ve *Beauveria* sp. (ARSEF 9272) aynı seviyede mikoz ürettirler. En yüksek mikoz seviyesi ARSEF 9271 tarafından üretildi. Kontrol grubu %26,6 ölüm oranı sergiledi (Şekil 13).

Erginler için tüm işlemler kontrol grubundan farklıydı ve hepsi birbirlerine kıyasla farklı miktarlarda ölüm oranı sergiledi ($F=3,35$, $df=12$, $p<0,05$). *Beauveria* sp. (ARSEF 9272), *L. muscarium* (ARSEF 9267 ve ARSEF 9268), *I. farinosa* (ARSEF 9270) istatistiksel olarak aynıydı ve 10 gün içinde *B. bassiana* (ARSEF 9272) en yüksek ölüm oranına sahip oldu (%100). Tüm izolatlar kontrol grubundan ve birbirlerinden farklı miktarda mikoz ürettirler. İzolatlardan (ARSEF 9271, ARSEF 9268, ARSEF 9270 ve ARSEF 9272) mikoz üretme bakımından benzerlerdi. Kontrol grubu ise %36,6 ölüm oranı sergiledi (Şekil 14). Fungal enfeksiyonu göz önünde bulundurarak larva ve yetişkinleri karşılaştırıldı ve bunun sonucunda yetişkinlerin larvalardan daha duyarlı olduğu bulundu.



Şekil 13. İnokülasyondan sonra 10 gün içerisindeki *D. micans* larvalarının ölüm oranı ve mikoz değerleri. Ölüm değerleri Abbott formülü (Abbott, 1925) kullanılarak hesaplandı. Sütunların üzerindeki sayılar patojenite değerlerini barlar ise standart sapmayı göstermektedir



Şekil 14. İnokülasyondan sonraki 10 gün içerisindeki *D. micans* erginlerinin ölüm oranı ve mikoz değerleri. Ölüm değerleri Abbott formülü kullanarak hesaplandı. Sutunların üzerindeki sayılar patojenite değerlerini barlar ise standart sapmayı göstermektedir

4. TARTIŞMA

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

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

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

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

Bu olumsuzluğu gidermek ve zararlıyla mücadelede daha etkili bir yöntem ve etmen geliştirmek amacıyla tez çalışmalarına başlandı. Bu kapsamda 2008-2010 yılları arasında bölgenin farklı yerlerinden *D. micans*’a karşı etkili bir mikrobiyal mücadele etmeni bulabilmek için larva ve erginler toplanarak tüm örneklerde entomopatojenik fungus taraması yapıldı. Yaklaşık 120 ağaçtan 430 larva, 400 ergin böcek toplandı. Alınan böcek örneklerinden entomopatojenik fungus izolasyonları yapıldı. Elde edilen fungal izolatların tür tayinleri, karakterizasyonları ve mikrobiyal mücadelede kullanılma potansiyelleri araştırıldı. Fungus izolasyonları sonucunda 4 farklı fungal cinse ait toplam 12 adet fungus bulundu. Elde edilen 12 fungus izolatların ikisinin *Lecanicillium muscarium* (Petch.) Zare ve Gams, ARSEF 9267 ve ARSEF 9268 olduğu belirlendi. Entomopatojenik fungus olan *L. muscarium* (Petch) Zare & Gams, zararlı böcekler ve bitki paraziti fungusları için umut

verici bir biyolojik mücadele etmeni olarak bilinmektedir. Bu tür, başka böcekler olmak üzere farklı ortam ve canlılardan izole edilmiştir (Askary vd., 1998; Askary ve Yarmand, 2007). Bu fungus bazı tarımsal ve orman hastalıkları için önemli bir patojendir (Cuthbertson ve Walters 2005; Cuthbertson vd., 2005; Leal vd., 2008). *Lecanicillium muscarium*, *Bemisia tabaci*, (tatlı patates beyazsineği)'nin en yaygın görülen fungal patojenlerinden biridir (Andrew vd., 2005). *L. muscarium*, *Scolypopa australis*, kivi bahçelerinin önemli bir doğal düşmanıdır (Marshall vd., 2003). *L. muscarium*'un etkisi Karadeniz Bölgesinde yayılım gösteren *Ricania simulans*'a karşı da incelenmiştir (Güçlü vd., 2010).

İzolatların altısı *Isaria farinosa* (ARSEF 9269, ARSEF 9270, ARSEF 9275, ARSEF 9276, ARSEF 9277 ve ARSEF 9278)'dır. Entomopatojenik fungus *Isaria farinosa*, 30 yıldır *Paecilomyces farinosus* olarak bilinmekteydi. Global bir dağılımı ve oldukça geniş bir konak alanı vardı (Meyer vd., 2008; Zimmermann, 2008). Fakat, bu mantar türü *D. micans*'tan ilk defa izole edilmiştir. Bu *Ips typographus* (Böern.) ve *Trypodendron lineatum* (L.) gibi diğer kabuk böceklerinden izole edilmiştir (Wegensteiner, 2007). *I. farinosa*'nın biyokontrol faktörü olarak kullanılması açısından halen bir bilgi yetersizliği bulunmakta ve bu konuda araştırma gerekmektedir. Yalnızca fazla bir şekilde Colorado patates böceği, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) üzerinde test edildi (Zimmermann, 2008).

Elde edilen izolatların ikisi *Fusarium* (ARSEF 9273, ARSEF 9274), cinsine aittir. İzolatlar sadece morfolojilerine bakarak tür düzeyinde belirlenemedi. *Fusarium* cinsine ait cins ve türler birkaç zayıf ve bazı güçlü böcek patojenlerini kapsamaktadır. Bunlar kabuk böceklerinin de dahil olduğu, değişik böcek türlerinden izole edilmiştir (Erbilgin vd., 2008). Hastalıklı yaprak bitlerinden (*Aphis gossypii*) izole edilen *Fusarium semitectum* hedef organizma olarak seçilen *Bombyx mori* (Solucan), *Apis indica* (bal arısı) ve *Eisenia foetida* (solucan) üzerinde test edilmiştir (Mikunthan ve Manjunatha, 2006). *Lymantria obfuscata*'dan (Çingene güvesi) izole edilen *Fusarium pallidroseum* biyolojik mücadele etmeni olarak aynı böcek üzerinde denenmiştir (Munshi vd., 2008). Bu çalışmada, *Fusarium* cinsinden filamentli funguslar *D. micans*'tan ilk kez izole edildi.

İzolatların ikisi ise *Beauveria bassiana* (ARSEF 9271 ve ARSEF 9272)'dır. *B. bassiana* iyi bilinen bir böcek patojenidir ve mikrobiyal mücadele etmeni olarak dünya çapında birçok böcek türünde hastalık ve ölümler gerçekleştirir (Lacey vd., 2001; Goettel vd., 2005; Zimmermann, 2007). *B. bassiana*'nın pek çok kabuk böceğini enfekte edebildiği ve çeşitli orman zararlılarının (özellikle ladin kabuk böcekleri) mücadelesinde iyi bir

potansiyele sahip olduğu bilinmektedir (Jankevica, 2004; Kreutz vd., 2004; Draganova, 2006; Batta, 2007). Aynı zamanda *B. bassiana*'nın, bir başka önemli ladin zararlısı olan *Ips typographus* L.'un kontrolünde de iyi bir potansiyele sahip olduğu ispatlandı (Kreutz vd., 2004).

Seçilen oniki izolat *D. micans*'ın larva ve erginlerini farklı düzeylerde enfekte etmiştir. Ölüm değerleri test edilen izolata ve böceğin gelişim safhasına göre farklılık göstermiştir. Ölüm değerleri bazı izolatlar için %100'lük bir değere ulaşmışken, bazılarında etki derecesi çok düşüktür. *Lecanicillium muscarium* (ARSEF 9267) erginlere karşı *L. muscarium* (ARSEF 9268)'den daha düşük bir ölüm oranına neden olurken, larvalarda, ARSEF 9268 izolat ARSEF 9267'den daha düşük ölüm etkisi gösterdi. *L. muscarium*'um, *Bemisia tabaci* üzerinde yapılan çalışmalarında ise larvalarda daha etkili olduğu bulunmuştur (Andrew vd., 2005). *Ricania simulans*'ın enfeksiyon oranları incelendiğinde yetişkinlere göre nimf evresi daha duyarlıdır (Güçlü vd., 2010).

Isaria farinosa'nın enfeksiyon oranı erginlerde larvalara göre daha fazladır. Hem erginlerde hem de larvalarda en yüksek oran ARSEF 9270 izolatından sağlandı. Fakat, mikoz oranları incelendiğinde çok düşük değerler elde edilmiştir. *I. farinosa* şu sıralar mikrobiyol mücadele etmeni olarak az öneme sahiptir (Zimmermann, 2008). Fakat, *Pissodes punctatus*'a (çam kabuğu-pamukkurdu) karşı oldukça öldürücüdür. *Pissodes punctatus*'ta, Langor ve Zhang, %88'i aşan ölüm oranlarına sahiptir. (Leal vd., 2008).

Fusarium sp. izolatlarının (ARSEF 9273, ARSEF 9274) bu böceğe karşı önemli bir insectisidal etkisi olmadı. Önceki çalışmalarda *Fusarium semitectum*'un, *Menochilus sexmaculatus* (Uğurböceği), *Amblysius ovalis* (Yırtıcı kene) ve *Goniozus nephantidis* (larval parazitoid) üzerinde bir ölüme neden olmadığı bulunmuştur. *Bombyx mori* larvalarını da enfekte etmemiştir (Mikunthan ve Manjunatha, 2006). Munshi vd., (2008), yaptıkları bir çalışmada *Fusarium pallidoroseum*'un *Lymantria obfuscata* üzerindeki insectisidal etkisinin gün ve dozla doğru orantılı bir şekilde arttığını gözlemiştir.

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

kez bu çalışmayla gerçekleştirilmiştir. En yüksek insektisidal etki, hem larva hem de erginlerde *Beauveria bassiana* ARSEF 9271 ve *Beauveria* sp. ARSEF 9272 izolatlarında gözlemlendi. ARSEF 9272 izolatu ARSEF 9271'den farklıdır. Konidium hücreleri oldukça çarpıktı ve *B. bassiana* gibi demet oluşturup, spor topları oluşturacaklarına, çoğunlukla soliterdir. Ayrıca, tüy sapı oldukça uzundu. Önceki çalışmalarımızda, *B. bassiana*'nın *D. micans* larvalarına karşı bir potansiyeli olduğunu belirlenmesine rağmen, erginlere karşı belirlenemedi (Sevim vd., 2010). Fakat, bu tez çalışmasında *Beauveria* izolatlarının hem larvalara hem de erginlere yönelik çok iyi aktiviteye sahip olduğu bulundu.

Önceki çalışmada, *D. micans* larvalarının erginlere oranla fungus enfeksiyonuna karşı daha duyarlı olduğunu belirlenmişti (Sevim vd., 2010). Fakat, bu çalışmada erginlerin larvaya göre daha duyarlı olduğu tespit edildi ($P < 0.05$). Bunun sebebi, her iki çalışmada da değişik fungus türlerinin ve cinslerinin kullanılması ve böceklerin değişik fungus türlerine karşı duyarlılıklarının farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Sonuç olarak, *Dendroctonus micans*'tan izole edilen 12 adet izolat bulundu. Hem larvada hem de erginde Dm-4, Dm-5 ve Dm-6 numaralı izolatların %50'nin üzerinde ölüm ve mikoz oranına sahip olduğu bulundu. Fakat, larva ve erginler üzerindeki ölüm ve mikoz oranları olarak incelendiğinde, en etkili suşun Dm-5 numaralı izolat olduğu tespit edildi. *Beauveria bassiana* ARSEF 9271'in *D. micans*'a karşı iyi bir biyolojik mücadele etmeni olabileceği belirlendi.

5. SONUÇLAR

“*Dendroctonus micans*’tan entomopatojenik fungusların izolasyonu, karakterizasyonu ve mikrobiyal mücadele potansiyellerinin araştırılması” başlıklı bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

1. Trabzon’unu farklı bölgelerinden (Maçka ve Zigana) toplanan 430 ergin, 400 larvadan toplam 12 adet fungus izole edildi.

2. İncelemeler sonucunda erginlerde enfeksiyon oranı %2,7, larvalarda ise enfeksiyon oranı %0,23 olarak belirlendi.

3. *D. micans*’tan ilk kez entomopatojenik fungus izolasyonu yapıldı.

4. İzole edilen fungusların morfolojik ve moleküler teknikler kullanılarak tür tayinleri yapıldı ve izolatların *Lecanicillium muscarium* (ARSEF 9267 ve ARSEF 9268), *Isaria farinosa* (ARSEF 9275, ARSEF 9276, ARSEF 9277 ve ARSEF 9278), *Beauveria bassiana* (ARSEF 9271 ve ARSEF 9272) ve *Fusarium* sp. (ARSEF 9273 ve ARSEF 9274) oldukları belirlendi.

5. Bu izolatlar arasından *Lecanicillium muscarium*, *Isaria farinosa* ve *Fusarium* sp. *D. micans*’tan ilk defa izole edildi.

6. *D. micans* üzerinde ilk kez entomopatojenik fungus deneyleri yapıldı.

7. ARSEF 9271’ in larvalarda ölüm ve mikoz oranı %90, erginlerde ölüm ve mikoz oranı %93, ARSEF 9272’nin ise erginlerde ölüm oranı % 100, mikoz oranı ise %80 olarak belirlendi.

8. Bu sonuçlar ile entomopatojenik fungusların bu bölgede yayılış gösteren *D. micans*’a karşı biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılabilecekleri ortaya konmuştur. Bu hususta *B. bassiana*’nın oldukça etkin olduğu tespit edildi.

6. ÖNERİLER

Bu tezle entomopatojenik funguslar açısından bir çalışma yapılmış olup, elde edilen fungusların *Dendroctonus micans*'a karşı öldürücü etkilerine bakılmıştır. Çalışmanın yaygın etkisini arttırmak için aşağıdaki hususlar dikkate alınabilir.

1. Yüksek öldürücü etkiye sahip olan Dm-5 numaralı izolatın larva ve erginler üzerindeki doz denemeleri yapılabilir.
2. Sıcaklık ve UV gibi fiziksel faktörlerin, Dm-5 numaralı izolatın üzerindeki etkileri belirlenebilir.
3. Çalışma kapsamında elde edilen fungusların, spor çapı veya boyu ve spor şekli, hem kendi aralarındaki hem de benzerleriyle olan filogenetik ilişkileri araştırılabilir.
4. *D. micans* larva ve erginleri arasında yayılış şekilleri araştırılabilir.
5. *D. micans* ile aynı ağaçlarda yaşayan ve diğer önemli ladin kabuk zararlıları olan *Ips sexdentatus* ve *Ips typographus* üzerindeki öldürücü etkileri de belirlenebilir.
6. En yüksek etkiye sahip izolatla enfekte olmuş kütük içerisindeki performansları araştırılabilir.
7. İzolatın *Rhizophagus grandis* üzerindeki etkinliği belirlenebilir.
8. Doğu Karadeniz Bölgesi'nin iklimsel koşulları dikkate alındığında bu çalışmada elde edilen fungusların ticari olarak geliştirilmesine yönelik çalışmalar yapılabilir. Bu amaç doğrultusunda, bu fungusların kitle üretimlerinin yapılması, böceğin doğal ortamında alan uygulamasının yapılması ve ticari preparat haline getirilmesi planlanan çalışmalar arasında yer almaktadır. Böylece, zararlı böcekler ile yapılan kimyasal mücadelenin olumsuz etkileri ortadan kalkacak ve ülke ekonomisine önemli ölçüde katkıda bulunulacaktır.

7. KAYNAKLAR

- Abbott, W., S., 1925. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide, J. Econ. Entomol., 18, 265-267.
- Acatay, A., 1968. A New Pest of Spruce Trees in Turkey, *Dendroctonus micans* Kug, İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi, 18, 18-36.
- Ali-Shtayeh, M., S., Abdel-Basit, M. ve Jamous, R., 2002. Distribution, Occurrence and Characterization of Entomopathogenic Fungi in Agricultural Soil in the Palestinian Area, Mycopathologia, 156, 235-244.
- Alkan, Ş., 1985. Şavşat İşletmesi Ormanlarında *Dendroctonus micans* Kug. (Dev soymuk böceği). Orman Mühendisliği Dergisi, 1, 59-62.
- Alkan, Ş. ve Aksu, Y., 1990. *Rhizophagus grandis* Gyll.'in Üretilmesinde Yeni Bir Metodun Uygulanması Üzerine Araştırmalar, Türkiye II. Biyolojik Mücadele Kongresi, Eylül, Ankara, Bildiriler Kitabı: 173-179.
- Alkan, Ş., 1992. *Dendroctonus micans*'la Savaşın Dünyü, Bugünü, Yarını, Orman Mühendisliği Dergisi, 11, 22-27.
- Andrew, G.S., Cuthbertson ve Keith, F.A., Walters, 2005. 'Pathogenicity of the entomopathogenic fungus, *Lecanicillium muscarium*, against the sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* under laboratory and glasshouse conditions', Mycopathologia, 315-319
- Anonim, 2003. T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü, 2003-2004 Çam Kese Böceği ile Mücadele Eylem Planı, Ankara.
- Askary, H., Carrière, Y., Bélanger, R.R. ve Brodeur, J. 1998. 'Pathogenicity of the Fungus *Verticillium lecanii* to Aphids and Powdery Mildew', Biocontrol Science and Technology, 8, 23-32.
- Askary, H. ve Yarmand, H. 2007. 'Development of the Entomopathogenic Hyphomycete *Lecanicillium muscarium* (Hyphomycetes: Moniliales) on Various Hosts', European Journal of Entomology, 104, 67-72.
- Batta, Y., A., 2007. Biocontrol of Almond Bark Beetle (*Scolytus amygdali* Geurin-Meneville, Coleoptera: Scolytidae) using *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes), J. Appl. Microbiol., 103, 1406-1414.
- Boucias, D.G. ve Pendland, J.C., 1998. Principles of Insect Pathology. Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Brichet, O. ve Severin, G., 1903. Le *Dendroctonus micans*. Dégats, Mayens Préventifs et Destructifs, Bulletin de la Société Centrale Forestière de Belgique 10, 244-261.

- Butt, T.M., Jackson, C.W. ve Magan, N., 2001. Fungi as Biocontrol Agents. CABI Publishing, Wallingford.
- Castrillo, L., A., Roberts. D., W. ve Vandenberg, J., D., 2005. The Fungal Past, Present, and Future: Germination, Ramification, and Reproduction, J. Invertebr. Pathol., 89, 46-56.
- Clarkson, J., M. ve Chamley, A., K., 1996. New Insights into the Mechanisms of Fungal Pathogenesis in Insects, Trends Microbiol., 4, 5.
- Cuthbertson, A.G.S. ve Walters, K.F.A. 2005, 'Pathogenicity of the Entomopathogenic Fungus, *Lecanicillium muscarium*, against the Sweetpotato Whitefly *Bemisia tabaci* under Laboratory and Glasshouse Conditions', Mycopathologia, 160, 315-319.
- Cuthbertson, A.G.S., North, J.P. ve Walters, K.F.A. 2005, 'Effect of Temperature and Host Plant Leaf Morphology on the Efficacy of Two Entomopathogenic Biocontrol Agents of *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae)', Bulletin of Entomological Research, 95, 321-327.
- Çanakcıoğlu, H., 1998. Orman Entomolojisi. İ.Ü. Yayınları, No: 4155, 404s.
- Demirbağ, Z., Nalçacıoğlu, R., Katı, H., Demir, İ., Sezen, K. ve Ertürk, Ö. 2008. Entomopatojenler ve Mikrobiyal Mücadele. Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon.
- Draganova, S., Takov, D. ve Doychev, D., 2006. Bioassay with Isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Paecilomyces farinosus* (Holm.) Brown & Smith against *Ips sexdentatus* Boerner and *Ips acuminatus* Gyll. (Coleoptera: Scolytidae), Plant Sci., 44, 24-28.
- Eilenberg, J., Hajek, A. ve Lomer, C., 2001. Suggestions for Unifying the Terminology in Biological Control, Biocontrol, 46, 387-400.
- Erbilgin, M., Ritokova, G., Gordon, T.R., Wood, D.L. ve Storer, A.J. 2008, 'Temporal Variation in Contamination of Pine Engraver Beetles with *Fusarium circinatum* in Native Monterey Pine Forests in California', Plant Pathology, 57, 1103-1108.
- Eroğlu, M., (1995). *Dendroctonus micans* (Kug.) (Coleoptera, Scolytidae)'ın Popülasyon Dinamiğine Etki Eden Faktörler Üzerine Araştırmalar, I. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi, Ekim, Trabzon, Bildiriler Kitabı: 148-159.
- Eroğlu, M., (1997). Interactions between *Rhizophagus grandis* Gyll. (Coleoptera, Rhizophagidae) and *Dendroctonus micans* (Kug.) (Coleoptera, Scolytidae), pp. 195. XI World Forestry Congress Ekim, Antalya, I, 240.
- Eroğlu, M., Aklan-Akinci, H. ve Keskin, S., 2010. Ladin ormanlarımızda *Dendroctonus micans* (Kugelann)'ın biyolojik mücadelesinde doğal denge. Tabiat ve İnsan, 44, 11-18.

- Ferron P., 1978. Biological Control of Insects by Entomogenous Fungi, Annu. Rev. Entomol., 23, 409-42.
- Fielding, N. J., Evans, H. F., Williams, J. M. ve Evans, B. 1991 a. The distribution and spread of the great European spruce bark beetle, *Dendroctonus micans*, in Britain – 1982 to 1989. *Forestry*, 64, 345-358.
- Fielding, N.J. ve Evans, H.F. 1997. ‘Biological Control of *Dendroctonus micans* (Scolytidae) in Great European Britain’, Biocontrol News and Information, 18, 51-60.
- Fuxa, J., R., 1987. Ecological Considerations for the Use of Entomopathogens in IPM, Annu. Rev. Entomol., 32, 225-51.
- Goettel, M., S., Eilenberg, J. ve Glare, T., 2005. Entomopathogenic Fungi and Their Role in Regulation of Insect Populations. In: *Comprehensive Molecular Insect Science*, Gilbert, L., I., Iatrou, K. ve Gill, S., S. (Ed.), Amsterdam, 361-405.
- Güçlü, Ş., Ak, K., Eken, C., Akyol, H., Sekban, R., Beytut, B. ve Yıldırım, R., 2010. Pathogenicity of *Lecanicillium muscarium* against *Ricania simulans*, Bulletin of Insectology, 243-246
- Hajek, A., E., Humber, R., A., Elkinton, J., S., May, B., Walsh, S., R., A. ve Silver, J., C., 1990. Allozyme and Restriction Fragment Length Polymorphism Analyses Confirm *Entomophaga maimaiga* Responsible for 1989 Epizootics in North American Gypsy Moth Populations, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 6979-6982.
- Hajek, A., E. ve St Leger, R., J., 1994. Interactions Between Fungal Pathogens and Insect Hosts, Annu. Rev. Entomol., 39, 293-322.
- Hajek, A., E. ve Webb, R., E., 1999. Inoculative Augmentation of the Fungal Entomopathogen *Entomophaga maimaiga* as a Homeowner Tactic to Control Gypsy Moth (Lepidoptera: Lymantriidae), Biol. Cont., 14, 11-18.
- Humber, R., A., 1997. Entomopathogenic Fungal Identification. In: *Manual of Techniques in Insect Pathology*, Lacey, L., A. (Ed.), San Diego, 153-185.
- Humber, R., A., 2008. Evaluation of Entomopathogenity in Fungi, J. Invertebr. Pathol., 98, 262-266.
- Ihara, F., Yaginuma, K., Kobayashi, N., Mishiro, K. ve Sato, T., 2001. Screening of Entomopathogenic Fungi against the Brown-Winged Green Bug, *Plautia stali* Scott (Hemiptera: Pentatomidae), Appl. Entomol. Zool., 36, 4, 495-500.
- Jankevica, L., 2004. Ecological Associations between Entomopathogenic Fungi and Pest Insects Recorded in Litvania, Latv. Entomol., 41, 60-65.

- Keller, S., Schweizer, C., Keller, E. ve Brenner, H., 1997. Control of White Grubs (*Melolontha melolontha* L.) by Treating Adults with the Fungus *Beauveria brongniartii*, Biocont. Sci. Technol., 7, 105-116.
- Keskinalemdar, E., 1986. S.S.C.B. Gürcistan Cumhuriyeti Ormanlarında *Dendroctonus micans* ve Buna Karşı Yapılan Biyolojik Mücadele Usulleri, Urla Seminer Notu, İzmir.
- Khobakhidze, D. N., 1965. Some results and prospects of the utilization of beneficial entomophagous insects in the control of insects pest in Georgian SSR (USSR). Entomophaga, 10, 4, 323-330.
- Khobakhidze, D.N., Tvaradze, M.S. ve Kraveishvili, I.K., 1970. Preliminary Results of Introduction, Study of Bioecology, Development of Methods of Artificial Rearing and Naturalization of the Effective Entomophage, *Rhizophagus grandis* NGyll., Against the European Spruce Beetle, *Dendroctonus micans* Kug., in Spruce Plantations in Georgia, Soobshcheniya Akedemii Nauk Gruzinskoi SSR, Bulletin of the Academy of Science of the Georgian SSR, 60, 205-208.
- King, C. J., N. J. Fielding ve T. O'Keefe, 1991. Observations on the life cycle and behavior of the predatory beetle, *Rhizophagus grandis* Gyll. (Col: Rhizophagidae) in Britain. Journal of Applied Entomology, 111, 286-296.
- Klingen, I., Eilenberg, J. ve Meadow, R., 2002. Impact of Farming Systems, Field Margins and Bait Insect on the Findings of Insect Pathogenic Fungi in Soil, Agric. Ecosys. Environ., 91, 191-198.
- Konukçu, M., 2001. Ormanlar ve Ormancılığımız, D.P.T., Yayın No: 2630, Ankara.
- Kreutz, J., Vaupel, O. ve Zimmermann, G., 2004. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the Spruce Bark Beetle, *Ips typographus* L., in the Laboratory under Various Conditions, J. Appl. Entomol., 128, 384-389.
- Lacey, L., A. ve Goettel, M., S., 1995. Current Developments in Microbial Control of Insect Pests And Prospects for The Early 21st Century, Entomophaga, 40, 3-27.
- Lacey, L.A., Frutos, R., Kaya, H.K. ve Vail, P. 2001. 'Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future?', Biological Control, 21, 230-248.
- Leal, I., Alfaro, R.I., Lim, Y.W. ve Kope, H.H. 2008. 'Molecular Characterization of the Entomopathogenic Fungi *Lecanicillium* spp. (Deuteromycota: Hyphomycetes) Isolated from White Pine Weevil, *Pissodes strobi* (Coleoptera: Curculionidae), in British Columbia', The Canadian Entomologist, 140, 168-173.
- Lempérière, G., 1994. Ecology of the Great European Spruce Bark Beetle *Dendroctonus micans* (Kug.), Ecologie, 25, 31-38.

- Marshall, R. K., Lester, M. T., Glare, T. R. ve Christeller, J. T., 2003.- The fungus, *Lecanicillium muscarium*, is an entomopathogen of passionvine hopper (*Scolypopa australis*).- New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 31, 1-7.
- Meyer, J.M., Hoy, M.A. ve Boucias, D.G. 2008. 'Isolation and Characterization of an *Isaria fumosorosea* Isolate Infecting the Asian Citrus Psyllid in Florida', Journal of Invertebrate Pathology, 99, 96-102.
- Mikunthan G. ve Manjunatha M., 2006. 'Pathogenicity of *Fusarium semitectum* against crop pests and its biosafety to non-target organisms', Commun Agric Appl Biol Sci., 465-73.
- Milner, R., J., Soper, R., S. ve Lutton, G., G., 1982. Field Release of an Israeli Strain of the Fungus *Zoopthora radicans* (Brefeld) Batko for Biological Control of *Therioaphis trifolii* (Monell) f. *maculata*, J. Aust. Entomol. Soc., 21, 113-118.
- Munshi, N.A., Hussain, B., Malik, G.N., Müşavir Y. ve Fatima, N., 2008, 'Efficacy of Entomopathogenic Fungus *Fusarium pallidoroseum* (Cooke) Sacc. Against Gypsy Moth (*Lymantria obfuscata* Walker)', Journal of Entomology, 59-61.
- Muro, M., A., Elliott, S., Moore, D., Parker, B., L., Skinner, M., Reid, W. ve Boussini, M., E., 2005. Molecular Characterization of *Beauveria bassiana* Isolates Obtained from Overwintering Sites of Sunn Pests (*Eurygaster* and *Aelia* species), Mycol. Res., 109, 294-306.
- Oğurlu, İ., 2000. Biyolojik Mücadele, Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, Isparta.
- Özcan, G.E., Eroğlu, M. ve Alkan-Akıncı, H. 2006. Pest status of *Dendroctonus micans* (Kugelann) (Coleoptera, Scolytidae) and the effect of *Rhizophagus grandis* (Gyllenhal) (Coleoptera, Rhizophagidae) on the population of *Dendroctonus micans* in The Oriental Spruce Forests of Turkey. Turkish Journal of Entomology, 30, 1, 1-12.
- Roberts, D., W., 1989. Word Picture of Biological Control of Insects by Fungi, Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 84, 89-100.
- Roy, H., E., Steinkraus, D., C., Eilenberg, J., Hajek, A., E. ve Pell, J., K., 2006. Bizarre Interactions and Endgames: Entomopathogenic Fungi and Their Arthropod Hosts, Annu. Rev. Entomol., 51, 331-57.
- Pell, J., K., Eilenberg, J., Hajek, A., E. ve Steinkraus, D., C., 2001. Biology, Ecology and Pest Management Potential of Entomophthorales. In: Fungi as Biocontrol Agents, Butt, T., M., Jackson, J. ve Magan, N. (Ed.), CABI Publishing, Wallingford, UK, 390-10.

- Quesada-Moraga, E. ve Vey, A., 2003. Intra-specific Variation in Virulence and In Vitro Production of Macromolecular Toxins Active Against Locust among *Beauveria bassiana* Strains and Effects of In Vivo and In Vitro Passage on These Factors, Biocont. Sci. Technol., 13, 323-340.
- Selmi, E., 1998. Türkiye Kabuk Böcekleri ve Savaşı. İ.Ü.Yayın No. 4042, İ.Ü.Fen Bilimleri Enstitüsü Yayın No. 11, İstanbul, 196 s.
- Sevim, A., Demir, I., Tanyeli, E. ve Demirbag, Z., 2010. Screening of Entomopathogenic Fungi against the European Spruce Bark Beetle, *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae), Biocont. Sci. Technol., 20, 3-11.
- Sevim, A., 2010. Doğu Karadeniz Bölgesi'nden Entomopatojenik Fungusların İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Virülanslarının Belirlenmesi, Doktora Tezi, KTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Shah, P., A. ve Pell, J., K., 2003. Entomopathogenic Fungi as Biological Control Agents, Appl. Microbiol. Biotechnol., 61, 413-423.
- Soper, R.S., Delyzer, A.J. ve Smith, L.F.R., 1976. The genus *Massospora* entomopathogenic for cicadas. Part 2. Biology of *Massospora levispora* and its host *Okanagana rimosa* with notes on *Massospora cicadina* on the periodical cicadas. Ann. Entomol. Soc. Am. 69, 89-95.
- Steinkraus, D.C., Howard, M.N., Hollingsworth, R.G. ve Boys, G.O., 1999. Infection of sentinel cotton aphids (Homoptera: Aphididae) by aerial conidia of *Neozygites fresenii* (Entomophthorales: Neozygiteaceae). Biol. Cont. 14, 181-185.
- Strasser, H., Vey, A. ve Tariq M., B., 2000. Are There any Risks in Using Entomopathogenic Fungi for Pest Control, with Particular Reference to the Bioactive Metabolites of *Metarhizium*, *Tolypocladium* and *Beauveria* species? Biocont. Sci. Technol., 10, 717-735.
- T.C. Tarım Bakanlığı, 2007. Strategy Development Presidency, East Black Sea Regional Agriculture Infinitive Plan, Ankara, 35.
- URL-1, <http://www.forestryimages.org/images/192x128/1190010.jpg>, 5 Kasım 2010.
- URL-2, <http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/pestrava/denmic/tech/denmice.shtml>, 5 Kasım 2010.
- Vanninen, I. ve Husberg, G., B., 1989. Occurence of Entomopathogenic Fungi and Entomoparasitic Nematodes in Cultivated Soils in Finland, Entomologica Fennica, 53, 65-71.
- Vega, F.E., Dowd, P.F., Lacey, L.A., Pell, J.K. ve Jackson, D.M., 2000. Dissemination of beneficial microbial agents by insects. In: Lacey, L.A., Kaya, H.K. (Eds.), Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology. Kluwer, Dordrecht, 153-177.

- Vouland, G., Giraud, M. ve Schvester, D., 1985. La Période Teneral et l'envol Chez *Dendroctonus micans* Kug. (Coleoptera:Scolytidae). In: "Biological Control of Bark Beetles (*Dendroctonus micans*)" (Grégoire, J.-C., Pasteels, J.M., Eds), Commission of the European Communities, 68-79, Brussels, Belgium.
- Wan, H., 2003. Molecular Biology of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*: Insect-Cuticle Degrading Enzymes and Development of a New Selection Marker for Fungal Transformation, PhD thesis, Combined Faculties for the Natural Sciences and for Mathematics of the Ruperto-Carola University of Heidelberg, Germany.
- Wegensteiner, R., 2007. 'Pathogens in Bark Beetles', in Bark and Wood Boring Insects in Living Trees in Europe, A Synthesis, eds. F. Lieutier, K.R. Day, A. Battisti, J.-C. Gregoire and H.F. Evans, Dortrecht: Springer, 291-313.
- Weseloh, R.M. ve Andreadis, T.G., 1997. Persistence of resting spores of *Entomophaga maimaiga*, a fungal pathogen of the gypsy moth, *Lymantria dispar*. J. Invertebr. Pathol. 69, 195–196.
- White, T., J., Bruns, T., Lee, S. ve Taylor, J., 1990. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In: PCR protocols: a Guide to Methods and Applications, Innis, M., A., Gelfand, D., H., Sninsky, J., J., White, T., J. (Ed.), San Diego, 315–322.
- Yılmaz, H., 2004. *Dendroctonus micans*'ın Bakteriyal Florası ve Mikrobiyal Mücadele Etmenlerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, KTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Yılmaz, H., K. Sezen, H. Katı ve Z. Demirbağ, 2006. 'The first study on the bacterial flora of the European spruce bark beetle, *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae)', Biologia, 61, 6, 679-686.
- Yüksel, B., 1997. Dev Soymuk Böceği (*Dendroctonus micans*)'ın Kitle Üremesi ve Doğal Dengenin Kurulmasında *Rhizophagus grandis*'in rolü. III. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, Kırşehir, Bildiriler Kitabı: 133-142.
- Zimmermann, G., 2007a. Review on Safety of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*, Biocont. Sci. Technol., 17, 553-596.
- Zimmermann, G., 2007b. Review on Safety of the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae*, Biocont. Sci. Technol., 17, 879-920.
- Zimmermann, G., 2008. The Entomopathogenic Fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* Species Complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): Biology, Ecology and Use in Biological Control, Biocont. Sci. Technol., 18, 865-901.

8. EKLER

Ek 1. *Lecanicillium muscarium* Dm-1'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

GGATCATTATCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCTTATGTGAACATACCTAC
TGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCCGGCGTCCGGACGGCCTCGCGCCGCCCGCGG
CCCGGACCCAGGCGGCCGCCGGAGACCTCTAAACTCTGTATTATCAGCATTTT
CTGAATCCGCCGCAAGGCAAAACAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCT
CTTGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAAT
TGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGCA
TTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGACTTCCCTTTGGG
GAAATCGGCGTTGGGGAACGGCAGCATACCGCCGGCCCCGAAATGGAGTGGC
GGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAATCCAACCTCGCACCGGAACCCCGA
CGTGGCCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTTGACCTCGGATCAGGTA
G

Ek 2. *Lecanicillium muscarium* Dm-2'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

TCATTATCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCTTATGTGAACATACCTACTGTT
GCTTCGGCGGACTCGCCCCGGCGTCCGGACGGCCTCGCGCCGCCCGCGGCCCG
GACCCAGGCGGCCGCCGGAGACCTCTAAACTCTGTATTATCAGCATTTTCTGA
ATCCGCCGCAAGGCAAAACAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTG
GTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCA
GAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGCATTCTG
GCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCGACTTCCCTTTGGGGAAAT
CGGCGTTGGGGAACGGCAGCATACCGCCGGCCCCGAAATGGAGTGGCGGCC
GTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAATCCAACCTCGCACCGGAACCCCGACGTGG
CCACGCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAACGTTGACCTCGGATCAGGTAGG

Ek 3. *Isaria farinosa* Dm-3'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

TTGTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTTCAACTCC
CAAACCCTTTTGTGAACATACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCCAGCGTC
CGGCCGGCCCCGCGCCGGCCGCGGCCCTGGATCCAGGCGGCCGCCGGAGACCC
CCAAACTCTGTATTCTCAGTATCTTCTGAATCCGCCGCAAGGCAAAACAAATG
AATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCA
GCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTT
TGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTC
ATTTCAACCCTCGACTTCCCTTTGGGGAAATCGGCGTTGGGGACCGGCCGTATA
CCGCCGGCCCCGAAATGAAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTA
ATCCAACCTCGCACCGGAACCCCGACGTGGCCACGCCGTAAAACCCCGACTTC
TGAACGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAAT

Ek 4. *Isaria farinosa* Dm-4'ün ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

TTGTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTTCAACTCC
CAAACCCTTTTGTGAACATACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCCAGCGTC
CGGCCGGCCCCGCGCCGGCCGCGGCCTGGATCCAGGCGGCCGCGGAGACCC
CCAAACTCTGTATTCTCAGTATCTTCTGAATCCGCCGCAAGGCAAAACAAATG
AATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCA
GCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTT
TGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTC
ATTTCAACCCTCGACTTCCCTTTGGGGAAATCGGCGTTGGGGACCGGCCGTATA
CCGCCGGCCCCGAAATGAAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTA
ATCCAACCTCGCACCGGAACCCCGACGTGGCCACGCCGTAAAACCCCGACTTC
TGAACGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAATTTAAACCATATA

Ek 5. *Beauveria bassiana* Dm-5'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

TGTTCCGTAGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTTCAACTCCCA
AACCCTTATGTGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCCAGCCGGAC
GCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCATCAAACCTCTTGTATTATCAGCAT
CTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAACAAATAAATTAACCTTTCAACAACGGA
TCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTG
AATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCA
GCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCCTCGACCTCCCTTT
GGGGAAGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGAAATGGAGT
GGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAAACCAACTCGCACCGGAACCC
CGACGTGGCCACGCCGTAAAACACCCAACTTCTGAACGTTGACCTCGAATCAG
GTAGGACTACCCGCTGAATTAAGCATATAA

Ek 6. *Beauveria bassiana* Dm-6'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

GGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTTCAACTCCCAAACCCTTATG
TGAACCTACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCCAGCCGGACGCGGACTGG
ACCAGCGGCCCGCCGGGGACCATCAAACCTCTTGTATTATCAGCATCTTCTGAAT
ACGCCGCAAGGCAAAACAAATAAATTAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGC
TCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGA
ATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGCATTCTGGC
GGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCCTCGACCTCCCTTTGGGGAAGTCG
GCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGT
CCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAAACCAACTCGCACCGGAACCCCGACGTGGCC
ACGCCGTAAAACACCCAACTTCTGAACGTTGACCTCGAATCAGGTAGGACTAC
CCGCTGAATTAAGCATATA

Ek 7. *Fusarium* sp. Dm-7'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

TGTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTATTCAACTCA
TCAACCCTGTGAACATACCTAAACGTTGCTTCGGCGGGAATAGACGGCCCCGT
GAAACGGGCCGCCCGCCAGAGGACCCTTAACCTCTGTTTCTATAATGTTTCTT
CTGAGTAAAACAAGCAAATAAATTAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTC
TGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAA

TTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCG
GGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAGGCCCCCGGGCCTGGCGTTG
GGGATCGGCGGAGCCCCCGTGGGCACACGCCGTCCCCCAAATACAGTGGCG
GTCCCGCCGCAGCTTCCATCGCGTAGTAGCTAACACCTCGCGACTGGAGAGCG
GCGCGGCCACGCCGTAAACACCCAACCTCTTCTGAAGTTGACCTCGAATCAGG
TAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATG

Ek 8. *Fusarium* sp. Dm-8'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

TGTTCCGTAAGGGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTATTCAACTCA
TCAACCCTGTGAACATACCTAAACGTTGCTTCGGCGGGAATAGACGGCCCCGT
GAAACGGGCGCCCCCGCCAGAGGACCCTTAACCTCTGTTTCTATAATGTTTCTT
CTGAGTAAAACAAGCAAATAAATTAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTC
TGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAA
TTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCG
GGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAGGCCCCCGGGCCTGGCGTTG
GGGATCGGCGGAGCCCCCGTGGGCACACGCCGTCCCCCAAATACAGTGGCG
GTCCCGCCGCAGCTTCCATCGCGTAGTAGCTAACACCTCGCGACTGGAGAGCG
GCGCGGCCACGCCGTAAACACCCAACCTCTTCTGAAGTTGACCTCGAATCAGG
TAGGAATACCCGCTAAACTTAAGCATAAA

Ek 9. *Isaria farinosa* Dm-9'un ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

TGTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTTCAACTCCC
AAACCCTTTTGTGAACATACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCCAGCGTCC
GGCCGGCCCCCGCGCCGGCCGCGGCCTGGATCCAGGCGGCCGCGCGGAGACCCC
CAAACCTCTGTATTCTCAGTATCTTCTGAATCCGCGCAAGGCAAAACAAATGA
ATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTT
GAACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCA
TTTCAACCCTCGACTTCCCTTTGGGGAAATCGGCGTTGGGGACCGGCCGTATAC
CGCCGGCCCCGAAATGAAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAA
TCCAACCTCGACCGGAACCCCGACGTGGCCACGCCGTAAACCCCGACTTCT
GAACGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATA

Ek 10. *Isaria farinosa* Dm-10'un ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

TTGTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTTCAACTCC
CAAACCCTTTTGTGAACATACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCCAGCGTC
CGGCCGGCCCCGCGCCGGCCGCGGCCTGGATCCAGGCGGCCGCGGAGACCC
CCAAACTCTGTATTCTCAGTATCTTCTGAATCCGCGCAAGGCAAAACAAATG
AATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCA
GCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTT
TGAACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTC
ATTTCAACCCTCGACTTCCCTTTGGGGAAATCGGCGTTGGGGACCGGCCGTATA
CCGCCGGCCCCGAAATGAAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTA
ATCCAACCTCGACCGGAACCCCGACGTGGCCACGCCGTAAACCCCGACTTC
TGAACGTTGACTTCGGATCAGGTAGGATTACCCGCTGAATTTAAACTTATACTT
CTAAACCCTTGGGGCAAGC

Ek 11. *Isaria farinosa* Dm-11'in ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

TGTTCCGTAAGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTTCAACTCCC
 AAACCCTTTTGTGAACATACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCCAGCGTCC
 GGCCGGCCCCGCGCCGGCCGCGGCCTGGATCCAGGCGGCCGCCGGAGACCCC
 CAAACTCTGTATTCTCAGTATCTTCTGAATCCGCCGCAAGGCAAAACAAATGA
 ATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGTTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAG
 CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTT
 GAACGCACATTGCGCCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCA
 TTTCAACCCTCGACTTCCCTTTGGGGAAATCGGCGTTGGGGACCGGCCGTATAC
 CGCCGGCCCCGAAATGAAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAA
 TCCAACTCGCACCGGAACCCCGACGTGGCCACGCCGTAAAACCCCGACTTCT
 GAACGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATA

Ek 12. *Isaria farinosa* Dm-12'nin ITS1-5.8S-ITS2 Gen Bölgesinin Baz Sırası

GGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTTCAACTCCCAAACCCTTTTG
 TGAACATACCTATCGTTGCTTCGGCGGACTCGCCCCAGCGTCCGGCCGGCCCC
 GCGCCGGCCGCGGCCTGGATCCAGGCGGCCGCCGGAGACCCCCAAACTCTGTA
 TTCTCAGTATCTTCTGAATCCGCCGCAAGGCAAAACAAATGAATCAAAACTTT
 CAACAACGGATCTCTTGTTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT
 AAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATT
 GCGCCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCG
 ACTTCCCTTTGGGGAAATCGGCGTTGGGGACCGGCCGTATACCGCCGGCCCCG
 AAATGAAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAATCCAACTCGCA
 CCGGAACCCCGACGTGGCCACGCCGTAAAACCCCGACTTCTGAACGTTGACC
 TCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATG

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında İstanbul’da doğdu. İlkokulu 1990–1995 yılları arasında Gebze Osman Gazi İlköğretim Okulu’nda, Ortaokulu 1995–1998 yılları arasında Gebze İnönü İlköğretim Okulu’nda ve liseyi 1998–2002 yılları arasında Gebze Anibal Anadolu Lisesi’nde tamamladı. 2003–2004 Eğitim–Öğretim yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde lisans öğrenimine başladı. 2008 yılında bu bölümden mezun oldu. Aynı yıl Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Aralık 2010’da Yüksek lisans öğrenimini tamamladı. Orta derecede İngilizce bilmektedir.