



T. C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KURU MEYVE GÜVESİ (*Plodia interpunctella* (HÜBNER),
LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)'NİN PROTİST
PATOJENLERİNİN TESPİTİ, KARAKTERİZASYONU,
DAĞILIMI VE BİYOLOJİK MÜCADELEDE
KULLANILMA POTANSİYELLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

TUĞBA SAĞLAM GÜVENDİK

DOKTORA TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

ORDU 2024

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre; bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içерdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Tuğba SAĞLAM GÜVENDİK

Bu tez, 118O980 numaralı Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 1001 projesi ile desteklenmiştir.

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

KURU MEYVE GÜVESİ (*Plodia interpunctella* (HÜBNER), LEPİDOPTERA: PYRALİDAE)'NİN PROTİST PATOJENLERİNİN TESPİTİ, KARAKTERİZASYONU, DAĞILIMI VE BİYOLOJİK MÜCADELEDE KULLANILMA POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Tuğba SAĞLAM GÜVENDİK

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ, 113 SAYFA

(TEZ DANIŞMANI: Prof. Dr. Ömer ERTÜRK)

Bu doktora tez çalışmasında, ülkemizde önemli bir depo zararlısı olan Kuru Meyve Güvesi (*Plodia interpunctella*, (Lepidoptera; Pyralidae)'ne karşı zararının, ülkemizdeki farklı coğrafik popülasyonlarında mevcut olan insektisidal etkisi yüksek entomopatojenlerin tespiti, izolasyonu, karakterizasyonu, çeşitliliği, popülasyonlardaki 5 yıl süre boyunca (2019-2023 yılları) dağılımının belirlenmesi ile mevsimsel olarak patojen yoğunluğu tespit edilerek, protist entomopatojenlerin kuru meyve güvesi üzerindeki insektisidal etkilerinin laboratuvar koşullarındaki etkileri detaylı olarak ilk kez araştırılmıştır.

Çalışma boyunca Türkiye'de ki 14 farklı lokaliteden toplanan örnekler makroskopik ve mikroskopik olarak protist patojenler varlığı açısından incelenerek Geçirimli Elektron Mikroskopu (TEM) çalışmaları ile de ultrastrüktürel özellikleri aydınlatılmıştır. Tespit edilen patojenlerden DNA izolasyonu ve moleküler çalışmalar yapılarak fiogenetik analizleri yapılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre 14 ilin 8'inde Neogregarine patojen, 14 ilin 4'ünde Coccidian patojen ve 14 ilin 12'sinde de Mikrosporidian patojeni tespit edilmiştir. Özellikle protist patojenler; neogregarin *Mattesia dispora* ve mikrosporidian *Vairiomorpha plodiae* isolate TR *P. interpunctella*'da daha yaygın olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Tespit edilen Coccidian patojen *Adelina mesnili* Türkiye'deki *P. interpunctella* popülasyonlarından elde edilen ilk *Adeleid* Coccidian kaydı olması nedeni ile oldukça önemlidir.

Bioassay denemeleri için farklı konsantrasyonlarda hazırlanan protist patojen solüsyonları kullanılmıştır. Özellikle *Vairiomorpha plodiae* isolate TR ve *Mattesia dispora*'nın *P. interpunctella*'ya karşı oldukça yüksek virülas etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Mevsimsel olarak patojen yoğunluğu incelendiğinde ise, *V. plodiae* isolate TR ve *M. dispora*'nın yılın her mevsiminde *P. interpunctella*'yı enfekte ettiği ve *P. interpunctella*'nın tüm yaşam evrelerinde (larva, pupa ve ergin) enfeksiyon oluşturdukları tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyolojik Mücadele, Depo Zararlısı, Entomopatojen, *Plodia interpunctella*

ABSTRACT

DETECTION, CHARACTERIZATION AND DISTRIBUTION OF PROTIST PATHOGENS OF INDIAN

**MEAL MOTH (*Plodia interpunctella* (HÜBNER), LEPIDOPTERA:
PYRALIDAE) AND INVESTIGATION OF ITS POTENTIAL FOR
BIOLOGICAL CONTROL**

Tuğba SAĞLAM GÜVENDİK

**ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED
SCIENCES**

MOLECULAR BIOLOGY AND GENETIC

PHD THESIS, 113 PAGES

(SUPERVISOR: Prof. Dr. Ömer ERTÜRK)

In this doctoral thesis, the identification, isolation, characterization, diversity, and distribution over a five-year period (2019-2023) of entomopathogens with high insecticidal efficacy against the Indian Meal Moth (*Plodia interpunctella*, (Lepidoptera; Pyralidae)), an important storage pest in our country, have been investigated in different geographical populations. By determining the seasonal pathogen density, the insecticidal effects of protist entomopathogens on the Indian Meal Moth under laboratory conditions have been comprehensively studied for the first time.

Throughout the study, samples collected from 14 different localities in Turkey were examined macroscopically and microscopically for the presence of protist pathogens, and their ultrastructural characteristics were elucidated using Transmission Electron Microscopy (TEM) studies. DNA isolation and molecular studies were conducted on the identified pathogens, and phylogenetic analyses were performed. According to the study results, Neogregarine pathogens were found in 8 of the 14 provinces, Coccidian pathogens in 4 of the 14 provinces, and Microsporidian pathogens in 12 of the 14 provinces. Particularly, the protist pathogens Neogregarine *Mattesia dispora* and Microsporidian *Vairiomorpha plodiae* isolate TR were found to be more commonly present in *P. interpunctella*. The identified Coccidian pathogen *Adelina mesnili* is significant as it represents the first record of Adeleid Coccidian obtained from *P. interpunctella* populations in Turkey.

Protist pathogen solutions prepared in different concentrations were used for bioassay trials. It was found that *V. plodiae* isolate TR and *M. dispora* exhibited a particularly high virulent effect against *P. interpunctella*. When examining the seasonal pathogen density, it was determined that *V. plodiae* isolate TR and *M. dispora* infected *P. interpunctella* in every season of the year and caused infections in all life stages of *P. interpunctella* (larva, pupa, and adult).

Keywords: Biological Control, Entomopathogen, *Plodia interpunctella*, Stored Product

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinde, çalışmalarımın yürütülmesinde ve tezimin yazım aşamasında desteklerinden dolayı başta danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ömer ERTÜRK'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte, hem jüri üyemde yer alıp hem de doktora eğitimim boyunca desteğini ve yardımlarını hiç bir zaman esirgemeyip, her zaman destek olarak kıymetli bilgilerini benimle paylaşan çok kıymetli hocam, Sayın Prof. Dr. Mustafa YAMAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, beni bu yolda hiçbir zaman yalnız bırakmayarak her zaman destekleri ile hep yanımdayı olan, sevgili ailem, eşim İmdat GÜVENDİK'e, annem Kamile SAĞLAM'a ve abim Ferhat SAĞLAM'a çok teşekkür ederim.

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 118O980 Numaralı proje ile desteklenmiştir. Projeye verdiği destekten ötürü TÜBİTAK'a teşekkürlerimizi sunarız.

Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından sağlanan TÜBİTAK 2211-A Yurt İçi Lisansüstü Burs Programına da vermiş oldukları destek için teşekkürlerimi sunarım.

*2019 yılında Hakk'a kavuşan
Merhum, canım babam Baki SAĞLAM'a ...*

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BİLDİRİMİ.....	I
ÖZET.....	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİL LİSTESİ.....	VII
ÇİZELGE LİSTESİ.....	IX
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ.....	X
EKLER LİSTESİ.....	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	9
2.1 <i>Plodia interpunctella</i> (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae).....	9
2.1.1 Tanımı ve Biyolojisi.....	10
2.1.2 Zarar Şekli, Ekonomik Önemi ve Yayılışı.....	14
2.1.3 Doğal Düşmanları ve Etkinlikleri	16
2.1.4 Mücadele Yöntemleri.....	16
2.1.4.1 Kimyasal Mücadele.....	16
2.1.4.2 Fiziksel Mücadele	17
2.1.4.3 Biyoteknik Mücadele	19
2.1.4.4 Biyolojik Mücadele.....	21
2.2 Entomopatojenler Hakkında Genel Bilgiler.....	22
2.3 Protist Entomopatojenler Hakkında Genel Bilgiler	23
2.3.1 Mikrosporidia.....	23
2.3.2 Apicomplexa	26
2.3.2.1 Gregarinia.....	26
2.3.2.1.1 Eugregarinida	26
2.3.2.1.2 Neogregarinida.....	27
2.3.2.2 Coccidia.....	28
3. MATERİYAL ve YÖNTEM.....	29
3.1 Materyal	29
3.1.1 <i>Plodia interpunctella</i> Örneklerinin Elde Edilmesi.....	29
3.2 Yöntem.....	30
3.2.1 Makroskobik Çalışmalar	30
3.2.2 Mikroskobik Çalışmalar	31
3.2.2.1 Işık Mikroskopu Çalışmaları	31
3.2.2.2 Giemsa Boyama	32
3.2.2.3 Elektron Mikroskopu Çalışmaları	32
3.2.2.3.1 Fiksasyon, Dehidrasyon, Rezine Gömme ve Boyama	33
3.2.3 Entomopatojen Protistlerin Tespiti	34
3.2.4 Moleküler Çalışmalar.....	34
3.2.4.1 Genomik DNA İzolasyonu.....	35
3.2.4.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (rDNA amplifikasyonu)	35
3.2.4.3 Filogenetik Çalışmalar	36
3.2.5 Tespit Edilen Protistlerin İnsektisidal Etkinliğinin Belirlenmesi (=Virülans Testleri).....	37

4. BULGULAR ve TARTIŞMA	40
4.1 <i>Plodia interpunctella</i> 'da Tespit Edilen Mikrosporidia Patojeni	40
4.1.1 Mikrosporidium Patojeninin Karakterizasyonu	43
4.1.2 Mikrosporidium Patojeninin Filogenisi	43
4.1.3 Mikrosporidium <i>Vairimorpha plodiae</i> isolate TR'nin İnsektisidal Etkinliğinin Belirlenmesi.....	49
4.1.4 <i>Vairimorpha plodiae</i> isolate TR'nin Popülasyonlardaki Varlığı ve Dağılımı..	53
4.2 <i>Plodia interpunctella</i> 'da Tespit Edilen Neogregarine Patojeni	64
4.2.1 Neogregarine <i>Mattesia dispora</i> 'nın İnsektisidal Etkinliğinin Belirlenmesi	66
4.2.2 Neogregarine <i>Mattesia dispora</i> 'nın Popülasyonlardaki Varlığı ve Dağılımı ...	70
4.3 <i>Plodia interpunctella</i> 'da Tespit Edilen Coccidian Patojeni.....	77
4.3.1 Coccidian <i>Adelina mesnili</i> 'nin Popülasyonlardaki Varlığı ve Dağılımı.....	79
4.4 <i>M. dispora</i> ve <i>A. mesnili</i> 'nin <i>P. interpunctella</i> Poülasyonlardaki Varlığı ve Dağılımı.....	81
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	83
6. KAYNAKLAR	90
EKLER	107
ÖZGEÇMİŞ	109

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 <i>Plodia interpunctella</i> Hayat Döngüsü	11
Şekil 2.2 <i>Plodia interpunctella</i> Yumurtası	11
Şekil 2.3 <i>Plodia interpunctella</i> Larvası	12
Şekil 2.4 <i>Plodia interpunctella</i> Pupa Evresi	13
Şekil 2.5 <i>Plodia interpunctella</i> Erginleri	14
Şekil 2.6 <i>Plodia interpunctella</i> Bulaşmış Bazı Besinler.....	14
Şekil 2.7 Mikrosporidia Hayat Döngüsü ve Spor Yapısı.....	25
Şekil 2.8 Eugregarinida Hayat Döngüsü.....	27
Şekil 3.1 <i>P. interpunctella</i> Yetiştirme Kabı.....	29
Şekil 3.2 Makroskobik İncelemeler Sonucunda Protist Enfeksiyonlarından Süphenilenen <i>Plodia interpunctella</i> Larvaları	31
Şekil 3.3 TEM Hazırlığında Dehidrasyon İşlemi Aşamaları	34
Şekil 3.4. Fındık Tabletlerin Üretim Aşamaları	39
Şekil 4.1 Tespit Edilen Mikrosporidyum Patojenin Işık Mikroskopu (40x) Görüntüsü	41
Şekil 4.2 Tespit Edilen Mikrosporidyum Patojenin Giemsa Boyalı Görüntüsü.....	42
Şekil 4.3 <i>Plodia interpunctella</i> 'da Tespit Edilen Mikrosporidyum Patojenlerinin Jel Görüntüsü	43
Şekil 4.4 SSUrRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konaklardan İzole Edilen Mikrosporidyum Türleri Arasındaki Filogenetik İlişkiler (Analizde, Kimura 2 Parametre Mesafesi Kullanılarak Maximum Likelihood Method İle Oluşturulmuş ve MEGA.10 Programı İle 1000 Bootstrap İle Değerlendirilmiştir. (Analizde Dış Grup Olarak <i>Trypanosoma congolense</i> Kullanılmıştır)	46
Şekil 4.5 SSUrRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konaklardan İzole Edilen Mikrosporidyum Türleri Arasındaki Filogenetik İlişkiler	48
Şekil 4.6 SSUrRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konaklardan İzole Edilen Mikrosporidyum Türleri Arasındaki Filogenetik İlişkiler	48
Şekil 4.7 Bioassay Denemesinde Kullanan Fındık Tabletler	50
Şekil 4.8 Türkiye'deki <i>P. interpunctella</i> Popülasyonlarında Mikrosporidian Patojen <i>V. plodiae</i> isolate TR Enfeksiyonları	54
Şekil 4.9 Ölü Larvada Tespit Edilen <i>V. plodiae</i> isolate TR Enfeksiyonu.....	56
Şekil 4.10 Canlı Larvada Tespit Edilen <i>V. plodiae</i> isolate TR Enfeksiyonu.....	56
Şekil 4.11 Ölü Erginde Tespit Edilen <i>V. plodiae</i> isolate TR Enfeksiyonu.....	57
Şekil 4.12 Pupa Evresinde Tespit Edilen <i>V. plodiae</i> isolate TR Enfeksiyonu.....	57
Şekil 4.13 <i>V. plodiae</i> isolate TR'nin Ülke Genelindeki Dağılımı	58
Şekil 4.14 2019, 2020, 2021, 2022 ve 2023 Yıllarında Tespit Edilen Toplam <i>V. plodiae</i> isolate TR Enfeksiyonu	59
Şekil 4.15 2019 Yılında Tespit Edilen <i>V. plodiae</i> isolate TR Yoğunluğu	60
Şekil 4.16 2020 Yılında Tespit Edilen <i>V. plodiae</i> isolate TR Yoğunluğu	60
Şekil 4.17 2021 Yılında Tespit Edilen <i>V. plodiae</i> isolate TR Yoğunluğu	61
Şekil 4.18 2022 Yılında Tespit Edilen <i>V. plodiae</i> isolate TR Yoğunluğu	61
Şekil 4.19 2023 Yılında Tespit Edilen <i>V. plodiae</i> isolate TR Yoğunluğu	62
Şekil 4.20 Neogregarine Patojeninin Işık Mikroskopu Görüntüsü	65

Şekil 4.21 Neogregarine Patojeninin TEM Mikroskobu Görüntüsü	65
Şekil 4.22 <i>Mattesia dispora</i> 'nın İnsektisidal Etkinliği İçin Hazırlanmış Olan Bioassay Dizeneği.....	67
Şekil 4.23 Yıl Bazında Ölüm Larvada Tespit Edilen <i>M. dispora</i> Enfeksiyonu	72
Şekil 4.24 Yıl Bazında Canlı Larvada Tespit Edilen <i>M. dispora</i> Enfeksiyonu	72
Şekil 4.25 Yıl Bazında Ölüm Erginde Tespit Edilen <i>M. dispora</i> Enfeksiyonu	73
Şekil 4.26 Yıl Bazında Pupa Evresinde Tespit Edilen <i>M. dispora</i> Enfeksiyonu.....	73
Şekil 4.27 2019, 2020, 2021, 2022 ve 2023 Yıllarında Tespit Edilen <i>M. dispora</i> Enfeksiyonunun İl Bazındaki Değerlendirilmesi	74
Şekil 4.28 2019, 2020, 2021, 2022 ve 2023 Yıllarında Tespit Edilen <i>M. dispora</i> Enfeksiyonu Yoğunluğu.....	74
Şekil 4.29 2019 Yılında Tespit Edilen <i>M. dispora</i> Yoğunluğu	75
Şekil 4.30 2020 Yılında Tespit Edilen <i>M. dispora</i> Yoğunluğu	75
Şekil 4.31 2021 Yılında Tespit Edilen <i>M. dispora</i> Yoğunluğu	75
Şekil 4.32 2022 Yılında Tespit Edilen <i>M. dispora</i> Yoğunluğu	76
Şekil 4.33 2023 Yılında Tespit Edilen <i>M. dispora</i> Yoğunluğu	76
Şekil 4.34 Tespit Edilen Coccidian Patojeni	77
Şekil 4.35 <i>M. dispora</i> ve <i>A. mesnili</i> 'nin <i>P. interpunctella</i> Popülasyonlarındaki Varlığı Ve Dağılımı	82
Şekil 4.36 Ankara, Gaziantep ve Samsun İllerinden İncelenen <i>P. interpunctella</i> Larvalarının <i>V. plodiae</i> isolate TR ve <i>M. dispora</i> ile Enfekte Hali	82

ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1 Türkiye Geneli Sektörel Bazda İhracat Değerleri	3
Çizelge 1.2 Türkiye Geneli Kuru Meyve İhracatı	4
Çizelge 1.3 Dünya Fındık İhracatı	4
Çizelge 2.1 Kuru Meyve Zararlıları.....	9
Çizelge 2.2 Depolanmış Ürünlerde Zararlı Böceklerin Sıcaklığa Tepkileri.....	19
Çizelge 2.3 Biyolojik ve Biyoteknik Yöntemlerden Bazıları	20
Çizelge 3.1 <i>P. interpunctella</i> Popülasyonlarının Örnekleme Yerleri ve Tarihleri	30
Çizelge 3.2 Protist Mikrosporidia Entomopatojeninin rDNA Amplifikasyonunda Kullanılan Primer	35
Çizelge 4.1 Tespit Edilen Mikrosporidium Patojeninin Filogenetik Analizinde Kullanılan SSU rDNA Dizileri ve Genbank Erişim Numaraları	44
Çizelge 4.2 <i>Vairimorpha plodiae</i> isolate TR'nin <i>P. interpunctella</i> 'nın 1. ve 2. İnstar Larvaları Üzerindeki İnsektisidal Etkinliği.....	51
Çizelge 4.3 <i>Vairimorpha plodiae</i> isolate TR'nin <i>P.interpunctella</i> 'nın 3. İnstar Larvaları Üzerindeki İnsektisidal Etkinliği	51
Çizelge 4.4 <i>Vairimorpha plodiae</i> isolate TR'nin <i>P. interpunctella</i> 'nın Son Dönem İнстar Larvaları Üzerindeki İnsektisidal Etkinliği.....	51
Çizelge 4.5 <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> ve <i>V. plodiae</i> isolate TR'nin 2. ve 3. İнстar Larvalarındaki İnsektisidal Etkinliğinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Konsantrasyonlar.....	52
Çizelge 4.6 <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> ve <i>V. plodiae</i> isolate TR'nin 4. ve Son Dönem İnstar Larvalarındaki İnsektisidal Etkinliğinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Konsantrasyonlar.....	52
Çizelge 4.7 <i>P.interpunctella</i> popülasyonlarında Tespit Edilen <i>V. plodiae</i> isolate TR Varlığı.....	54
Çizelge 4.8 <i>P.interpunctella</i> 'nın Farklı Yaşam Evrelerinde <i>V. plodiae</i> isolate TR Oluşumu	55
Çizelge 4.9 <i>Mattesia dispora</i> 'nın 2.-3. İnstar Larvaları Üzerindeki İnsektisidal Etkinliği Belirlenmesi İçin Hazırlanan Deney Düzeneği	68
Çizelge 4.10 <i>Mattesia dispora</i> 'nın Farklı Konsantrasyonlardaki Yoğunlıklarının İnsektisidal Etkinliği Belirlenmesi İçin Hazırlanan Deney Düzeneği	69
Çizelge 4.11 <i>P.interpunctella</i> Popülasyonlarında Tespit Edilen <i>M. dispora</i> Varlığı...71	71
Çizelge 4.12 <i>P.interpunctella</i> 'nın Farklı Yaşam Evrelerinde <i>M. dispora</i> Oluşumu...71	71
Çizelge 4.13 Böcekleri Enfekte Eden <i>Adelina</i> Türleri ve Morfolojik Özellikleri	78
Çizelge 4.14 <i>P.interpunctella</i> Popülasyonlarında Tespit Edilen <i>A. mesnili</i> Varlığı.. 80	80
Çizelge 4.15 <i>P.interpunctella</i> 'nın Farklı Yaşam Evrelerinde <i>A. mesnili</i> Oluşumu ... 80	80

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
BLAST	The Basic Local Alignment Searc Tool= Temel Yerel Hizalama Arama Aracı
Br	Brom
CaCl₂	Kalsiyum klorür
C°	Santigrat derece
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DnaSP	DNA Sequence Polymorphism
EtBr	Etidyum bromür
g	Gram
KCL	Potasyum kolrür
kGy	kiloGray
M	Molar
MB	Metil Bromid
MeBr	Metil Bromid
ML	Maksimum Likelihood
ml	Mililitre
mm	Milimetre
NaCL	Sodyum klorür
NaHCO₃	Sodyum bikarbonat
NCBI	National Center for Biotechnology Information= Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
nm	Nanometre
OsO₄	Osmiyum tetroksit
PCR	Polymerase Chain Reaction
PH₃	Fosfin
pH	Power of hydrogen
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
rpm	Rate Per Minute
rDNA	Rekombinant DNA
TEM	Geçirimli elektron mikroskopu
UV	Ultraviyole
μm	Mikrometre

EKLER LİSTESİ

Sayfa

- EK 1.** 16S SSU rRNA genine göre analizlerde kullanılan örneklerin baz farklılıklarını
(Pairwise Distance Analizi) 108

1. GİRİŞ

Depo ürünlerinin bir zararlısı olarak bilinen böcekler, bulaştıkları ürünlerden beslenerek hem doğrudan hem de dolaylı şekilde o besinlere zarar vermektedir. Ayrıca, zararının çıkardığı gömlek kalıntıları, pislikleri ve salgıladıkları ağımızı maddeler ürünlerin nitelik değerlerini ciddi derecede olumsuz etkileyerek besin kalitesini bozmaktadır. Kontaminasyonun yoğun olarak gözlemlendiği ürünlerde ise; küflenme, kokuşma ve ürünlerin bozulması gibi durumlar ortaya çıkmaktadır. Tüm bu zararlara ek olarak, kontamine ürünlerin tüketilmesi de insan sağlığı üzerinde ciddi derecede olumsuz etkilere sebep olmaktadır. Bu şekilde enfekte olan ürünlerin tüketilmesi sonucu, özellikle solunum yollarında alerji, kaşıntı, astım, iştahsızlık, gelişim bozukluğu gibi belirtiler ile birlikte bakteriyel kaynaklı enfeksiyonlar da görülebilmektedir. Tüm bunlara ek olarak, bu böceklerin kemik hastalıkları, şerit ve veba gibi hastalık unsurlarını de taşıdıkları bildirilmiştir (Boxall, 2001; Anonim, 2014).

Dünyadaki nüfusun artışı ile birlikte, yeterli ve dengeli beslenebilmek amacıyla ihtiyaç duyulan sağlıklı besin maddelerinin Uluslararası Gıda Standartları Komisyonu kriterlerine uygun hale getirilmesi günümüzün en önemli sorunlarından biri haline gelmiştir. Ülkemizin durumu göz önüne alındığında ise, kullanılabilir tarım alanları nüfus artışına paralel olarak artmamakta, aksine her geçen gün azalmaktadır. Bu nedenle hem birim alandan elde edilen ürün miktarının arttırılması hem de üretimden tüketime kadar ürünün uygun bir şekilde korunması oldukça önem arz etmektedir (Ferizli ve Emekçi, 2014; Güngör, 2014).

Tarımsal ürünlerin kalitesi; hem hasat sırasında hem de hasattan hemen sonra saklanma ve depolanma durumlarında en yüksek seviyede olmalıdır. Eğer tarımsal ürün, doğru zamanda kalitesi bozulmadan tüketiciye ulaştırılamıyor ise, ürünün hasat sonrasında aynı kalitede saklanabilmesi için depo koşullarının da uygun bir şekilde sağlanması gerekmektedir (Bengtsson ve Hagen, 2008). Depolama ise tanım olarak, hasat edilen çeşitli tarımsal ürünlerin belirli süreler için istenilen koşullarda nicelik ve niteliklerinden değer kaybetmeden saklanmasıdır (Rehman, 2006; Kibar ve Öztürk, 2010; Korku, 2019).

Günümüzde kullanılan depolama yöntemleri; toprak altındaki kuyularda saklama, toprak üstü yığınlar ve çuval içerisinde depolama gibi ilkel yöntemlerle birlikte silo yöntemi olarak bilinmektedir. Silolar, betonarme veya metalden de yapılabildiği gibi günümüzde ise oldukça yaygın bir şekilde çelik silolar kullanılmaktadır (Yücel, 1982; Yetkin ve Atakan, 2022).

Depolanmış ürün zararlısı olarak bilinen böcekler; Baklagil Tohum Böcekleri, Depolanmış Hububat ve Mamüllerinin Zararlıları, Kuru Meyve Zararlıları, Mısır Depo Zararlıları, Patates Güvesi ve Tütün Depo Zararlıları olmak üzere altı grupta toplanmaktadır (TAGEM, 2008). İklim şartlarının elverişli hale gelmesi ile birlikte bu zararlılar neredeyse her yere yayılabilir ve böylece popülasyon yoğunluklarını artırarak salgınlara sebep olabilirler. Tüm bunlara ek olarak, depo ürünlerine zarar veren çoğu böcek türünün tropik ya da yarı tropik kökenli olduğu ve böylece dünyanın her bölgесine ticaret aracılığı ile yayılabilen de bildirilmiştir (Anonim, 2014).

Depolanmış ürünlerde; böcek, kemirgenler ve mikroorganizmalar tarafından kalite ve kantite yönünden her sene yaklaşık %10'a yakın kayıplar meydana gelmektedir (Prevett, 1975). Ülkemiz coğrafyası ve iklim koşulları depo zararlılarının gelişmesine elverişli ortamlar sağlamaktadır. Ambarlardaki zararlı böcekler tahılların hem kokusunda değişikliğe hem de tadında bozukluğa sebep olarak ürün kalitesini olumsuz etkilemektedir (Usta, 2021). Dünya geneline bakıldığından ise depolanmış ürünlerde böcekler tarafından oluşan ürün kayıplarının yaklaşık %5 civarında olduğu bildirilmiştir (Dizlek ve ark., 2008). Ülkemizde uygun depo şartlarının sağlanamaması halinde bu oranın bazı durumlarda %100'lere kadar çıkabildiği bildirilmiştir (Yıldırım ve ark., 2001; Akar, 2021).

Tahıllarda ise depolama esnasında zararlı böceklerin yaklaşık olarak %10 oranında hasat zararına neden olduğu bildirilmiştir ve %10 oranındaki bu kaybın neredeyse yarısının (%5) zararlı böceklerden meydana geldiği tespit edilmiştir (Ekmekçi ve Ferizli, 2000; Özge, 2013).

Bu kapsamda besinlerin güvenli ve kaliteli bir şekilde depolanmasında rol oynayan faktörler arasında, depolanmış ürün zararlıları oldukça kritik bir öneme sahiptir.

Ülke ekonomisinde sağlıklı ürün ihracatının yapılmasında, tüketicinin gıda kalitesi bozulmamış ürünlerle kolaylıkla ulaşmasında ve üreticinin maliyetinin karşılanması hem sert kabuklu meyvelerin hem de kurutulmuş meyvelerin saklanması, taşınması ve işlemden geçirilme sırasında doğru atmosferik koşulların sağlanması ile birlikte uygun depo şartlarında korunması oldukça önem arz etmektedir (Anonim, 2015; Anonim, 2023b).

Türkiye'nin Kuru Meyve ve Mamulleri ihracatına bakıldığından ise;

2021 yılına göre %0,3 gibi bir oranda artışla, 2022 yılında toplam genel ihracatta %0,6'lık bir paya sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1 Türkiye Geneli Sektörel Bazda İhracat Değerleri (Anonim, 2023a)

Sektörler	2020 (1000 Dolar)	2021 (1000 Dolar)	2022 (1000 Dolar)	Değişim (‘22/’21)	Pay (22) (%)
I. Tarım	24.369.143	29.737.575	34.246.492	15,3	13,5
Kuru Meyve ve Mamülleri	1.399.574	1.574.287	1.576.464	0,3	0,6
II. Sanayi	127.645.230	170.880.410	185.880.772	8,8	73,1
III. Madencilik	4.272.391	5.930.165	6.649.002	9,1	2,5
TOPLAM (TİM*)	156.286.764	206.548.150	226.596.266	9,8	89,1

2022 yılı Türkiye Geneli İhracat toplamına değer bazında bakıldığından ise, 2021 yılına göre 2022 yılında %12,9 gibi bir artışın olduğu (Çizelge 1.1) ayrıca tarım ürünlerinde de %15,3 artış, sanayi ürünlerinde ise %8,8'lük gibi bir artışın olduğu bildirilmiştir. Tarım ve Sanayi sektörü, Türkiye Genel İhracatının yaklaşık olarak %86,6'sını elinde tutmaktadır. Bunun yanında kuru meyve ihracatı %0,3 oranında artış göstererek, genel ihracat kapsamında %0,6 gibi bir oranda yer almaktadır. Türkiye 2022 kuru meyve ihracatı incelendiğinde ise değer değişim miktarı bazında %1, miktar değişim bazında %12 ile çekirdeksiz kuru üzüm ilk sırada yer almaktadır. İkinci sırada ise, değer değişim miktarı bazında %16 miktar değişim bazında %-15 ile kuru kayısı, üçüncü sırada ise değer değişim miktarı bazında %-6 16 miktar değişim bazında %-1 ile kuru incir gelmektedir (Çizelge 1.2) (Anonim, 2023a). Ek olarak, dünyada her yıl neredeyse yaklaşık olarak 125-160 bin ton kuru kayısı ihracatı yapıldığı bilinmektedir. Bu ihracatında yaklaşık olarak %55-75'inin Türkiye tarafından gerçekleştirildiği görülmüştür (FAO, 2022).

Çizelge 1.2 Türkiye Geneli Kuru Meyve İhracatı (Anonim, 2023a)

Ürün Grubu	2021 Yılı Miktar (Ton)	2022 Yılı Miktar (Ton)	Miktar Değişim (%)	Değer Değişim (%)
Kuru Üzüm	227.620	254.020	12	1
Kuru Kayısı	90.197	76.273	-15	16
Kuru İncir	71.032	70.272	-1	-6
Antep Fıstığı	20.204	19.120	-5	-13
Bademler	7.343	8.286	13	12
Cevizler	4.715	3.400	-28	-19
Leblebi	12.647	13.577	7	26
Çamfıstığı	638	406	-36	-52
Kayısı ve Zerdali		4.957	-9	5
Çekirdeği	5.419			
Elma Kurusu	5.490	5.825	6	-5
Erik Kurusu	802	961	20	58
Diger Meyve Kuruları	20.522	19.793	-4	0
Diger Kavrulmuş Meyveler	21.160	21.552	2	2
Genel Toplam	487.789	498.442	2	0

Ülkemizin fındık üretimi ve ihracatına bakıldığından ise, Türkiye dünyadaki fındık üretiminde öncü durumundadır ve 2020 yılı FAO verilerine göre de dünyadaki fındık ihtiyacının %61'i Türkiye'den karşılanmıştır. Türkiye'nin dünya fındık ihracatında %56'lık payla lider olduğu bilinmektedir. Dünya genelindeki fındık ihracatına bakıldığından ise 2021 yılında 365 bin ton fındık ihracatı yapılmıştır. Türkiye 204 bin ton ile, fındık üretimi yapan ülkeler arasında ilk sırada yer alırken, ülkemizi 39 bin ton fındık üretimi yapan İtalya ikinci, 28 bin ton üretim ile de ABD üçüncü sırada takip etmektedir (Anonim, 2023b) (Çizelge 1.3).

Çizelge 1.3 Dünya Fındık İhracatı (Anonim, 2023b)

Sıra Numarası	Ülkeler	2012	2013	2014	2015	...	2020	2021
1	Türkiye	163	164	148	144	...	157	204
2	İtalya	15	18	19	19	...	26	39
3	ABD	33	29	36	40	...	22	28
4	Gürcistan	16	30	20	19	...	17	24
5	Azerbaycan	10	10	12	12	...	19	19
...
9	İspanya	3	3	3	2	...	7	7
10	Fransa	4	4	5	3	...	4	5
...	Diger	26	20	13	10	...	13	15
Dünya	285	296	276	264	260	...	296	365

Ülkemizde tahıl ürünleri üretim miktarlarına bakıldığında ise, 2021 yılına göre 2022 yılında %21,3'lük artış oranı ile 38.7 milyon ton üretim gerçekleştirildiği bildirilmiştir. Yine benzer şekilde 2021 yılına göre, buğday üretimi 19.8 milyon ton, mısır üretimi 8.5 milyon ton, arpa üretimi 8.5 milyon ton, çavdar üretimi 273 bin ton, yulaf üretimi 365 bin ton artmıştır. Baklagil ürünlerine bakıldığında da, nohut 580 bin ton, kırmızı mercimek 400 bin ton; yumru bitkilerden patates 5.2 milyon ton üretilirken sadece kuru fasulye %11,5 oranında azalarak 270 bin ton üretilmiştir (Anonim, 2022). Bu üretimlerin yanında elde edilen tahıl ürünlerinin doğru bir şekilde depolanması en öncelikli bir gerekliliktir. Depolanmış tahıllar ekonomik değeri oldukça yüksek olan ürünlerdir ve bu ürünlerle zarar vererek bu ürünlerle beslenen zararlı böceklerin ekonomik zarar eşikleri çok düşük olarak bilinmektedir. Tüm bunlara ek olarak, tahılların hasat sonrası depolanmasında zararlı böceklerin ürünlerde önemli ekonomik kayıplara neden olduğu bilinmektedir. Bu yüzden tahılların depo ortamlarının depo zararlılarına karşı etkin ve doğru bir bir şekilde korunması gerekmektedir (Yetkin ve Atakan, 2022).

Ürünlerin kurutulması işleminde bazı meyvelerde renk değişimleri olabilmektedir ve bu ürünler arasında rengi en çok değişikliğe uğrayan meyvelerden biri kayısıdır. Kayısında ortaya çıkan kararma şeklindeki renk değişiklerinin önlenmesi ve böylece kayısının doğal sarı renginin korunması, depo ortamında böcek ve mikroorganizma zararlarından etkilenmesini engellemek amacıyla taze kayıslar kükürtleme işlemine tâbi tutularak kurutulmaktadır. Fakat yüksek dozda ve oranlarda kükürte maruz kalan kuru kayısların bazen ihracatında sıkıntılar ortaya çıkabilmektedir. Böyle durumlarda da ihraç edilen ürünler yurt dışından geri gönderilmekte bu durumda da ülke ekonomisini olumsuz etkilemektedir (Anonim, 2023a).

Fındık üretiminde bazı küçük işletmelerin, ürünlerini muhafaza edebileceği depo şartları olmadığı için, firmaların açıkladığı fiyat üzerinden ürünlerini daha makul bir fiyata satışa sunmak zorunda kalabilmektedirler. Bu durumda üreticilerin maddi olarak olumsuz etkilenmesine sebep olmaktadır. Ayrıca, katı kabuklu meyveler çok fazla çeşit ve sayıda ürün çeşidine sahiptir. Bu yüzden gıda alanında oldukça büyük bir paya sahiptirler. Ancak katı kabuklu meyvelerin aflatoksinle ve kuru meyve

zararlıları ile kontaminasyonu olasılığı uygun depo şartlarının olmamasından dolayı oldukça yüksektir (Anonim, 2023b).

Depolanmış ürünlerin en önemli zararlılarından biri olarak bilinen *P. interpunctella*'nın varlığı Türkiye'nin nerdeyse her bölgesinde ve insanoğlunun tükettiği nerdeyse her besinde saptanmıştır (Yıldırım ve ark., 2014). Coşkuncu (2004), tarafından yapılan bir çalışmada, un fabrikaları ve değirmenlerde zararlı böcek türleri belirlenmiştir. Un fabrikası ve değirmenlerde Haziran-Aralık ayları arasında inceleme yapan araştırmacı buğday, kepek ve döküntülerden örnekler almıştır. Araştırma sonuçlarına göre *P. interpunctella* un fabrikaları ve değirmenlerde ikinci yaygın tür olarak tespit edilmiştir (Kaymakçı, 2022).

Dünya geneli ve Türkiye'de de depo zararlıları ile mücadelede en çok kimyasal mücadele tercih edilmektedir. Kimyasal mücadele yöntemlerinden ise en çok tercih edileni fumigasyondur. Fumigasyon; zararlı organizmaların zehirli bir gaz aracılığı ile öldürülmesi olarak bilinmektedir ve uygulanması esnasında metil bromit (MeBr) ve fosfin (PH_3) yaygın olarak kullanılmaktadır. Türkiye'de ise ilk defa 1987 yılında kullanılmaya başlanılan metil bromidin, 160 ülkenin onay verdiği ve 1991 yılında da Türkiye tarafından kabul edilen Montreal Protokolü'ne göre metil bromidin ozon tabakasını incelterek zarar verdiği, depo ürünlerinde de brom (Br) kalıntısı bıraktığı için kullanımının ve ithalatının azaltılması gereği belirlenmiştir. Böylece, Metil bromid, gelişmiş ülkelerde 2005 yılında gelişmekte olan ülkelerde de 2015 yılında tamamen kullanımdan kaldırılmıştır (UNEP, 1995).

Doktora tez çalışma konusu olan zararlı, Kuru meyve güvesi (*Plodia interpunctella*, (Lepidoptera; Pyralidae)), depolanmış ürünlerin dünya çapında ve ülkemizde ekonomik açıdan en önemli bir zararlısıdır (Kıvan ve Karsavuran, 1991). İster *P. interpunctella* olsun ister diğer depolanmış ürün zararlıları olsun bulaştıkları gıda ürünlerine doğrudan ya da dolaylı bir şekilde zarar vermektedirler. Bunun sonucunda da ürünlerde ağırlık kayıpları, tohumluluk özelliklerinin düşmesi, kalite ve besin değerlerini bozarak ülke ekonomisini olumsuz etkilediği bilinmektedir (Boxall, 2001).

P. interpunctella'nın zarar yaptığı ürünlerin nerdeyse tamamının insanlar tarafından tüketilen gıdalardır. Zararının bulunduğu ortamın kimyasal insektisit ile

ilaçlanmasıının çevreye ve insanlara olan zararlı yan etkilerden dolayı fumigasyon uygulaması uygun görülmemektedir. Ayrıca kuru meyve güvesinin çoğu insektisite direnç gösterdiği de bildirilmiştir (Attia, 1977). Bu etkilerinden dolayı, bu tür zararlılar ile mücadelede çevreye ve hedef dışı organizmalara yan etkisi olmayan çevreci mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi zorunlu hale gelmiştir. Bu yüzden, zararlının ekonomiye verdiği zararı azaltmak ve populasyondaki artışı indirmek ve yok etmek için bir çok alternatif mücadele yöntemi denenmiştir (Malone ve Canning, 1982; Tunç ve ark., 2000; Ayvaz ve ark., 2008, 2010).

P. interpunctella ile mücadelede en ümit verici sonuçlar bu zararlının doğal düşmanlarının kullanıldığı denemelerden elde edilmiştir (Schöller ve Filinn, 2000; Grieshop, 2005; Shojaaddini ve ark., 2012). Zararlının doğal düşmanları arasında biyolojik mücadelede kullanılan organizmalar entomopatojenlerdir. Entomopatojen; böceklerin hastalanmasına ve ölümüne neden olan organizmalardır. Entomopatojen virüsler, entomopatojen bakteriler, entomopatojen protistler, entomopatojen mantarlar ve entomopatojen nematodlar biyolojik mücadelede kullanılan entomopatojen organizmalardır (Yaman, 2012). Entomopatojenler zararlı böceğin beslenmesini, büyümeyi azaltarak üremelerini yavaşlatabilir veya engelleyebilir hatta zararlı böceği öldürebilirler. Ayrıca, entomopatojen kaynaklı enfeksiyonlar, özellikle böcek yoğunluğunun yüksek olduğu durumlarda, böcek populasyonunda doğal bir şekilde çoğalar ve yayılır.

Zararlılar ile en doğal en zararsız kontrol için entomopatojenler kullanılmaktadır. Entomopatojenlerinde en kolay kullanımı, zararlının kendisinden izole edilerek suni/yapay ortamlarda kültürlerinin hazırlanarak uygun yer ve zamanda çevreye dengeli miktarlarda uygulanması ile mümkün olmaktadır (Yaman, 2012; Güngör, 2014). Ayrıca, kullanılan mikroorganizmalar sadece zararlıya mahsus olduğu için yalnızca o canlıyı etkiler, ne insanlara ne de başka canlılara hiç bir zararı yoktur.

Bu doktora tez çalışmasında, zararlı böcekler ile biyolojik mücadelede kullanılan hedef dışı organizmalara yan etkisi bulunmayan protist entomopatojenlerin bu özelliklerinden faydalananarak, ülkemizde önemli bir depo zararlısı olan kuru meyve güvesi *Plodia interpunctella*'ya karşı zararlının ülkemizdeki farklı coğrafik popülasyonlarında mevcut insektisidal etkisi yüksek entomopatojenlerin tespiti,

izolasyonu, karakterizasyonu, çeşitliliği, popülasyonlardaki dağılımının belirlenmesi ile mevsimsel olarak patojen yoğunluğunun tespit edilerek doğal popülasyonlarda tespit edilecek protist entomopatojenlerin kuru meyve güvesi üzerindeki insektisidal etkilerinin laboratuar koşullarında belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Depolanmış ürünlerde zarara sebep olan, genellikle Coleoptera ve Lepidoptera takımında yer alan yüzlerce böcek türü yer almaktadır. Kuru meyve güvesi *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) depolanmış ürünlerde ülke ekonomisine büyük oranda zarar veren zararlılar arasında önemli bir yer teşkil etmektedir (Rees, 2004). Genel olarak kuru meyve zararlıları Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1 Kuru Meyve Zararlıları

Zararlı Adı	Familya
Kuru incir kurdu (<i>Ephestia cautella</i> (Walk.))	Lep.: Pyralidae
Kuru meyve güvesi (<i>Plodia interpunctella</i> (Hubn.))	Lep.: Pyralidae
Kuru üzüm güvesi (<i>Ephestia figuliella</i> (Greg.))	Lep.: Pyralidae
İç findik güvesi (<i>Pralipsa gularis</i> (Zell.))	Lep.: Galleriidae
Ekşilik böcekleri (<i>Carpophilus</i> spp.)	Col.: Nitidulidae
Testereli böcek (<i>Oryzaephilus surinamensis</i> (L.))	Col.: Cucujidae
Kuru meyve akarı (<i>Carpoglyphus lactis</i> (L.))	Acarina: Carpoglyphidae

2.1 *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae)

Plodia interpunctella'nin sistematikteki yeri:

Alem: Animalia (Hayvanlar)

Şube: Arthropoda (Eklembacaklılar)

Alt Şube: Hexapoda

Sınıf: Insecta (Böcekler)

Takım: Lepidoptera (Pulkanatlılar)

Familya: Pyralidae

Altfamilya: Phycitinae

Cins: Plodia

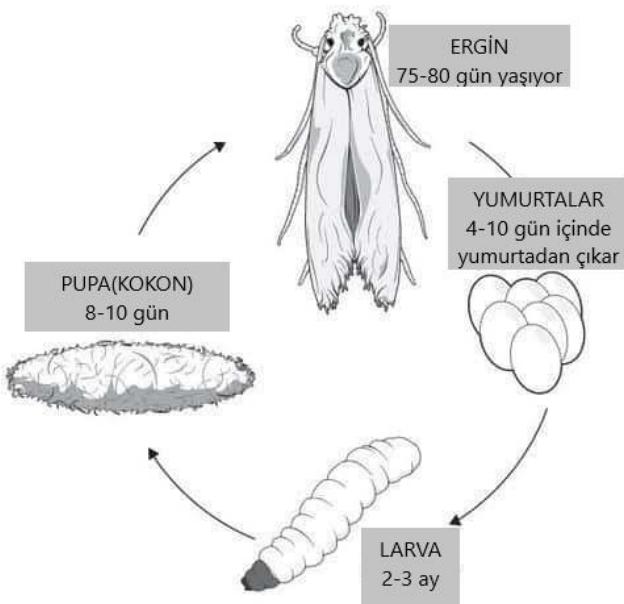
Tür: *Plodia interpunctella* (Hübner)

2.1.1 Tanımı ve Biyolojisi

Plodia interpunctella (Hübner), kuru meyve güvesi, Lepidoptera takımı, Pyralidae familyasına ait Pyralid bir güve olarak bilinmektedir (Güngör, 2014). Depolanmış ürünlerde zarar veren bir kelebek türü olarak bilinen *P. interpunctella*'nın kökeni Güney Amerika'dır ve bu kozmopolit türün yaşamını yıl boyunca sıcak bölgelerde devam ettirdiği bilinmektedir (Mahmood, 2021).

P. interpunctella besin seçiciliği sergilememektedir. Birbirinden farklı bir çok ürünü bulaşabilmektedir ve bu durum yiyecek ve besinlerde kuru meyve güvesi istilalarını kaçınılmaz kılmaktadır. *P. interpunctella* besin tercihi olarak, tahıl ve tahıl ürünleri, kurutulmuş meyveler, süt tozu, mısır unu, buğday unu, kuru üzüm, kuru erik, fındık, fistık, ceviz, badem, şeker, çikolata, kuşyemi, balık yemi, kedi ve köpek mamalarında, bisküvi ve krakerlerde, makarna, kuru kırmızıbiber v.s. gibi çeşitli yiyecek ve besinleri tercih eder (TAGEM, 2008; Güngör, 2014; Mahmood, 2021).

Yumurta, larva, pupa ve ergin evrelerinden oluşan 4 gelişim evresi (Şekil 2.1) ile tam başkalaşım geçiren bir zararlı olan *P. interpunctella* yumurtaları grimsi- kirli beyaz renkli, boyu yaklaşık 0.3.-0.5 mm uzunluğunda ve hafif oval yapıdadır (Baker, 2000; Fasulo ve Knox, 2014) (Şekil 2.2). Genellikle yumurtalar besin üzerine veya yanına bırakılır ve böylece ortaya çıkan larvalar besine doğru ilerleyebilir. Ergin bir *P. interpunctella* yaklaşık olarak 300-400 yumurta bırakma potansiyeline sahiptir (Mohandass ve ark., 2007; Güngör, 2014).



Şekil 2.1 *Plodia interpunctella* Hayat Döngüsü (Anonim, 2024a)



Şekil 2.2 *Plodia interpunctella* Yumurtası (Anonim, 2011)

Elverişli normal ortam sıcaklıklarında yumurtadan larva çıkışı yaklaşık olarak bir hafta sonra olmaktadır. Ancak ortam sıcaklığı, ışık, ortamın nemi ve besin çeşidi gibi faktörler yumurtadan larva çıkış süresini kısaltıp uzatabilmektedir (Nansen ve Phillips, 2003; Argobast, 2007; Güngör, 2014).

Bir böceğin beslenme şekli ve beslendiği besin çeşidi; böceğin gelişimi, ergin haldeki büyülüklüğü ve yumurtadan çıkış zamanı ve yüzdesi üzerinde doğrudan etkisi vardır. Genel olarak çoğu böcek türü, büyümeye ve diğer gelişimleri için gerekli temel besin maddelerini besin aracılığı ile almaktadır. Böcek türlerinin bazı türleri ergin dönemde ihtiyacı olacak olan besin bileşenlerini larva evresinde depo etmektedir (House, 1977; Kaymakçı, 2022).

Yaklaşık olarak 2 ila 14 gün içinde açılan yumurtalardan ince beyaz tırtıl şeklinde larvalar çıkar ve bu larvalar hızlı bir şekilde besin bulmaya yönelir. Larvalar gıda ve besin maddelerinin içine girerek ipeğimsi bir yapı örer veya yapı içerisinde ya da yakınında beslenmeye başlarlar (Yüksel Üstüner, 2006; Oluwafemi ve ark., 2009).

Larvalar kahverengi başlı ve kirli beyaz-pembemsi renktedir fakat larva büyündükçe rengi açılır (Şekil 2.3). Larvalar çok hareketlidir ve pupa evresine girmeden önce 5 gömlek(=instar) değiştirirler. *P. interpunctella* larvalarının besinlerde en zararlı olduğu instar evresi ikinci ve üçüncü instar dönemlerinde gerçekleşir (Baker, 2000; Yüksel Üstüner 2006; Güngör, 2014).



Şekil 2.3 *Plodia interpunctella* Larvası (Anonim, 2006)

Devam eden dördüncü-beşinci gömlek değiştirme dönemlerinde diyapoz gerçekleşir ve böylece gelişme durur ve daha sonra beslenme de durur. Ancak çevresel faktörler (sıcaklık, nem vb.) nedeniyle gelişim daha erken olabilmektedir. Diyapozdan sonra bir diğer gelişim evresi olan pupa evresine geçer. Pupa evresine geçecek olan larva besinden uzaklaşır çevredeki çatlak ve yarıkların içine girerek kokon örer ve pupa haline geçer. Pupa kokon içerisinde, kahverengimsi ve genellikle 6-8 mm boyundadır (Şekil 2.4) (Baker, 2000; Mohandass ve ark., 2007; Güngör, 2014).



Şekil 2.4 *Plodia interpunctella* Pupa Evresi (Anonim, 2019)

Pupadan çıkan ergin bireyin ön kanatlarının dip kısımları genellikle sarı renkli, diğer kısımları ise kırmızımsı kahverengi rengindedir. *P. interpunctella*'nın erginlerinin boyu dinlenme durumunda 8-10 mm arasındadır. Kanat açıklığı ise yaklaşık 16-18 mm'dir. Geriye doğru katlanmış kanatlarına ise tepeden bakıldığından ön kanadın arka kısmında yaklaşık 2/3'lik bir kısmı açık kahverengi rengindedir. Kanadın ön kısımları ise açık grimsi renktedir. Baş ve toraks kırmızımsı kahverengi ve arka kanat grimsi renklidir (Şekil 2.5). Ayrıca, *P. interpunctella* erginleri arasında eşyelsel dimorfizm bulunur. Dişiler genellikle erkeklerine göre daha uzun boyladur ve renkleri de daha koyudur. Gelişme süresinin ise uygun ortam koşullarında genellikle 37-52 gün arasında değişmektedir. Aydın (2019), yapmış olduğu çalışmada, *P. interpunctella*'nın ergin evreye ulaşıcaya kadar geçen gelişme dönemini cevizde 44-72 gün, fındıkta 40-59 gün, mısır ununda 36 gün, yer fistığında ise 41-52 gün sürdüğünü bildirmiştir. Yılda, ortam ısisına göre genellikle 2-5 arasında döl verir (Baker, 2000; Yüksel Üstüner, 2006; TAGEM, 2008; Güngör, 2014).



Şekil 2.5 *Plodia interpunctella* Erginleri (Anonim, 2009)

2.1.2 Zarar Şekli, Ekonomik Önemi ve Yayılışı

Bulaştığı ürünlerde hem hasara hemde besinin kalitesinin bozulmasına sebep olan *P. interpunctella* sadece larva döneminde beslenir ve zararlı olur. Beslenme zamanında ise ipeğimsi ağlar çıkarır ve bu ağları besin maddelerine bulaştırır. Böylece enfekte olduğu üründe yoğun bir biçimde beslenerek ürünlerde ağırlık kaybı, ticari değer kaybı ve tohumluk azalması gibi kayıplara sebep olduğu bilinmektedir (TAGEM, 2008; Kaymakçı, 2022) (Şekil 2.6). Ayrıca, deri atıkları, dışkıları, baş kapsülünden kaynaklı kalıntılar ve çevreye salgıladıkları hoş olmayan koku ile de ürün kalitesini olumsuz etkilerler (Yıldırım ve ark., 2001).



Şekil 2.6 *Plodia interpunctella* Bulaşmış Bazı Besinler

Erginleri ise, çoğunlukla yaz aylarında açık bırakılan kapı aralarından ve yine açık bırakılan pencere aralarından depoların veya evlerin içine girer. Genel olarak paketlenmiş ürünler ile birlikte hem depolara hemde evlere taşınabilirler (Baker, 2000).

P. interpunctella'nın kurutulmuş meyve ve sebzelerde, un ve un mamüllerinde, tahillarda, bakliyatlıarda, kürk ve böcek koleksiyonlarında ve kuru yemişlerde zararlı oldukları bildirilmiştir (Özer, 1957; Yüksel Üstüner, 2006).

Kaya Apak (2022), Malatya ilinde kayısı yetiştirciliğinin yoğun olarak yapıldığı bazı ilçelerindeki kayısı depolarında hem gözlemler yapıp hemde örnekler toplamıştır. Çalışma sonucunda depolanmış kayıslarda sorun oluşturan türler; *P. interpunctella*, Tatlıkurt [*Lasioderma serricorne* Fabricius (Coleoptera; Anobidae)], Ekşilik böceği [*Carpophilus hemipterus* Linnaeus (Coleoptera; Nitidulidae)], Testereli böcek [*Oryzaephilus surinamensis* Linnaeus (Coleoptera; Silvanidae)] ve Kurumeyve akarı [*Carpoglyphus lactis* Linnaeus (Acarina; Carpoglyphidae)] olarak belirlemişlerdir. Araştırmacı Malatya yöresi kuru kayısı depolarında saptanan bu zararlılara karşı mücadele yapılmadığı takdirde, ürünlerde önemli kayıplara neden olabileceğini bildirmiştir. Benzer şekilde tarafımızca yapılan Malatya ili ve Gaziantep ili arazi çalışmalarında bazı kayısı ve Antepfistiği depolarının yoğun bir şekilde *P. interpunctella* ile bulaşık olduğu gözlenmiştir.

Kaplan ve Dilmen (2021), Siirt fistıklarının depolandığı alanlarda ürün kayıplarına yol açan *P. interpunctella*'nın tespit edilmesi ve zarar oranının ortaya çıkarılması amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Araştırmacılar inceledikleri 7 örnekte *P. interpunctella* erginlerini tespit etmişlerdir ve en yüksek zarar oranını %21,7 ile Merkez ilçedeki depoda saptamışlardır. Araştırmacılar hem Siirt ilinin ekonomisi hemde ülke ekonomisi için Siirt fistiği depolarının bu zararlardan korunması gerektiğini bildirmiştirlerdir.

P. interpunctella, kuru incir güvesi ve incir kurdunun Ege Bölgesi'nde kuru incirin sergi döneminde %12-23, depolarda ise %39-68 oranında kayıplara neden olduğu, benzer şekilde, *P. interpunctella*, iç fındık güvesi ve diğer güvelerle birlikte Karadeniz Bölgesi fındık depolarında ise %20 dolayında bulaşmaya sebep olduğu

bildirilmiştir. Ek olarak *P. interpunctella*'nın Malatya ili ve civarında kuru kayışılarda ciddi zararlara sebep olduğu da bildirilmiştir (TAGEM, 2008).

Dünya'nın farklı iklimlerine çok kolay adapte olarak rahat bir şekilde yaşayabilen ve bu yüzden de yayılış alanı oldukça geniş bir tür olan *P. interpunctella* neredeyse dünyada Antarktika kıtası hariç her kıtada bulunmaktadır. Kökeni ise Güney Amerika olarak bilinen bu kozmopolit türün yaşamını yıl boyunca sıcak ortamlarda sürdürdüğü bilinmektedir (Baker, 2000; Mohandass ve ark., 2007; Akıncı ve Kalyoncu, 2014).

2.1.3 Doğal Düşmanları ve Etkinlikleri

Ülkemizde kuru meyve güveleri ile mücadelede genellikle Hymenoptera takımına ait bazı türler kullanılmaktadır. Bu türler; Braconidae familyasından; *Phanerotoma flavitestacea* Fisher, *Apanteles merula* Reinhard, *Bracon hebetor* Say. Ichnomonidae familyasından, *Diadegma chrysosticta* Gmel., *Mesostenus transfuga* Grav. ve *Venturia canescens* Grav. *Pachycrepoideus vindemiae* (Rond.)'dır. Bu türler arasında yer alan *B. hebetor* türü ile Ege bölgesinde yer alan bazı incir depolarına kitle üretim ve salım çalışmaları yapılmıştır. Çalışma sonucunda *B. hebetor*'un olgun larvalar üzerinde oldukça etkili olduğu ancak, zararın önlenmesi yönünde kayda değer bir yararı olmadığı gözlenmiştir (TAGEM, 2008).

2.1.4 Mücadele Yöntemleri

P. interpunctella ile mücadelede en önemli unsur depoya temiz ürün koymak ve ürünün depolanma süresince bu zararlı ile kontamine olmasını engellemektir. Bu amaç doğrultusunda *P. interpunctella* ile mücadelede; kimyasal, fiziksel, biyoteknik ve biyolojik mücadele yöntemlerinin hem ayrı ayrı hem de birlikte kombinasyonu şeklinde uygulamalar kullanılmaktadır.

2.1.4.1 Kimyasal Mücadele

Kimyasal mücadelede, gaz halindeki pestisitler (fumigant) ve rezidünel (kalıcı etkili) pestisitler kullanılmaktadır (TMMOB, 2015).

P. interpunctella ile mücadelede dünyada ve ülkemizde en çok tercih edilen mücadele yöntemlerinin en başında kimyasal mücadele gelmektedir. Kimyasal mücadelede de yaygın olarak kullanılan yöntem ise fumigasyon uygulamalarıdır

(Güngör, 2014). Fumigasyon uygulamalarında ise genellikle metil bromit ve fosfin tercih edilmektedir (Emekçi ve Ferizli, 2000; Emekçi ve ark., 2015). Ancak, metil bromidin (MB) ozon tabaksını inceltici etkisinden dolayı ve kalıntı bırakması nedeniyle Montreal Protokolü gereğince tüm dünyada yasaklanmıştır (T.C. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı, 1990; UNEP, 2005; Korku, 2019).

Yapılan bazı çalışma sonuçlarına göre, *P. interpunctella*'nın bir diğer kimyasal mücadele ajanları olan organofosfat malatoin ve diğer birkaç organofosfata direnç gösterdiği tespit edilmiştir (Attia, 1977, 1981; Zettler ve ark., 1973, 1982; Zettler ve ark., 1989; Arthur ve ark., 1988; Sumner ve ark., 1988; Schaafsma, 1990; Arthur ve Phillips, 2003; Güngör, 2014).

Diğer bir fümigant olan fosfin gazıdır. Bu gazın belli konsantrasyonları yanıcıdır ve bunun yanında uygulama süresi oldukça uzundur. Bu yüzden de kullanımı çok fazla yaygın değildir (Kahraman, 2009; Korku, 2019). Bunun yanında bazı *P. interpunctella* nesillerinin fosfin içerikli fumigantlara da düşük seviyede de olsa direnç gösterdiği bildirilmiştir (Zettler, 1982; Zettler ve ark., 1989; Chaudhry, 1997).

Bir diğer kimyasal mücadele yöntemi olan insektisitin yoğun bir şekilde kullanımı çevre ve insan sağlığını olumsuz etkilemektedir ve bunun yanında ürünlerde de kalıntı bıraktığı için hem çevreye hem de bu gıdaları tüketen canlılara zararlı olduğu için çok yaygın bir şekilde kullanılmamalıdır. Ayrıca ülkemizde toz halinde kullanımına izin verilen pestisitte bulunmamaktadır (TMMOB, 2015; Karadağ ve Kayahan, 2021).

2.1.4.2 Fiziksel Mücadele

Fiziksel mücadelede yönteminde entoletler makinelerinin kullanımı, düşük veya yüksek sıcaklık uygulamaları, değiştirilmiş atmosfer, yüksek basınç, radyo dalgaları, irradasyon ve diyatom toprağı vb. uygulamaları ile zararlıların ekstraksiyon şeklinde veya direkt imha edilmesi ile öldürülmesi şeklinde yapılan bir mücadele yöntemidir (Güngör, 2014; TMMOB, 2015).

Mikrodalga radyasyonu tekniği zararlı böcekler üzerinde kısırlaştırma, gelişimi engelleme ve öldürme gibi etkiler göstermektedir. Bu şekilde uygulanan işin zararlıya daha etkili bir şekilde etki ederek ürünün içindeki ve dışındaki böcekleri oldukça etkili

bir şekilde öldürebildiği bildirilmiştir (Lapidot ve ark., 1991; Ahmed, 2001; Halverson ve ark., 1999; Karadağ ve Kayahan, 2021).

Radyoaktivite denemeleri içerisinde yer alan düşük enerjili elektron ve gamma radyasyon çalışmaları ile *P. interpunctella* popülasyonları kontrol altında tutulabilmiştir ve bu yöntemin de bu zararlı ile savaşımında ekstra alternatif bir yöntem olabileceği bildirilmiştir (Ahmed, 1991; Marcotte, 1993; Hayashi ve ark., 2004; Özyardımcı ve ark., 2006; Güngör, 2014). Fakat bu yöntem oldukça maliyetlidir ancak bu maliyet daha düşük radyasyon dozu uygulanırsa azaltılabilir (Borsa ve Iverson, 1993; Hargitai ve ark., 1993). Fakat, Uluslararası Gıda Standartları Komisyonu tüm besin ve zirai ürünlerin ilaçlanması için 1 kGy doz kullanılmasını önermektedir (Codex Alimentarius, 1984). Ancak irradasyon ilaçlamaları düşük dozda bile etkili olsa da, radyasyona karşı farklı böcek takımlarında veya aynı böceğin farklı gelişim evrelerinde bile radyasyon duyarlılığının değişiklik gösterebileceği de unutulmamalıdır (Ahmed, 2001; Güngör, 2014).

Ürünün veya işletmenin yüksek sıcaklığa maruz bırakılması şeklinde uygulanan yöntem olarak bilinen yüksek sıcaklık uygulamaları ise, dünya genelinde genellikle kurutulmuş meyve zararlara karşı ürüne uygulanan bir öntemdir. İsrail'de güneş enerjisi kullanılarak hurmanın dezenfeksiyonu sağlanmaktadır. Sistemin en önemli avantajı ise meyve içindeki zararlara meyveyi terk etmesi olarak bilinmektedir (Navarro ve ark., 2004).

Böceklerin sıcaklığa göre tepkilerinin bilinmesi mücadelede oldukça yarar sağlayacaktır. Bu sıcaklık aralıkları Fields (1992), tarafından hazırlanmıştır (İstek ve Ferizli, 2019) ve Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.2 Depolanmış Ürünlerde Zararlı Böceklerin Sıcaklığa Tepkileri (İstek ve Ferizli, 2019)

Zon	Sıcaklık	Etki
Ölümcul	> 62	Ölüm 1 dakika <
	50-62	Ölüm 1 saat <
	45-50	Ölüm 1 gün <
	35-42	Bir süre sonra ölüm
	35	Gelişme durur
	33-35	Gelişme hızı düşer
	25-33	Gelişme en hızlıdır
En Uygun	20-25	Gelişme hızı düşer
	13-20	Gelişme yavaşlar ya da durur
	3-13	Hareket durur- bir süre sonra ölürl
Ölümcul	-5 ila -10	Ölüm 1 hafta-ay <
	-15 ila -25	Ölüm 1 saat <

Ürünün düşük sıcaklığa uzun süre maruz kalması şeklinde soğuk hava depolarında 18 °C ile -20 °C arasında 24-48 saat süre ile şoklanması şeklinde yapılan bir diğer uygulama da düşük sıcaklık uygulamaları olarak bilinmektedir. Ancak bu uygulama yüksek enerji maliyeti gerektirdiği için ülkemizde sadece kurutulmuş meyvelerde kullanılmaktadır (Emekçi ve ark., 2007; TMMOB, 2015).

Sıcaklık uygulamaları *P. interpunctella* ile mücadele içinde denenmiştir. *P. interpunctella* gelişimi ideal ortam sıcaklıklarında hızlanmakta, bu düzeyin altındaki sıcaklıklarda ise yavaşlamaktadır. Bu nedenle depolama tesislerinin düşük ve yüksek sıcaklık uygulamaları mevcut zararının kontrolü için kullanılabilir bir potansiyeldir. Kuru meyve güvesinin mücadelede genellikle 0-10,5 °C tercih edilmektedir. Bu sıcaklıklar erginde stres faktörü oluşturarak ergin güveyi öldürmektedir. Hayatta kalan erginlerin ise yumurta bırakma potansiyeli düşmektedir (Fields, 1992; Johnson ve ark., 1997; Güngör, 2014).

2.1.4.3 Biyoteknik Mücadele

Biyoteknik mücadelede zararlıları doğrudan öldürmek yerine, zararlıların üzerinde etkili olan bazı suni veya doğal maddeleri kullanarak (bazı yarı kiyasal maddeler kullanarak) popülasyon yoğunluğunun azaltılması işlemidir (Tarım orman, 2014; Güngör, 2014).

Biyoteknik mücadelede en çok tercih edilen ve en çok bilinen yöntemler tuzaklardır. Bu yöntemler; görsel tuzaklar, besin tuzakları, feromon tuzakları olarak bilinmektedir. Bu tuzaklar ile zararlı popülasyonları kontrol altına alınmaya

çalışılmaktadır. Diğer yöntemler ise cezbediciler ve kovucular (repellentler)'dır. Bunlar beslenmeyi ve yumurtlamayı engelleyici yöntemler olarak bilinirler (Uslu ve ark., 2022) (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3 Biyolojik ve Biyoteknik Yöntemlerden Bazıları (Weeden ve ark., 2007)

Ürünün adı	Kullanım amacı ve özellikler
Azadirachtin (Tesbih (Neem) ağaçısı, <i>Azadirachta indica</i> bitkisinden elde edilir)	İnsektisit olarak tuta, kiraz sineği, çiçek tripsi gibi birçok zararının mücadeleinde kullanılır.
Balmumu	Budama veya aşılama işlemleri sonrası kesik ve yaraların kapatılarak patojen ve zararlı girişlerini engellemek için koruyucu olarak kullanılır. İnsektisit, fungusit, bakterisit, repellent olarak kullanılır.
Bitkisel yağlar	Bitkileri mantar ve bakterilerden korumak için kullanılmaktadır.
Laminarin (kahverengi alglerde bulunan bir glukandır), Feromonlar <i>Chrysanthemum cinerariaefolium</i> yapraklarından elde edilen piretrinler Acıağacı'dan (<i>Quassia amara</i>) elde edilen yağlar	İnsektisit, fungusit, bakterisit, repellent olarak kullanılır. Böceklerle mücadelede tuzaklarda kullanılır. İnsektisit
Mikroorganizmalar <i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i> vd. Spinosad (toprak bakterisi olan <i>Saccharopolyspora spinosa</i> elde edilen bir toksin)	İnsektisit ve repellent Genetiği Değiştirilmiş organizma olmamak koşulu ile insketisit ve nematasit olarak kullanılabilir.
Etilen	İnsektisit olarak kullanılır.
Parafin yağı Yağ asitleri	Meyve sineklerine karşı fumigant insektisit olarak kullanılır. İnsektisit olarak kullanılır.
Kireç kükürt (kalsiyum hidroksit+kükürt)	Akarisit ve insektisit olarak kullanılır. Fungusit
Doğal alüminyum silikat (kaolin) Kalsiyum hidroksit	İnsektisit ve repellent Fungusit
Sodyum hipoklorit	Tohumların virüs ve bakterilerinden arındırılmasında kullanılır.

P. interpunctella'ya karşı biyoteknik mücadele kapsamında dışı feromonunun temel bileşeni olan ZETA [(Z,E)-9,12-tetradecadienyl asetat (Z9,E12-14:Oac)] (Brady ve ark., 1971; Kuwahara ve ark., 1971) ve üç ilave başka bileşenler (Kuwahara ve Casida, 1973; Sower ve ark., 1974; Soderstrom ve ark., 1980; Teal ve ark., 1995; Zhu ve ark., 1999) tespit edilmiştir. Ancak ticari olarak satılan *P. interpunctella* tuzaklarının çoğu sadece ZETA bileşenini içermektedir (Güngör, 2014). ZETA bileşeni ve yarı attractant uygulaması yapılan bir çalışmada ergin *P. interpunctella* erkeklerinin dişilerin yumurtlama potansiyelleri üzerinde önemli bir etki yaptığı tespit

edilirken, ZETA verilen ergin erkeklerde ise böyle bir etki tespit edilememiştir (Nansen ve Phillips, 2003).

2.1.4.4 Biyolojik Mücadele

Biyolojik mücadele; ilk kez 1919 yılında Smith tarafından kullanılmış, ve biyolojik mücadeleyi basit olarak “zararlı popülasyonlarını doğal düşmanları aracılığı ile baskın altına alma ve düzenleme” şeklinde tanımlamıştır (Van Driesche ve ark., 2010; Uslu ve ark., 2022). Kısaca Biyolojik mücadele, zararlı ile mücadele edilirken araya başka bir canlı kullanılmasıdır. Zararlılar ile mücadelede kullanılan canlılara ise biyolojik mücadele ajanı denilmektedir. Bu biyolojik mücadele ajanları ise, predatör (avcı), parazitler, patojenler veya parazitoidler olarak bilinmektedir (Baggen ve ark., 1999).

Doktora tez çalışmasının da konusunu oluşturuğu bir diğer biyolojik mücadele ajanı ise zararlı bünyesine girerek parazitik veya patojenik etkileri olan entomopatojen organizmalıdır. Bu organizmalar entomopatojen bakteri, fungus, virus, nematod ve protistlerdir.

P. interpunctella'nın ise birçok doğal düşmanı bulunmaktadır. Bunlar; parazit ve predatör türler olan *Habrobracon hebetor* (Oluwafemi ve ark., 2009; Mbata ve Ilan, 2010), *Xylocoris flavipes* (Press ve ark., 1974; Kraszpulski ve Davis, 1988), *Venturia canescens* (Harvey ve Thompson, 1995), *Tricogramma deion*, *T. ostrinia*, *T. pretiosum* (Grieshop ve ark., 2006, 2008), *Nemeritis canescens* (Waage, 1978; Yıldırım ve ark., 2001), *Bracon hebetor*, *Apentelca serula*, *Phoneretoma fravitestacea*, *Diadegma chrysosticta*, *D. ohryacetieta*, *Hespestorun tranfuga*, *Leucopis puncticornis*, *Pachycrepoideus vindemiae* (Yıldırım ve ark., 2001) gibi türlerdir.

Tüm bu doğal düşmanlara ek olarak; entomopatojenik nematodlar *Heterorhabditis indica* (Mbata ve Ilan, 2010) ve *Steinernema riobrave* (Ramos-Rodríguez ve ark., 2007); entomopatojenik mantarlar; *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium (Verticillium) lecanii*, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* ve *Paecilomyces farinosus* (Büda ve Peçiyulyè, 2008); entomopatojenik bakteri *Bacillus thuringiensis* (Alaoğlu, 1989; Oluwafemi ve ark., 2009) ve granülovirusler (Vail ve ark., 1991; Vail ve Tebbets, 1993; Boots ve Begon, 1995; Saejeng ve ark., 2010) *P. interpunctella*'ya karşı biyolojik mücadelede kullanılmıştır (Güngör, 2014).

Entamopatojen nematodların neredeyse en etkili olduğu alanın toprak olduğu bilinmektedir ve topraklar neredeyse çoğu entomopatojen nematodların doğal yaşam alanıdır. Bu yüzden toprak altı zararlılarına karşı oldukça etkilidirler. Toprak nedeniyle toprak altı zararlılar ile mücadelede insektisitin zararlıya ulaşması oldukça zor olmaktadır. Böyle bir durumda entomopatojen nematodlar zararlılar ile mücadelede ön plana çıkmaktadır (Dillman ve Sternberg, 2012; Uslu ve ark., 2022).

Bacillus thuringiensis bir entomopatojen bakteridir ve dünya çapında en yaygın kullanılan entomopatojen bakteri olarak bilinmektedir. Ancak, yapılan çalışmalara göre, *P. interpunctella*'nın *B. thuringiensis*'e karşı direnç geliştirebileceği belirlenmiştir (Johnson ve ark., 1990; McGaughey ve Johnson, 1992; Subramanyam ve Hagstrum, 1996).

Çevreye ve insanlara olan zararlı etkisinin çok az olması, maliyetinin düşük olması ve de uzun vadede en etkili kontrol yöntemi olan biyolojik mücadelein günümüzde kullanılması çok daha tercih edilir duruma gelmeye başlamıştır (Uygur ve Lanini, 2006; Uslu ve ark., 2022).

2.2 Entomopatojenler Hakkında Genel Bilgiler

P. interpunctella ile mücadelede en ümit vaadedici sonuçlar bu zararının doğal düşmanlarının kullanıldığı çalışmalarдан elde edilmiştir (Schöller ve Filinn, 2000; Grieshop, 2005; Shojaaddini ve ark., 2012). Zararının doğal düşmanları arasında hem konak seçiciliği ve hemde etki mekanizması açısından en öne çıkan organizmalar biyolojik mücadelede de kullanılan entomopatojenlerdir.

Böceklerin hastalanmasına ve ölümüne neden olan bu organizmalara genel olarak entomopatojenler denilmektedir. Virüsler, bakteriler, protistler, mantarlar ve nematodlar biyolojik mücadelede kullanılan entomopatojenlerdir. Böceklerde hastalıklara neden olan bu entomopatojenler özelleşmiş doğal düşmanlar olarak kabul edilmektedir. Entomopatojenler zararlı böceğin beslenme ve büyümeye oranını azaltabilir, üremelerini yavaşlatabilir veya engelleyebilir ya da onları öldürebilirler. Bu organizmaların neden olduğu hastalıklar, belirli koşullar altında, özellikle böcek yoğunluğu yüksek olduğunda, böcek populasyonunda doğal bir şekilde çoğalabilir ve yayılabilirler (Yaman, 2012).

Zararlıların kontrolü için entomopatojenlerin en pratik kullanımı, onların zararının kendisinden izole edilmeleri ve suni ortamlarda kültürlerinin hazırlanmasını ve daha sonra uygun bir yerde ve zamanda çevreye dengeli miktarlarda sunulmasını içerir (Yaman, 2012). Kullanılan mikroorganizmalar zararlıya özgü olduğu için yalnızca o canlıyı etkiler. Ancak belirli bir zararlıyla mücadelede uygun entomopajenin seçiminde, organizmanın zararının doğal popülasyonlarında hastalık oluşturulması ve doğrudan zararlıdan izole edilerek geliştirilmesi, uygulama aşamasında entomopatojen-zararlı konak ilişkisi açısından oldukça önemlidir.

2.3 Protist Entomopatojenler Hakkında Genel Bilgiler

Protozoalar genelde şube olarak kabul edilir. Ancak son yıllarda ‘tek bir hücreden oluşan hayvan’ olarak tanımlanan bu canlılar daha geniş bir alemin içerisindene dahil edilmiştir ve artık protozoalar Protista alemi içerisinde yer almaktadır. Bu tanıma göre de, böceklerde hastalık oluşturan tek hücreli hayvanlar entomopatojenik protistler olarak tanımlanmıştır (Yaman, 2012).

Entomopatojenik protistler çekirdeğe sahip tek hücreli organizmaların yer aldığı geniş ve heterojenik bir gruptur. En yaygın ve en sık karşılaşılan entomopatojenik protistler Mikrosporidia ve Apicomplexa şubeleri içerisinde yer almaktadır (Yaman, 2012).

2.3.1 Mikrosporidia

Protistler içerisinde Mikrosporidia subesi fungus alemi içerisinde yer alır ve zorunlu hücre içi paraziti olarak bilinirler. Ayrıca mikrosporidialar böceklerde en önemli patojenik grubu oluşturmaktadır. Mikrosporidialar mitokondri, golgi membranları ve diğer tipik ökaryotik organellere sahip değildir ve bu yüzden ilkel ökaryot organizma olarak kabul edilirler. Sitoplasmaları endoplasmik retikulum, ribozomlar ve ilkel tipik olmayan bir golgiye sahiptir (Yaman ve Radek, 2003; Türk ve Doğruman-Al, 2009; Yaman, 2012).

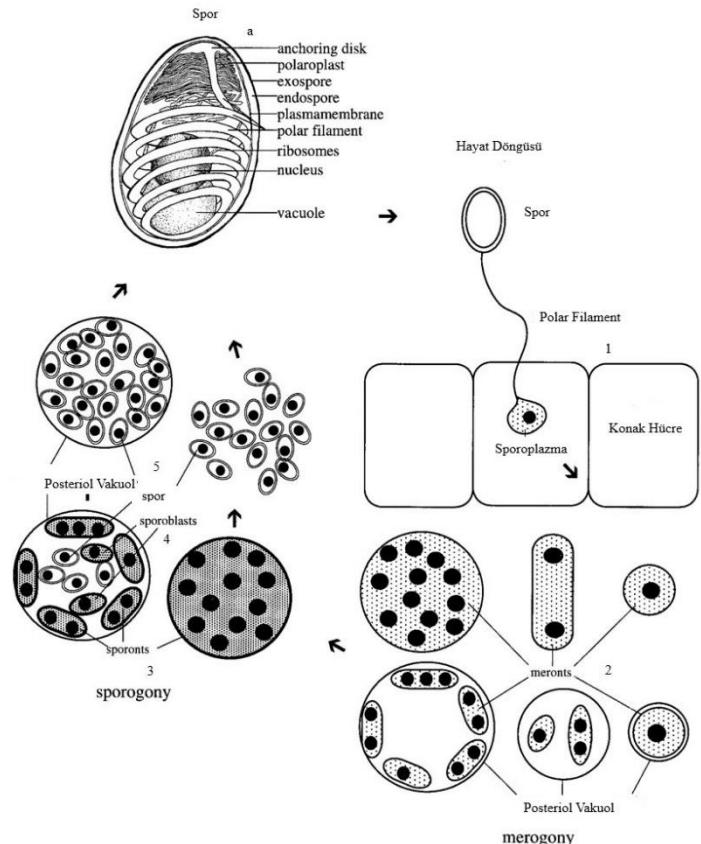
Mikrosporidia merogoni (vejetatif çoğalma) ve sporogoni (sporların oluşması (Merontlar ve sporontlar) olmak üzere 2 safhada gelişimini tamamlar. Merogoni aşaması çok kısa bir sürede tamamlandığı için dikkatli incelenmediği zaman gözden çok rahat kaçabilmektedir. Ancak, sporogoni ise kalıcı ve belirgin sporlar ile sonuçlandığı için rahatça fark edilmektedir. Bu yüzden doğadan toplanmış materyal

ile yapılan çalışmalarda elde edilen mikrospor patojenleri genellikle spor aşamasında tespit edilmektedir (Yaman ve ark., 2005; Yaman ve ark., 2009a).

Mikrosporidiaların dayanıklı spor yapıları mevcuttur ve bu sporları sayesinde bir konaktan diğer bir konağa sporların besinlerle alınması ile taşınır. Bu yüzden mikrosporidialar zorunlu hücre içi patojenlerdir (Yaman, 2012).

Mikrosporidialara ait sporlar, konak hücre tarafından vücut içine alınıp sağa ullaştıktan sonra polar filamentleri ile polar tüp oluştururlar ve konağın hücre zarını delerek konak hücre içerisinde girerler (1). Mikrosporidialar konak hücrenin tüm bağımlılık sistemini bu şekilde aşarlar. Sporun içindeki çekirdek ve sitoplazmadan oluşan sporoplazma tüp aracılığı ile konak hücre içerisinde giriş sağlanır (Hazard ve ark., 1984). Konak hücreyi enfekte eden mikrosporların ilk vejetatif hayat safhası, meront safhasıdır (2). Küre şeklärinden oval şeklär kadar farklı yapılarda değişiklik gösterebilen merontlar ince bir hücre duvarına sahiptir. Merontlar hızla ve çok sayıda mitoz bölünme geçirerek sporontları oluştururlar (3). Bir sonraki safhada ise organelleri belirginleşen, hücre duvarı oldukça kalın olan sporoblastlar oluşur (4). Sporoblastlar, patojenin tanımlanmasında karakteristik özelliğe sahip olan olgun sporları oluşturan son vejetatif safha olarak bilinmektedir (4) (Yaman ve ark., 2005; Yaman, 2007). Sporoblast evresinden sonra genelde oval veya kayık şekilli nadirde olsa çubuk veya dairesel şekilli olabilen sporlar oluşur (5) (Şekil 2.7) (Yaman, 2012).

Spor duvarı dıştan içe; exospore ve endospor yapılarından oluşur ve genellikle 2-7 μm uzunluğundadır (a). Spor duvarları oldukça kalındır ve kitin içeren koruyucu bir tabakaya sahiptir (Erickson ve Blanquet, 1969). Spor hacmini sitoplazma ile birlikte bir/iki çekirdek meydana getirir. Spor germinasyonu için gerekli olan polar filament (polar tüp), polaroplast ve posteriol vakuol yine spor içerisinde yer alır (a). Sitoplazma ve çekirdek/çekirdekler enfeksiyon oluşturan form olan sporoplazmayı oluşturur. Polar filament ise sarmal yapıda olup, anchoring disk polar filamentin tek katlı zarının devamı olan polar kese içinde yer almaktadır (Şekil 2.7). Pek çok mikrospor patojeninde posterior kutba yakın ve zarla çevrili olarak bulunan posterior vakuolun golgi aparatına karşılık geldiği düşünülmektedir (Vernick ve ark., 1977; Yaman, 2012).



Şekil 2.7 Mikrosporidia Hayat Döngüsü ve Spor Yapısı (Franzen ve Müller, 1999)

Mikrosporlar, konak özgüllüğüne sahiptir ve enfekte oldukları konağın ölümüne sebep olmak yerine konağın hayat süresini kısaltıp hareket kabiliyetlerinde yavaşlama, iştah ve kilo kaybı ile birlikte üreme potansiyellerini azaltırlar.

Mikrosporların konak özgüllüğüne sahip olması bir biyolojik mücadele ajanında olması istenen bir özellikleştir. Böylece sadece hedef organizmayı etkilerler, çevreye ve diğer organizmalara zarar vermezler. Mikrosporların böceklerde, balıklarda ve insanlarda enfeksiyonlara neden oldukları bilinmektedir. Böceklerde sıkılıkla görülen mikrosporlar *Burenella*, *Canningia*, *Larssoniella*, *Nosema*, *Ovavesicula*, *Tuzetia*, *Unikaryon*, *Pleistophora*, *Thelohania*, *Endoreticulatus* ve *Vairimorpha* cinslerine aittir (Weiser ve Purrini, 1985; Undeen ve Vávra, 1997; Weiser ve ark., 1998; Yaman ve Radek, 2003; Yaman ve ark., 2005; Weiser ve ark., 2006; Vávra ve ark., 2006; Yaman, 2007; Yaman ve ark., 2009a; Hoch ve ark., 2009).

Yapılan çalışmalara göre mikrosporidialar böcek patojenlerinin önemli bir grubu olarak biyolojik mücadelede kullanımı açısından en umut vaat eden mikroorganizmalardır (Tanada ve Kaya, 1993; Yaman, 2012).

2.3.2 Apicomplexa

Bu şube böceklerde enfeksiyon yapan Gregarinia ve Coccidia olarak bilinen en önemli iki temel sınıfı kapsamaktadır.

2.3.2.1 Gregarinia

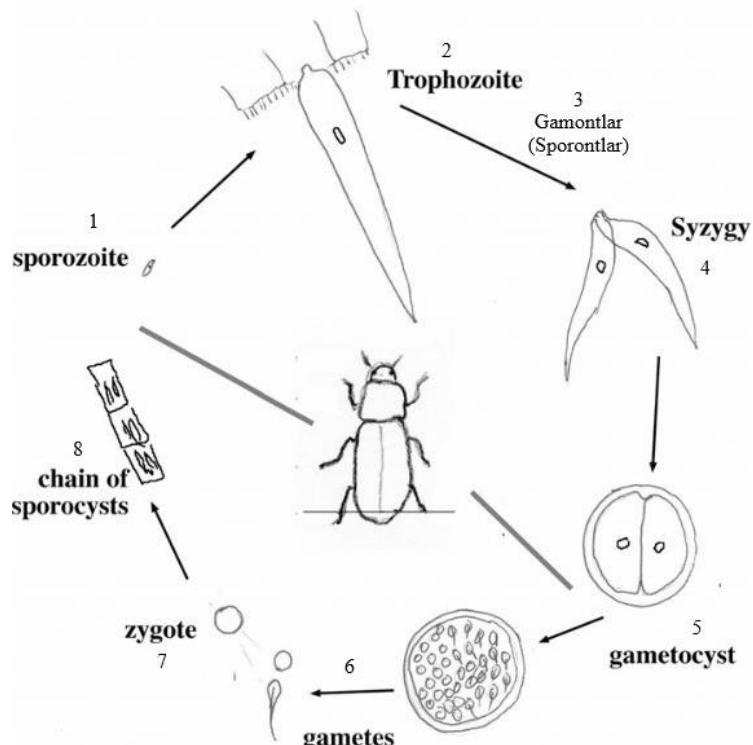
Gregarinler böceklerde patojenik olarak bilinen ilk protistler olarak bilinirler. Gregarinia sınıfı büyük ve extrasellüler olgun gametlere sahiptir. Omurgasızların vücut boşluğu ve sindirim sisteminde bulunurlar. Bu sınıf; Blastogregarinidae, Archigregarinidae, Eugregarinidae ve Neugregarinida olmak üzere dört takımdan oluşmaktadır. Böcekleri enfekte eden takımlar ise; Eugregarinidae ve Neugregarinida'dır. (Yaman, 2012).

2.3.2.1.1 Eugregarinida

Bu grubun en karakteristik özelliği, genellikle böceğin bağırsağında yaşamalarıdır. Eugregarinida Cephaline ve Acephaline olmak üzere iki alt gruba bölünür. Cephaline grubuna dahil olan gregarinlerin yapısı protomerite ve deutomerite olmak üzere iki bölümden oluşur. Acephaline grubu üyeleri ise sadece bir bölümden oluşur. Böceklerde parazitik olarak bilinen gregarinlerin büyük bir çoğunluğu Cephaline grubu Gregarinlerdir (Yaman, 2012).

Eugregarinida hayat döngüsünde sırasıyla, spor, sporozoit, trofozoit, sporont (Gamont), şizigi form, prekist ve kist safhaları görülür. Besin yolu ile alınan sporlar bağırsakta açılır ve sporozoitler serbest kalır (1). Burada gelişen sporozoitlerden trophozoit evre meydana gelir (2). Trophozoitler, epimeritleri ile konağın bağırsağına tutunurlar (2). Gelişimlerinde belirli bir evreyi tamamladıktan sonra trophozoitler epitel hücrelerden ayrılır ve sindirim kanalı lumeninde gelişerek gamontları (sporontları) oluştururlar (3). Olgun gametler ard arda birleşerek şizigi (syzygy) formunu oluşturur (4). Şizigi formunu oluşturan iki gamonttan ilkine pirimit, ikincisine satellit denir. Bu sayede birleşme formu safhasına (associative form) geçilmiş olur. Bu iki gamontta birleşerek etrafi bir zarla çevrilir ve içerisinde erkek bireyler tarafından oluşturulan mikrogametlerin ve dişi bireyler tarafından oluşturulan makrogametlerin yer aldığı gametokist safhası meydana gelir (5). Bir araya gelmiş olan iki gamont büükülme hareketi yapar ve dairesel bir şekil alır (6). İki gametin birleşmesi ile de zigot meydana gelir (7). Sonrasında prekist safha oluşur. Olgunlaşan

prekist, zar oluşturarak kist halini alır ve kistler de dışkı yolu ile vücuttan atılır (8). Kist safhasında meydana gelen ve bolca sporozoit içeren ookistler, sporoduct kanallarından serbest bırakılır (Şekil 2.8) (Yaman, 2012; Baki, 2013). Sporoduct kanalı ise bu cinse özgüdür ve sadece kist evresinde meydana gelir (Lange ve Wittenstein, 2002; Clopton, 2004; Baki, 2013).



Şekil 2.8 Eugregarinida Hayat Döngüsü (Omoto ve Cartwright, 2003)

2.3.2.1.2 Neogregarinida

Neogregarine takımını Eugregarine üyelerinden ayıran en önemli özellik sizogoni safhasının olmasıdır (Baki, 2013). Neogregarine takımına ait gregainler neogregarinler ya da sizogregarinler olarak bilinir ve eugregarinlerden daha ilkel kabul edilirler. Entomopatojenik neogregarinlerin bir kısmı Diptera, Coleoptera ve Hemiptera'ya ait önemli zararlı böceklerdeletal enfeksiyonlara sebep olurlar (Yaman, 2012).

Neogregarinler de eugregarinler gibi besinler aracılığı ile konaklarına bulaşır ve konağın sindirim kanalı ya da Malpighi tüplerinde enfeksiyon oluşturup ookistleri dışkı yolu ile dışarıya atılır ve böylece böceğin yumurtalarına veya besinlerine

bulaşırlar. Ookistler konak böceğin ölmesine sebep olur ve böylece ookistler çevreye dağılmış olur (Yaman, 2012).

2.3.2.2 Coccidia

Coccidia alt sınıfının bilinen türlerinin sadece %1’inden daha az bir kısmının böcekleri enfekte ettiği bilinmektedir. Entomopatojen türleri içeren cinsler *Adelina*, *Chagasella*, *Legerella*, *Ithania* ve *Barrouxia*’dır. Coccidiaların hayat döngüsü ise Merogoni ve Sporogoni’den oluşmaktadır. Gametler tipik olarak anizogamettir ve varsa sizigi belirgin bir şekilde anizogametlere sahiptir. Hayat safhası genel olarak haploid döngü şeklindedir. Diploid safha sadece zigotlarda gerçekleşmektedir (Yaman, 2012).

Bu doktora tez çalışmasında, zararlı böcekler ile biyolojik mücadele kullanılan hedef dışı organizmalara yan etkisi bulunmayan protist entomopatojenlerin bu özelliklerinden faydalananarak, ülkemizde önemli bir depo zararlısı olan kuru meyve güvesi *Plodia interpunctella*’ya karşı zararının ülkemizdeki farklı coğrafik popülasyonlarında mevcut insektisidal etkisi yüksek entomopatojenlerin tespiti, izolasyonu, karakterizasyonu, çeşitliliği, popülasyonlardaki dağılımının belirlenmesi ile mevsimsel olarak patojen yoğunluğunun tespit edilerek doğal popülasyonlarda tespit edilecek protist entomopatojenlerin kuru meyve güvesi üzerindeki insektisidal etkilerinin laboratuvar koşullarında belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 *Plodia interpunctella* Örneklerinin Elde Edilmesi

Doktora tez çalışmasının konusunu oluşturan *Plodia interpunctella*'nın larva, pupa ve erginleri, çalışma boyunca Ankara, Aydın, Bolu, Denizli, Gaziantep, Isparta, İstanbul, İzmir, Kastamonu, Malatya, Ordu, Samsun, Siirt ve Trabzon illerindeki depo, dükkan ve evlerden toplanmıştır. Arazi çalışmaları boyunca depo, dükkan ve evlerden *P. interpunctella*'ya ait pupa, larva ve erginleri dikkatli bir şekilde steril kaplara toplanmıştır. Enfeksiyon dağılım oranını etkilememek ve olası kontaminasyonu önlemek için her besin kaynağının larva ve erginleri ayrı ayrı yetişirme kaplarında muhafaza edilmiş, besin kaynağı ve tarih bilgileri etiketlenmiştir. Toplanan böcekler en kısa sürede laboratuvara getirilerek dikkatlice çalışmala başlanmıştır. Laboratuvar ortamında hijyenik steril yetişirme kaplarında muhafaza edilen böcekler oda sıcaklığında bulundurulmuştur (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 *P. interpunctella* Yetiştirme Kabı

Proje süresince yapılan arazi çalışmaları esnasında zararının toplanabildiği lokalite ve tarihler Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 *P. punctella* Popülasyonlarının Örnekleme Yerleri ve Tarihleri

Lokalite	Örneğin Toplandığı Tarih
Ankara	08.07.2021, 18.02.2022, 05.04.2023
Aydın	12.06.2019, 02.07.2019, 22.07.2019, 18.06.2020, 30.06.2020, 22.06.2021, 12.07.2021, 14.05.2022
Bolu	22.05.2019, 28.06.2019, 08.07.2019, 20.08.2019, 05.09.2019, 05.09.2019, 12.09.2019, 20.01.2020, 18.02.2020, 11.03.2020, 23.03.2020, 30.04.2020, 01.06.2020, 13.07.2020, 17.06.2021, 12.07.2021, 24.03.2022, 31.05.2022, 15.06.2022; 20.01.2023; 05.09.2023; 12.05.2023
Denizli	01.06.2019, 28.06.2019
Gaziantep	05.07.2019, 05.08.2019, 11.09.2019, 22.07.2020, 27.07.2020, 25.07.2021; 13.07.2023
Isparta	02.05.2019, 13.07.2019, 06.08.2020, 31.08.2020, 26.05.2021, 09.05.2022, 08.06.2023
İstanbul	20.12.2019, 16.03.2020, 02.04.2020, 08.02.2023
İzmir	12.06.2019
Kastamonu	28.07.2021
Malatya	13.06.2019, 21.06.2019, 12.09.2019, 16.07.2020, 20.08.2020, 18.07.2021, 13.07.2023
Ordu	18.06.2019, 21.06.2020
Samsun	10.06.2019, 10.07.2020, 28.07.2021, 25.07.2023
Siirt	28.06.2019
Trabzon	15.06.2019, 10.07.2020, 28.07.2021, 25.07.2023

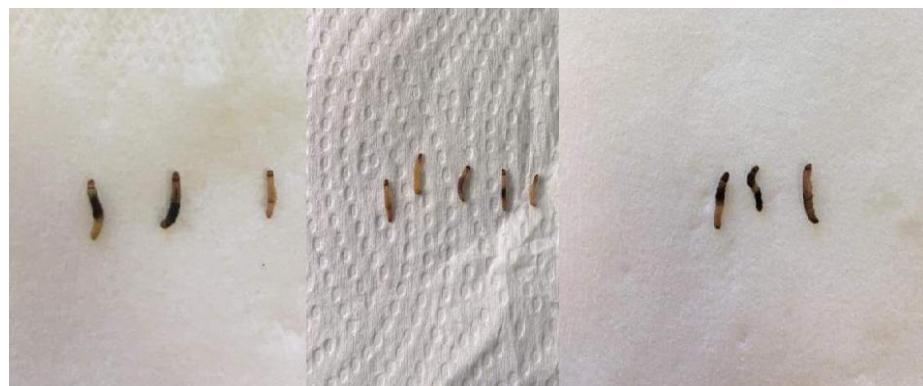
3.2 Yöntem

3.2.1 Makroskopik Çalışmalar

Böcek dokularında meydana gelmiş, özellikle larvalarda deri üzerindeki renk değişiklikleri ve deform olmuş dokular gibi gözlemlenebilen bazı makroskopik semptomlar bir entomopatojenik enfeksiyonu düşündürebilir. Bu nedenle toplanan örnekler herhangi bir entomopatojene ait dış semptom için makroskopik olarak

incelenmiştir. Hastalık semptomu gösteren örnekler ileri deneyler ve fotoğraflanma işlemi için ayrılmıştır (Şekil 3.2).

Tüm örnekler makroskopik incelemeden geçirilmiş ve hastalık semptomu gösterenler ileri incelemeler için ayrılmıştır.



Şekil 3.2 Makroskopik İncelemeler Sonucunda Protist Enfeksiyonlarından Şüphenilenen *Plodia interpunctella* Larvaları

3.2.2 Mikroskopik Çalışmalar

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

3.2.2.1 Işık Mikroskobu Çalışmaları

Laboratuvar çalışmaları sonucunda elde edilen larva, pupa ve erginler hazırlanan Ringer solüsyonu içerisinde disekte edilmiştir. 8,0 g sodyum klorür (NaCl), 0,25 g kalsiyum klorür (CaCl₂), 0,25 g potasyum klorür (KCl) ve 0,25 g sodyum bikarbonat (NaHCO₃)'ın 1000 ml saf su içerisinde çözülmesiyle elde edilen Ringer solüsyonu böcek dokuları için en ideal izotonik ortamı oluşturması açısından diseksiyon işlemlerinde kullanılmaktadır.

Diseksiyon; ergin böcekte abdomenin böceğin vücutundan ayrılması ile, larvalarda ise abdomenin son segmentinden açılan bir kesi ile gerçekleştirılmıştır. Hazırlanan taze preparatlar ışık mikroskobu altında 40x'ten 100x'e kadar olan büyütmelerle incelenmiştir. Enfeksiyon görülen preparatlar ışık mikroskobu kullanılarak yeniden incelenmiş, patojenlerin ve enfekte ettiği dokuların fotoğrafları

çekilmiş ve karakterizasyonu için gerekli ölçümler yapılmıştır. Protist enfeksiyonlarının, hazırlanan preparatlarda görülmesi muhtemel olan besin artıkları, malpighi tüplerindeki inorganik kristaller ve yağ damlacıkları gibi yanlışlıkla neden olan faktörlerden patojenlerin ayırt edilebilmeleri için Giemsa boyama tekniği uygulanmıştır.

3.2.2.2 Giemsa Boyama

Giemsa boyası hücrenin çekirdek ve sitoplazmasındaki yapıların ayırt edilmesini sağlar. Sitoplazma açık mavi veya kırmızıya boyanırken, çekirdek pembe renkte boyanır. Ek olarak, Giemsa boyası sporların çekirdeğini boyayıp, spor duvarının beyaz kalmasını sağlayarak da protist kökenli patojenlerin teşhisinde oldukça önemlidir. Ayrıca, Giemsa boyası ile patojen ya da parazitin hayat döngüsündeki safhalar da belirlenebilmektedir.

Enfeksiyon tespit edilen preparatların boyama işlemi şu şekildedir:

Öncelikle preparat oda sıcaklığında kurutulur, muhtemel kontaminasyonu engellemek için %100'lük metil alkolde 3 dakika bekletilir, daha sonra tekrar oda sıcaklığında kurutulur, saf su ile hazırlanan %5'lik Giemsa boyasında 16-24 saat boyanmaya bırakılır. Boyanan preparat akan musluk suyunda yıkılır, oda sıcaklığında kurumaya bırakılır ve incelenmeye hazır hale getirilir. İmmersiyon yağı kullanılarak 100x'lik büyütmede incelenir (Toguebaye ve ark., 1988; Undeen ve Vávra, 1997).

Mikrospor enfeksiyon varlığı belirlenen tüm preparatlar yukarıdaki işlemlerden geçirilerek Giemsa ile boyanmıştır. Boyanan preparatlar tek tek incelenmiştir. Var olan sporların boyanma şekilleri ile ayırt edilip ölçümlerinin tekrar yapılması yanısıra, hem sporların hem de hayat döngüsü safhalarının fotoğrafları da çekilmiştir.

3.2.2.3 Elektron Mikroskopu Çalışmaları

Transmisyon Elektron Mikroskopu (TEM) çalışmaları, incelenmesi istenen yapıların morfolojik ve anatomik özelliklerinin kapsamlı bir şekilde ortaya koyulması ve dolayısıyla da tez çalışması sırasında gözlemlenen protist patojenlerin tür seviyesinde teşhis edilebilmesini mümkün kılmış bakımından oldukça muazzam bir

öneme sahiptir. *P. interpunctella*'dan izole edilen protist patojenlerin detaylı yapısı TEM mikroskopu kullanılarak incelenmiş ve fotoğraflanmıştır.

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

3.2.2.3.1 Fiksasyon, Dehidrasyon, Rezine Gömme ve Boyama

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

Dokuların elektron mikroskobunda incelenebilecek duruma getirilebilmesi için izlenen aşamalar şunlardır:

Ayrılan doku materyali pH 7.2'de 0.1M kakodilat tamponu ile seyreltilen %2,5'lik glutaraldehit içinde iki saat boyunca fiske edilmiş ve daha sonra pH 7.2'de 0.1M cacodylate tamponu içerisinde üç kez 10'ar dakika yıkanmıştır. Daha sonra OsO₄ (Osmiyum tetroksit) ile 2 saat süreyle muamele edilmiştir (Karnovsky, 1971). Sonra yeniden pH 7.2'de 0.1M cacodylate tamponu içerisinde üç kez 10'ar dakika yıkanmıştır (Becnel, 1997).

Numuneler sırasıyla %30'luk, %50'luk ve %70'luk etanolle 15'er dakika, %90'luk, %96'luk ve %100'lük etanol ile 10'ar dakika üçer kez muamele edilip dehidrasyona uğratılmıştır. Ertesi güne bırakılması gerektiğinde ya da 1-2 gün ara verileceği zaman numuneler %70 etanolde veya %25 resinde bırakılmıştır (Şekil 3.3) (Becnel, 1997).

Daha sonra 1:1 oranında hazırlanan ERL: etanol karışımı ile 1 saat, 3:1 oranında hazırlanan ERL: etanol karışımı ile 4 saat muamele edilen numuneye Epoxy resin emdirilmiştir. Saf ERL içerisinde bir gece süreyle bekletilmiştir. Taze saf ERL ile beem tüplerine aktarılmış ve ortalama 48 saat 70 °C'de etüv içerisinde sertleşmeye bırakılmıştır. Resinlerden ultra mikrotom kullanılarak kesitler alınmış, bu kesitler Pioloform kaplı bakır ızgaralar üzerine yerleştirilmiş ve doymuş uranil asetat ve Reynold's kurşun sitrat (Reynolds, 1963) boyaları ile boyanmıştır.



Şekil 3.3 TEM Hazırlığında Dehidrasyon İşlemi Aşamaları (Anonim, 2024b)

3.2.3 Entomopatojen Protistlerin Tespiti

Mikroskopik incelemeler ile tespit edilen protistler giemsa boyası ile boyanarak entomopatojen yapıları detaylı bir şekilde incelenmiş ve fotoğraflanmıştır. Tespit edilen patojenler böcek doku ve sıvısından ayrılarak saf hale getirilip serum fizyolojik içerisinde DNA izolasyonu ve inektisidal etkilerinin belirlenmesi için +4 °C'de saklanmıştır.

3.2.4 Moleküler Çalışmalar

İşık ve elektron (TEM) mikroskopu incelemeleri tamamlanan protist mikrosporidian entomopatojenin filogenetik açıdan incelenmesi için önceden saflaştırılmış hücre ve spor gibi yapılarından genomic DNA izolasyonu ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) metodu kullanılarak rDNA amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir.

Moleküler çalışmalar, tespit edilen entomopatojen türüne bağlı olarak takip edilen prosedürlere göre gerçekleştirilmiştir. Öncelikle tespit edilen patojenden genomik DNA izolasyonu gerçekleştirilmiş ve hastalık etmenleri konak böcekten izole edilerek saflaştırılmıştır.

3.2.4.1 Genomik DNA İzolasyonu

Protist orjinli hastalık etmenlerinden genomic DNA izolasyonu için;

Yoğun enfeksiyon gözlenen preperatlardaki spor içeren solüsyonlar cam pastör pipet ile toplanarak ependorf homojenizatörü ile birlikte, spor/kist ile enfekte olmuş larvalar bir ependorf tüp içerisinde homojenize edilmiştir. Saf su ilave edilen homojenizat, kaba böcek parçalarından 3 kat tülbentten geçirilerek ayrılmıştır. Ayırma işleminin ardından spor/kistleri tamamen saflaştırmak için elde edilen süspansiyon 3000 rpm'de 2 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda süpernetant kısmını uzaklaştırıldıktan sonra pellet saf su ile sulandırılarak 3000 rpm'de 2 dakika tekrar santrifüj edilerek protist sporlarını iyice saflaştıranın kadar birkaç kez tekrar edilmiştir. Saflaştırma işleminin sonunda spor/kistler hemositometre ile sayılarak DNA izolasyonu için stenilen ($7,6 \times 10^8/\text{ml}$) yoğunluğa ayarlanmıştır. Ticari DNA izolasyon kiti (QIAGEN, No; 69506) kullanılarak kit içerisinde verilen direktiflere uygun bir şekilde DNA'lar izole edilmiştir.

3.2.4.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (rDNA amplifikasyonu)

Genomic DNA izolasyonu tamamlanan protist patojenin, PZR tekniği kullanılarak türe özgü spesifik gen bölgelerinin amplifikasyonu gerçekleştirılmıştır (Çizelge 3.2). PZR çalışmalarında hastalık etmenlerinin türüne göre farklı primer setleri kullanılmaktadır.

Çizelge 3.2 Protist Mikrosporidia Entomopatojeninin rDNA Amplifikasyonunda Kullanılan Primer

Primer	Primer İsmi	Kaynaklar
Protist- Microsporidia	F-5'-CACCAGGTTGATTCTGCC-3' R-5'-TTA TGATCCTGCTAATGGTTC-3'	Johny ve ark., 2005

PZR reaksiyonları, QiagenMultiplex PCR Kit (No: 69506) kullanılarak üretici talimatlarına uygun şekilde toplam hacim 50 µl olacak şekilde ayarlanarak gerçekleştirılmıştır. Yine ticari kitin (QIAGEN Multiplex PCR Kit, No: 206143) kullanım kılavuzunda belirtildiği gibi PZR amplifikasyonları; 95 °C' de 15 dakika, her biri 45 döngü olacak şekilde 94 °C' de 30 saniye, 61 °C' de 90 saniye, 72 °C' de 90 saniye ve son döngüyü takiben son uzama reaksiyonu 72 °C' de 10 dakika olarak gerçekleştirılmıştır. Elde edilen PZR ürünü %0,8' lik, etidyum bromür (EtBr) ilaveli agaroz jelde yürütülmerek UV transilluminatörde varlığı belirlenmiştir. Varlığı

belirlenen PZR ürünü, baz dizin analizine tabi tutularak (=sekans analizi) elde edilen sonuçlar NCBI (National Center for Biotechnology Information=Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi) BLAST (The Basic Local Alignment Search Tool=Temel Yerel Hizalama Arama Aracı) internet ara yüzü kullanılarak GenBank' taki verilerle karşılaştırılarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

3.2.4.3 Filogenetik Çalışmalar

Sekans analizi yapılan mikrosporidyum patojenini hem diğer entomopatojenlerle karşılaştırmak hem de Türkiye izolatının diğer izolatlarla olan ilişkisini incelemek için baz dizi analizleri yapılmıştır. Belirlenen baz dizisindeki protist entomopatojenin %G+C içeriği Fast PCR programı kullanılarak tespit edilmiştir ve baz indeks sonuçları, NCBI.BLAST ara yüzündeki diğer kayıtlarla karşılaştırılmıştır.

DNA dizileme, her iki zincir üzerinde PZR yükseltgenmeleri için kullanılan primerler ile yapılmıştır. Analizler sonucu elde edilen ham diziler ABI dosya formatındaki kromotogramlara göre düzenlenmiş ve BioEdit (Hall, 1999) programı kullanılarak birleştirilmiştir. Elde edilen genotiplerin hangi protist cinsine ait olduğunu belirlemesi için BLAST (Basic Local Alignment Search Tool-<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) uygulaması kullanılmıştır.

Genotiplerin cins içerisindeki hangi türe ait olduğunu belirlenebilmesi için filogenetik analizlerden faydalانılmıştır. Filogenetik analizler için veri seti oluşturulması mevcut literatür bilgilerine göre yapılmıştır. İlgili genotipler NCBI veri tabanından indirilmiştir. Elde ettiğimiz yeni genotipler ile veri setindeki genotiplerin homolog bazlarını hizalamak için Clustal X (Thompson ve ark., 1997) modülü kullanılmıştır.

İzolatlar arasındaki evrimsel ilişkinin belirlenmesinde Maksimum-Likelihood (ML) algoritması kullanılmıştır. ML için Mega X (10) programı kullanılarak filogenetik ağaçlar çizilmiştir.

Ağaçlardan elde edilen filogenetik ilişkilerin güvenilirlik derecesini belirlemek için Bootstrap testleri (Efron, 1982; Felsenstein, 1985) yapılmıştır. Bu testler her algoritma için 1000 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Haplotipler arası nükleotid dizi

benzerlik oranını hesaplamak için Bioedit programı ve DNA Sequence Polymorphism (DnaSP) analizi kullanılmıştır.

3.2.5 Tespit Edilen Protistlerin İnsektisidal Etkinliğinin Belirlenmesi (=Virülans Testleri)

Böceklerden izole edilen mikroorganizmaların, izole edildikleri böcek üzerinde patojenik bir etkiye sahip olup olmadıkları virülans testleriyle belirlenmektedir.

Bu testler için böceğin biyolojisi göz önünde tutularak yaşayabilecekleri uygun ortamlar hazırlanır ve sağlıklı böcekler kullanılır. *In vitro* şartlarda üretilen mikroorganizmaların saf kültürleri hazırlandı ve uygulandı. *In vitro* olarak üretilemeyen virusler, protozoalar ve diğer mikroorganizmaların enfeksiyon numunesi, ölü ve hastalıklı böceklerden elde edildi. Böceklerin enfeksiyonu için birçok metod bilinmektedir. Bu metodlar; besin içinde enfeksiyon, kütikula içine enfeksiyon, ağız ve çevresi içine enfeksiyon, mikroorganizmaları oral ve anal açıklıklar üzerine yerleştirmek, mikrobesleme ve mikroinfeksiyon şeklinde sıralanabilmektedir (Lipa, 1975).

Virülans testleri (=biyoassay) süresi, uygulanan mikroorganizmaya göre değişiklik göstermektedir. Bakteriler ve virusler gibi mikroorganizmaların virulans testleri genelde 5-10 gün sürdürülürken, böceklerde kronik enfeksiyonlar oluşturan protozoaların (=protistlerin) virülans testleri birkaç ay sürdürülebilir. Virulans testleri sırasında, diğer ölüm nedenlerinin sonuçlarından, mikroorganizmaların neden olduğu ölümleri ayırmak için, ölü böceklerin diseksiyonu yapılmalı ve gerçek ölüm nedeni araştırılmalıdır (Lipa, 1975; Lacey, 1997).

Bu doktora tez çalışmasında da tespit edilen protist entomopatojenlere ait izolatların ergin böcekler üzerine etkisini belirlemek amacıyla her bir izolat için 20 sağlıklı böcek seçilerek deney grubu oluşturulmuştur. Böceklerin aynı instarlarda olmasına dikkat edilmiştir. Çünkü aynı tür böceğin, farklı instarlardaki dönemlerde biyolojik ajanlardan etkilenme oranları da farklı olmaktadır (Çökmüş ve Younsten, 1994).

Test, uygulanan patojen türü, ölü ve hayatı kalan böceklerin varlığına dikkat edilerek 15 ila 21 gün sonunda bitirilmiştir (Kampfer, 1995). Test süresince

oluşturulan deney grupları günlük olarak kontrol edilmiştir. Kontrol süresi boyunca ölen böcekler kaplardan pens yardımıyla çıkarılmıştır (Ombui ve ark., 1996). Her gün ölen böcek sayısı tespit edilerek ortalama ölüm oranları belirlenmiştir. Bu uygulama her bir izolat için üç kez tekrarlanmıştır. Yapılan uygulama için kontrol grupları da kullanılmıştır. Ölüm oranının hesaplanması için Abbott (1925), formülü kullanılmıştır.

Abbott formülü;

$$(\%) \text{ Ölüm Oranı} = \frac{\text{Toplam ölüm oranı (\%)} - \text{Kontrol grubundaki ölüm oranı (\%)}}{(\%) 100 - \text{Kontrol grubundaki ölüm oranı (\%)}}$$

Bioassay düzeneklerinde *P. interpunctella* larvaları fındık tabletlerle beslenmiştir. Bu fındık tabletlerin hazırlanmasında iki yöntem uygulanmıştır.

1. yöntem: %90 oranında öğütülmüş fındık ve %10 oranında buğday unu karıştırıldıktan sonra Evans ve Shapiro (1997), tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek besin içeresine laboratuvar denemelerinde en yüksek insektisidal etki gösteren entomopatojenlerin süspansiyonu daha önce istatistiksel olarak belirlenmiş etkili dozajlarını içerecek şekilde 1/10 oranında katılarak blender ile homojen oluncaya kadar karıştırılmıştır. Bu karışımından 2x2 mm ebatlarında besin tabletleri (=fındık tabletler) üretilmiştir (Şekil 3.4).

2. yöntem: yine %90 oranında öğütülmüş fındık ve %10 oranında buğday unu su ile karıştırıldıktan sonra 2x2 mm ebatlarında besin tabletleri (=fındık tabletler) üretilmiştir. Bu tabletler protist patojenler için uygun konsentrasyona ayarlanan patojen süspansyonuna daldırılıp kuruması sağlanarak besin tabletleri (=fındık tabletler) üretilmiştir.



Şekil 3.4 Fındık Tabletlerin Üretim Aşamaları

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Plodia interpunctella'nın makroskopik incelenmesinde, enfekte kolonilerde optimum yaşam koşulları sağlanması rağmen yavaş hareket, iştahsızlık ve renk değişikliği gibi semptomlar ile birlikte larvalarda ölüm gözlenmiştir.

Mikroskopik incelemeler sırasında ise, Türkiye'deki *P. interpunctella* popülasyonlarında mikrosporidia, neogregarine ve coccidia olmak üzere üç farklı protist entomopatojen tespit edilmiştir.

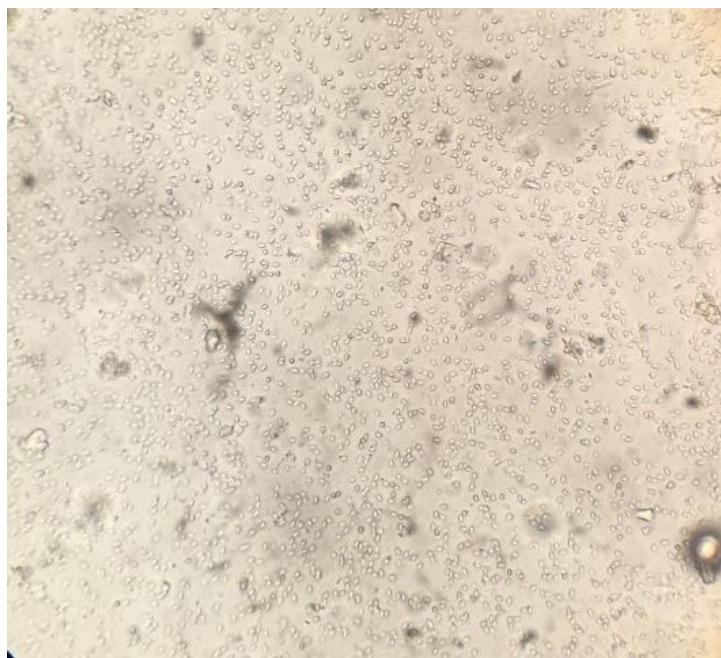
4.1 *Plodia interpunctella*'da Tespit Edilen Mikrosporidia Patojeni

P. interpunctella'da enfeksiyon yapan mikrosporidium patojeni makroskopik, mikroskopik (morpholojik, anatomik; ışık ve elektron mikroskopu) ve filogenetik yöntemler kullanılarak karakterize edilmiştir. Tespit edilen mikrosporidiyumdan genomic DNA izolasyonu yapılarak filogenetik ilişkisi incelenmiş ve daha sonra insektisidal etkisinin belirlenmesi için virülsans(=biyoassay) testleri yapılmıştır.

Tespit edilen mikrosporidium patojeninin mikroskopik olarak belirlenmesi için mikroskopik bazı çalışmalar yapılmıştır. Mikrosporidium patojeni, önce ışık mikroskopu altında saptanarak taze preparatlardaki mikrospor patojeninin en önemli karakteristik hayat safhası olan ve ışığı farklı açıdan kırın spor yapıları incelenmiştir. Daha sonra entomopatojenlerin detaylı bir şekilde incelenmesinde yaygın olarak kullanılan, giemsa boyama tekniği uygulanarak, spor yapıları tekrar incelenmiş ve mikrosporidium varlığı tekrar teyit edilmiştir.

İşık mikroskopu çalışmalarında incelenmek üzere diseksiyonu yapılan örneklerde mikrosporidium patojenine ait önemli hayat safhaları dikkatli bir şekilde tespit edilmeye çalışılmıştır. Doğrudan taze dokuların incelenmesi sırasında, mikrosporidium enfeksiyonunun bulunduğu dokulardaki morfolojik farklılıklar, normal dokular ile karşılaştırılarak enfeksiyon varlığı saptanmıştır. Taze preparatlarda konağın dokularında gerçekleşen tahribat net bir şekilde gözlemlenmiş ve ışık mikroskopu çalışmaları sonucunda mikrosporidium enfeksiyonunun böceğin bağırsak, malpigi tüpleri ve hemolenfinde enfeksiyon yaptığı tespit edilmiştir. Özel kamera ve resim sistemlerine sahip mikroskop kullanılarak, daha önce ışık mikroskobunda tespit edilen mikrosporların enfekte ettiği dokular fotoğraflanmıştır

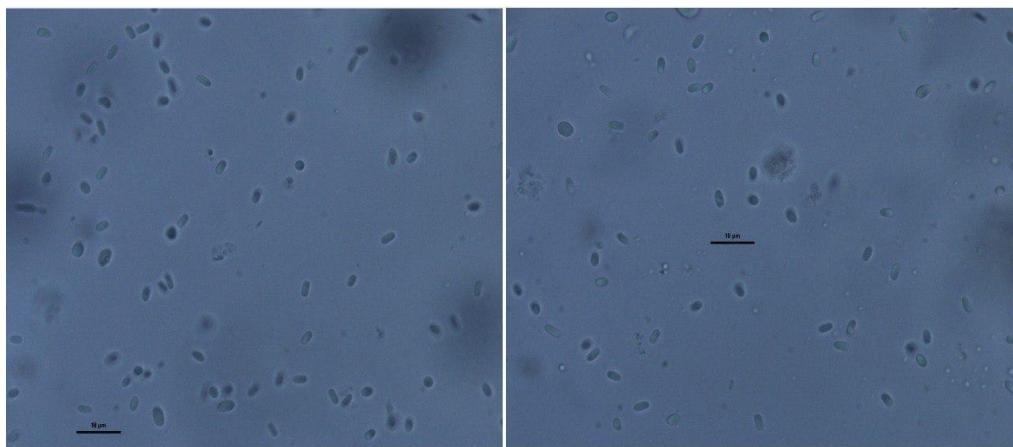
(Şekil 4.1). Patojenin mikroskop altındaki tespitinde en temel safha olan spor safhası birçok diseksiyonda gözlenmiş ve sporlarının ölçümü yapılmıştır.



Şekil 4.1 Tespit Edilen Mikrosporidyum Patojenin Işık Mikroskobu (40x) Görüntüsü

Mikrosporidyum patojeninin en belirgin karakteristik özelliği sporların ışığı farklı şekilde kırmaları, aynı boyut ve şekle sahip olmaları bakımından konakçının diğer dokularından rahatça ayırt edilebilmektedir. Tespit edilen mikrosporidyum enfeksiyonu konağın bağırsağı, yağ dokusu, malpighi tüpleri ve salgı bezleri gibi bir çok doku ve organda gözlenmiştir (Şekil 4.2).

Böceklerde enfeksiyona neden olan entomopatojenler ışık mikroskobu altında morfolojik olarak birbirlerine çok benzemektedir. Çeşitli patojen türleri farklı özellikteki yapılarının varlığı ile karakterize edilebilmektedirler. Özellikle birçok mantar türü morfolojik yapıları ile mikrospor patojeninin spor safhasına çok benzemektedir. Işık mikroskobu çalışmalarında patojenlerin neden olabileceği bu karışıklığı gidermek ve mikrosporidyum patojenini diğer dokulardan ve patojenlerden ayırt edebilmek amacıyla çeşitli boyama teknikleri kullanılmaktadır. Entomopatojenlerin tespitinde yaygın olarak kullanılan giemsa boyası ile preparatlar boyanarak mikrosporidyum patojeninin karakteristik safhası olan sporlar tespit edilmiştir (Şekil 4.2).



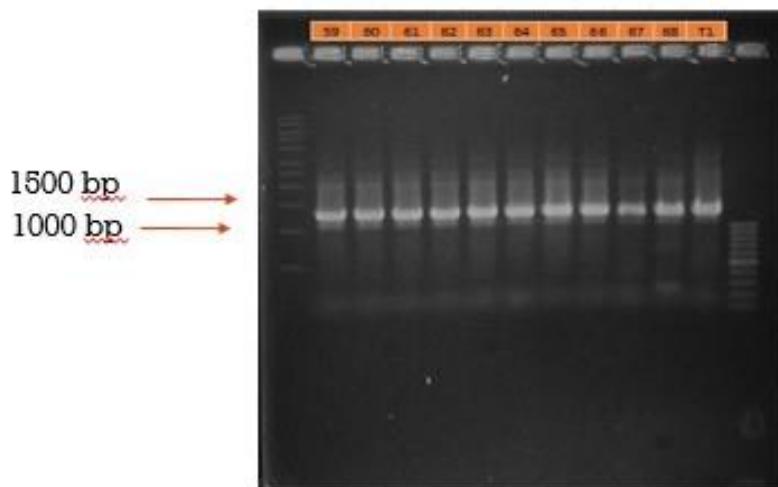
Şekil 4.2 Tespit Edilen Mikrosporidyum Patojenin Giemsa Boyalı Görüntüsü

Mikroskopik çalışmalar sonucunda tespit edilen mikrosporidyum patojenin, tek hücreli, oval şekilli, küçük, $3,68 \times 2,25 \pm 0,05 \mu\text{m}$ ebatlarında spor yapılarına sahip olduğu gözlenmiş ve Giemsa boyalı preparatlarda yapılan ölçüm çalışmaları sonucunda mikrosporların $3,08 \times 1,9 \pm 0,02 \mu\text{m}$ olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2).

Kellen ve Lindegren (1968, 1969), California'da ki *P. interpunctella* türlerinde 2 mikrosporidian türü tanımlamıştır. Bu türler; *Nosema plodiae* ve *Thelohania nana*'dır. Maddox ve Sprenkel (1978), ile Malone ve Canning (1982), daha sonra bu iki türün aslında *Vairimorpha* cinsinin bir üyesi olarak kabul edilmesi gereken tek bir dimorfik tür olduğu sonucuna varmışlardır. Türkiye'de ise ilk defa Yaman ve ark., (2016b) *P. interpunctella* popülasyonlarında *V. plodiae* tespit edilmiştir. Yaman ve ark., (2016b) tespit ettikleri patojenin taze çift çekirdekli sporlarının oval olduğu ve $4,48 \pm 0,23$ ($4,01$ – $4,84$) μm uzunlığında ve $2,21 \pm 0,15$ ($1,91$ – $2,48$) genişliğinde olduğunu bildirmiştir. Ultrastrüktürel çalışmalar ile de spor duvarının 150 ila 200 nm ölçüğünü ve berrak bir endospor (125-150 nm) ve elektron yoğun, tek biçimli, ince bir ekzospordan (30-50 nm) oluştuğunu göstermişlerdir. Ayrıca, İki çekirdekli sporun spor yapısı, bir sabitleme diski olan bir polar filament, bir polaroplast, bir arka vakuol ve mitokondri eksikliği Mikrosporidia'ların tipik özellikleri olarak bilinmektedir (Larsson, 1986). Mevcut doktora tez çalışmasında tespit edilen mikrosporidium patojeninin de ölçümleri de *Vairimorpha* cinsinin ölçülerile eşleşmekte olup Yaman ve ark., (2016b) tarafından Türkiye'de tespit ettiği *V. plodiae* ile benzer olduğu mikroskopik çalışmalar ile belirlenmiştir.

4.1.1 Mikrosporidium Patojeninin Karakterizasyonu

Makroskopik ve mikroskopik incelemeler sonucunda farklı illerden tespit edilen mikrosporidium patojeninin SSU rDNA bölgesi PZR ile çoğaltılarak PZR ürünleri jelde görüntülenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 *Plodia interpunctella*'da Tespit Edilen Mikrosporidium Patojenlerinin Jel Görüntüsü

DNA izolasyonu yapılan ve PZR'da pozitif sonuç elde edilen örnekler sekans analizine gönderilmiştir.

4.1.2 Mikrosporidium Patojeninin Filogenisi

Mikrosporidium filumunun üyeleri sınıflandırmak için geleneksel olarak kullanılan morfolojik karakterler sınırlı kullanıma sahiptir ve eleştirel olarak yeniden değerlendirilmeleri gerekmektedir. Morfolojik çalışmalar ile filogenetik analizlerin kombinasyonu halinde yapılan çalışmaların mikrosporidiaların arasındaki filogenetik ilişkinin yeniden tanımlanmasında daha güvenilir olabileceği bildirilmektedir (Müller ve ark., 2000).

Bu amaçla, sekans analizi yapılan mikrosporidium patojenini diğer mikrosporilarla karşılaştırmak ve de Türkiye izolatının diğer izolatlarla olan ilişkisini incelemek için baz dizi analizleri yapılmıştır. Belirlenen baz dizisindeki %G+C içeriği Fast PCR programı kullanılarak isolate TR (tespit edilen patojene verilen geçici isim) için %37,7 olarak belirlenmiştir. Elde edilen baz indeks sonuçları, NCBI (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi) BLAST (Temel Yerel Hizalama Aracı) ara

yüzündeki diğer kayıtlarla karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.1). MaximumLikelihood ağaç topolojisi oluşturulurken dış grup olarak *Trypanosoma congolense* (GenBank accession no: FN265929.1) ve *Trypanosoma congolense* isolate HO-Go05_GAB2019 (GenBank accession no: MW364099.1) türleri kullanılmıştır.

Çizelge 4.1 Tespit Edilen Mikrosporidyum Patojeninin Filogenetik Analizinde Kullanılan SSU rDNA Dizileri ve GenBank Erişim Numaraları

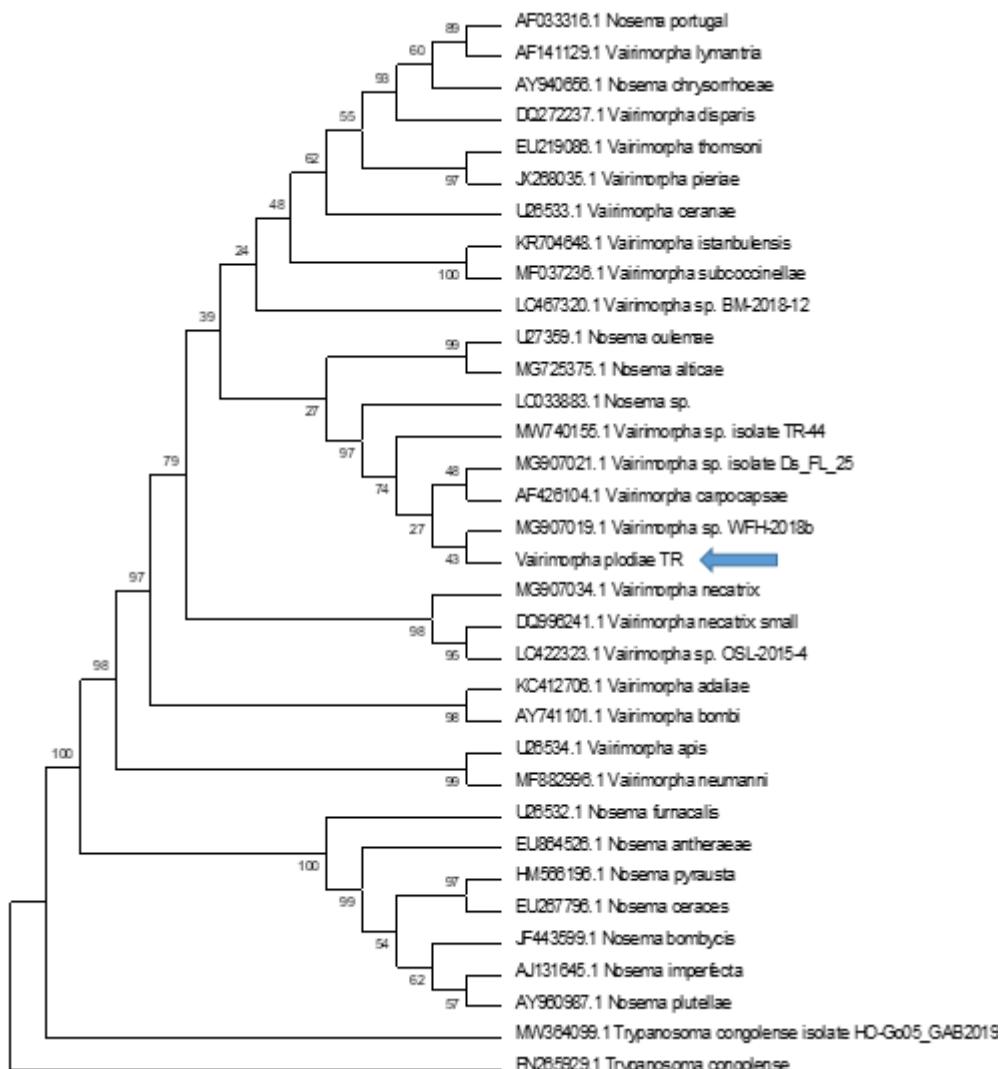
Organizma adı	Access. No.	Konak	Takım	Familya
<i>Nosema oulemae</i>	U27359.1	<i>Oulema melanopus</i> L.	Coleoptera	Chrysomelidae
<i>Nosema</i> sp.	LC033883.1	<i>P. interpunctella</i>	Lepidoptera	Pyralidae
<i>Nosema alticae</i>	MG725375.1	<i>Altica hampei</i>	Coleoptera	Chrysomelidae
<i>Nosema chrysorrhoeae</i>	AY940656.1	<i>Euproctis chrysorrhoea</i>	Lepidoptera	Erebidae
<i>Nosema portugal</i>	AF033316.1	<i>Lymantria dispar</i>	Lepidoptera	Erebidae
<i>Nosema furnacalis</i>	U26532.1	<i>Ostrinia furnacalis</i>	Lepidoptera	Crambidae
<i>Nosema antheraeae</i>	EU864526.1	<i>Antheraea pernyi</i>	Lepidoptera	Saturniidae
<i>Nosema pyrausta</i>	HM566196.1	<i>Ostrinia nubilalis</i>	Lepidoptera	Crambidae
<i>Nosema ceraces</i>	EU267796.1	<i>Cerace stipatana</i>	Lepidoptera	Tortricidae
<i>Nosema imperfecta</i>	AJ131645.1	<i>Plutella xylostella</i>	Lepidoptera	Plutellidae
<i>Nosema plutellae</i>	AY960987.1	<i>Plutella xylostea</i>	Lepidoptera	Plutellidae
<i>Nosema bombycis</i>	JF443599.1	<i>Bombyx mori</i>	Lepidoptera	Bombycidae
<i>Vairimorpha</i> sp. isolate TR-44	MW740155.1	<i>E. kuehniella</i>	Lepidoptera	Pyralidae
<i>Vairimorpha</i> sp. isolate Ds_FL_25	MG907021.1	<i>Diatraea saccharalis</i>	Lepidoptera	Crambidae
<i>Vairimorpha</i> sp. WFH-2018b	MG907019.1	<i>P. interpunctella</i>	Lepidoptera	Pyralidae
<i>Vairimorpha</i> sp. BM-2018-12	LC467320.1	<i>Bombyx mori</i>	Lepidoptera	Bombycidae
<i>Vairimorpha thomsoni</i>	EU219086.1	<i>Choristoneura conflictana</i>	Lepidoptera	Tortricidae
<i>Vairimorpha necatrix</i> small	DQ996241.1	<i>Pseudaletia unipuncta</i>	Lepidoptera	Noctuidae
<i>Vairimorpha carpocapsae</i>	AF426104.1	<i>Cydia pomonella</i>	Lepidoptera	Tortricidae
<i>Vairimorpha</i> sp. OSL-2015-4	LC422323.1	<i>Spodoptera litura</i>	Lepidoptera	Noctuidae

Çizelge 4.1 Tespit Edilen Mikrosporidyum Patojeninin Filogenetik Analizinde kullanılan SSU rDNA Dizileri ve GenBank Erişim Numaraları (devamı)

Organizma adı	Access. No.	Konak	Takım	Familya
<i>Vairimorpha</i> sp. OSL-2015-4	LC422323.1	<i>Spodoptera litura</i>	Lepidoptera	Noctuidae
<i>Vairimorpha apis</i>	U26534.1	<i>Apis mellifera</i>	Hymenoptera	Apidae
<i>Vairimorpha neumannii</i>	MF882996.1	<i>Apis mellifera</i>	Hymenoptera	Apidae
<i>Vairimorpha adaliae</i>	KC412706.1	<i>Adalia bipunctata</i>	Coleoptera	Coccinellidae
<i>Vairimorpha bombi</i>	AY741101.1	<i>Bombus hypnorum</i>	Hymenoptera	Apidae
<i>Vairimorpha disparis</i>	DQ272237.1	<i>Lymantria dispar</i>	Lepidoptera	Erebidae
<i>Vairimorpha lymantria</i>	AF141129.1	-	-	-
<i>Vairimorpha ceranae</i>	U26533.1	<i>Apis cerana</i>	Hymenoptera	Apidae
<i>Vairimorpha istanbulensis</i>	KR704648.1	<i>Xanthogaleruca luteola</i>	Coleoptera	Chrysomelidae
<i>Vairimorpha subcoccinellae</i>	MF037236.1	<i>Subcoccinella vigintiquatuorpunctata</i>	Coleoptera	Epilachninae
<i>Vairimorpha necatrix</i>	MG907034.1	<i>Mythimna unipuncta</i>	Lepidoptera	Noctuidae
<i>Nosema pieriae</i>	JX268035.1	<i>Pieris brassicae</i>	Lepidoptera	Pieridae
<i>Trypanosoma congolense</i>	F N265929.1	-	Trypanosomatida	Trypanosomatidae
<i>Trypanosoma congolense</i> isolate HO-	MW364099.1	Goat	-	-
Go05_GAB201 9				
<i>V. plodiae</i> TR (= Isolate TR)	-	<i>P. interpunctella</i>	Lepidoptera	Pyralidae

P. interpunctella'da tespit edilen mikrosporidyum patojeninin Türkiye'den ilk kaydı Yaman ve ark., (2016b) tarafından izolasyonu ve karakterizasyonu yapılarak tespit edilmiştir. Bu doktora tez çalışması ile hem Türkiye'de ki farklı popülasyonlardaki dağılımı hem de Türkiye izolatının diğer izolatlarla olan ilişkisinin detaylı bir şekilde incelenmesi yapılmıştır. Hem bu bilgiler doğrultusunda hemde ışık mikroskopu incelemeleri ile birlikte moleküller çalışmalarının sonucunda tespit edilen patojenin *Vairimorpha* cinsine ait olduğu (SSU rRNA geni isolate TR için G+C içeriği %37,7) tekrar teyit edilmiştir.

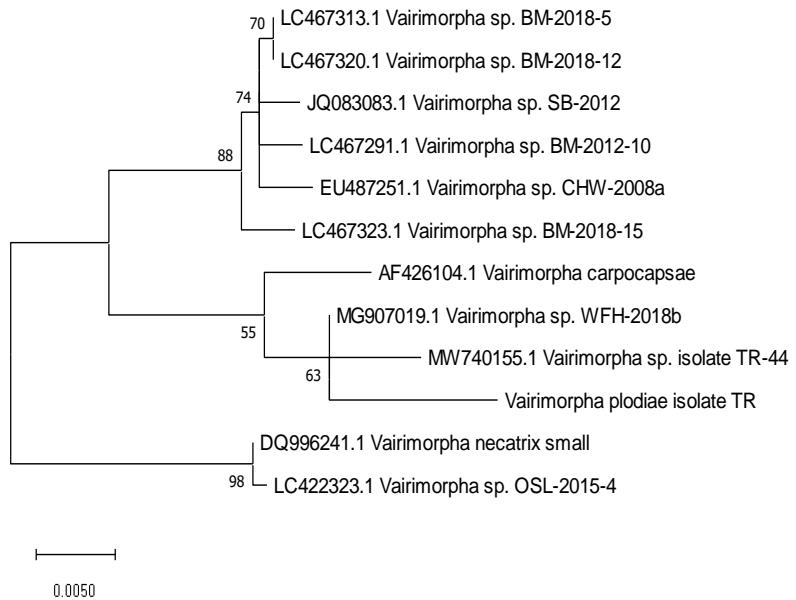
NCBI.BLAST analiz sonucunda, isolate TR'den klonlanan 16S SSU rRNA geni için 12 tür ile yüksek benzerlik gösterdiği belirlenmiş ve *P. interpunctella*'da tespit edilen mikrospor patojeninin baz dizisinin yanı sıra çoğu Lepidoptera takımında doğal enfeksiyona neden olan mikrospor türleri ve ikisi analizde dış grup olmak üzere toplam 31 farklı veri kullanılarak isolate TR için MaximumLikelihood ağaç topolojisi elde edilmiştir (Şekil 4.4).



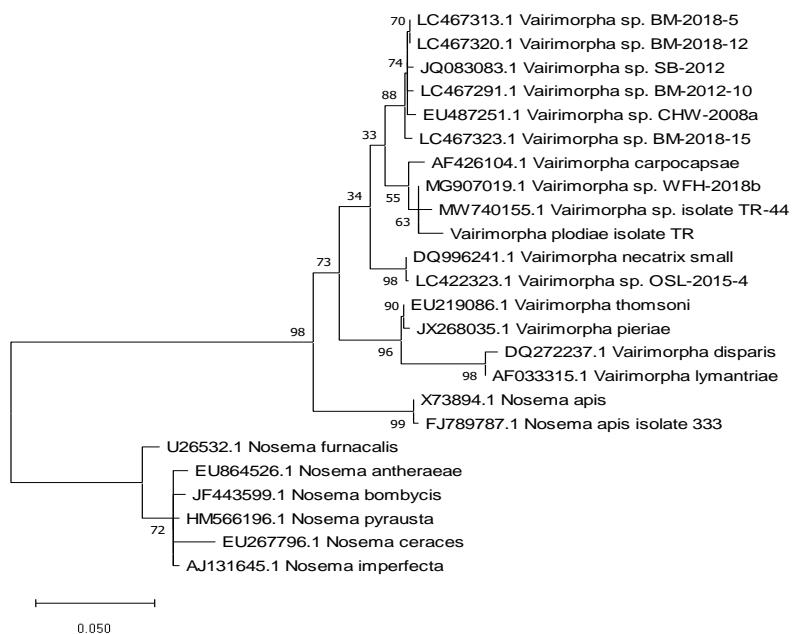
Şekil 4.4 SSUrRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konaklardan İzole Edilen Mikrosporidium Türleri Arasındaki Filogenetik İlişkiler (Ağaç, Kimura 2 Parametre Mesafesi Kullanılarak Maximum Likelihood Method İle Oluşturulmuş ve MEGA.10 Programı İle 1000 Bootstrap İle Değerlendirilmiştir. Analizde Dış Grup Olarak *Trypanosoma congolense* Kullanılmıştır).

Mega 10 (X) programı yardımıyla 1000 bootstrap ve GTR+G evrim modeli kullanılarak yapılan MaximumLikelihood analizi sonuçlarına göre, analiz edilen tüm verilerin 2 ana grup altında (Nosema ve Vairimorpha) toplandığı görülmektedir (Şekil 4.4). GenBank'tan elde edilen verilere ek olarak, araştırmaya konu olan mikrosporidyum türünün 16S SSU rRNA'sının baz dizisi, MEGA10 programı ve Pairwase mesafe analizi (EK-1) ile Kimura 2 modeline göre hesaplanmış ve analizde kullanılan örneklerin baz farklılıklarını da tespit edilmiştir (Kimura, 1980; Tamura ve ark., 2013).

Mikrosporların sınıflandırılmasında filogeninin yanı sıra konukçu türler de büyük önem taşımaktadır. Çalışmada tespit edilen isolate TR Lepidoptera takımına ait *P. interpunctella*'dan izole edilmiştir ve yine *P. interpunctella*'dan izole edilen *Vairimorpha* sp. WFH-2018b (GenBank accession MG907019.1) ile %63 oranında SSU rRNA gen dizisi benzerliği göstererek *Vairimorpha* grubunda yer almıştır (Şekil 4.5). Benzer şekilde yine yakın türler olarak benzerlik gösteren *Vairimorpha carpocapsae* (Genbank accession: AF426104.1) ve *Vairimorpha* sp. isolate Ds_FL_25 (Genbank accession: MG907021.1) türlerinin de takımı Lepidoptera'dır (Çizelge 9). *Vairimorpha carpocapsae* türünün izole edildiği konak türü *Cydia pomonella*, *Vairimorpha* sp. isolate Ds_FL_25 türünün izole edildiği konak türü *Diatrea saccharalis*'tir.



Şekil 4.5 SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konaklardan İzole Edilen Mikrosporidyum Türleri Arasındaki Filogenetik İlişkiler



Şekil 4.6 SSU rRNA'ya Dayalı Olarak Farklı Konaklardan İzole Edilen Mikrosporidyum Türleri Arasındaki Filogenetik İlişkiler

V. plodiae isolate TR ile %63 oranında benzerlik gösteren *Vairimorpha* sp. WFH 2018b (GenBank accession MG907019.1)'nin tespit edildiği ülke Amerika Birleşik Devletleri'dir ve ayrıca *P. interpunctella*'dan tespit edilmiştir. Bizim tespit ettiğimiz *V. plodiae* isolate TR ise Türk izolatıdır ve en yakın benzerlik gösterdiği bu

türe sadece %63 benzer olması ile Türkiye izolatının diğer türlerden farklı olduğu filogenetik veriler ile belirlenmiştir. Benzer şekilde yine *V. plodiae* isolate TR ile %55 benzer olan *Vairimorpha* sp. isolate TR-44 (Genbank accession: MW740155.1) türünün konak takımı Lepidoptera, izole edildiği konak türü ise *E. kuehniella*'dır. Ayrıca Trabzon/Türkiye'den izole edilmiştir. Ancak bizim tespit ettiğimiz *V. plodiae* isolate TR ile gen dizi benzerliği diğer benzer türlere kıyasla daha düşük olması nedeniyle de tespit ettiğimiz Türkiye izolatı *V. plodiae* isolate TR'nin bir kez daha diğer türlerden farklı olduğu filogenetik veriler ile kanıtlanmıştır.

Gen dizi benzerliği en yakın olan tür *Vairimorpha* sp. WFH-2018b'nin tespit edildiği konağın *P. interpunctella* olduğu Çizelge 4.1'de görülmektedir. Sonuç olarak, filogenetik durum, isolate TR için G+C içeriğinin %37,7 olması, ışık mikroskopu gözlemleri, *P. interpunctella*'nın mikrosporidyum patojeninin *Vairimorpha* cinsine ait bir tür olduğunu bir kez daha kanıtlamıştır ve isolate TR'nin *Vairimorpha plodia* olduğu teyit edilerek *P. interpunctella*'dan tespit edilen mikrosporidyum *Vairimorpha plodia* isolate TR olarak isimlendirilmiştir.

4.1.3 Mikrosporidyum *Vairimorpha plodiae* isolate TR'nin İnsektisidal Etkinliğinin Belirlenmesi

Mikrosporidialar böcek patojenlerinin önemli bir grubudur ve biyolojik mücadelede kullanım açısından en gelecek vaat eden mikroorganizmalar arasında yer almaktadır (Tanada ve Kaya, 1993; Güngör, 2014). Böceklerdeki mikrosporidyum enfeksiyonları genellikle kroniktir ve konağın üreme yeteneğinin azalmasına neden olur. Ayrıca mikrosporidyum enfeksiyonları konak böceğiin ömrünün kısalmasına neden olur (Yaman ve ark., 2016a; Yaman ve ark., 2016b). Mikrosporidia, böceklerde yaygın ve yüksek enfeksiyonu nedeniyle zararlı böcek popülasyonları için önemli bir biyolojik ajandır. Bu nedenle böceklerde mikrosporidiaların neden olduğu baskılıayıcı enfeksiyonlar biyolojik kontrol için istenen bir durumdur (Yaman ve Radek, 2005; Yaman ve ark., 2009b; Yaman ve ark., 2022b).

Bu amaç doğrultusunda *Vairimorpha plodiae* isolate TR'nin *P. interpunctella*'nın farklı instar evrelerindeki inşektisidal etkisinin belirlenmesi için, sağlıklı 20'şer larva kullanılarak deneyler 3'er kez tekrarlanmıştır. Yürüttülen deneylerin sonuçları 3 deneyin ortalaması olarak tespit edilmiştir. Yoğunlukları 1.6×10^7 seyreltilen entomopatojen numunelerini içeren solusyona eşit boyutlardaki

(2x2 mm) fındık tablet parçaları daldırılarak oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra kontrol grubu haricindeki deney gruplarına entomopatojenleri içeren bu fındık tabletler verilmiştir (Şekil 4.7). Kontrol grubundaki bireyler ise steril suya batırılan fındık parçaları ile beslenmiştir. Sonraki günlerde besinlerini tüketen tüm grupların bulunduğu kaplar yenilenerek bireyler temiz ve entomopatojen içermeyen fındık tablet parçaları ile günlük olarak beslenmiştir. 14 günlük deney süresince tüm gruplar, 26 ± 1 °C'de %40-60±1 nem oranına ayarlanmış iklim dolabında bulundurularak günlük olarak incelenmiştir.



Şekil 4.7 Bioassay Denemesinde Kullanılan Fındık Tabletler

V. plodiae isolate TR'nin insektisidal etkinliği için 9 deney grubu ve 3 kontrol grubu olmak üzere toplam 12 tane deney düzeneği hazırlanmıştır. Deney süresince *P. interpunctella* ölüm oranları günlük not edilmiş ve ölen larvalar hemen disekte edilerek entomopatojen enfeksiyonu açısından teyit edilmiştir.

1. 2. ve 3. deney düzeneklerinde 1. ve 2. instar larvalar (Çizelge 4.2), 4., 5. ve 6. deney düzeneğinde 3. instar larvalar (Çizelge 4.3), 7., 8. ve 9. deney düzeneğinde aktif son dönem *P. interpunctella* larvaları kullanılmıştır (Çizelge 4.4). Kontrol gruplarına ise; 1. kontrol grubuna deney düzeneğinde benzer şekilde 2. instar larvalar, 2. kontrol grubuna 3. instar larvalar ve 3. kontrol grubuna da son dönem *P. interpunctella* larvaları kullanılmıştır.

Çizelge 4.2 *Vairimorpha plodiae* isolate TR'nin *P. interpunctella*'nın 1. ve 2. İnstar Larvaları Üzerindeki İnsektisidal Etkinliği

Deney sayısı	Deneyle’utilanan konsantrasyon	<i>P. interpunctella</i> sayısı ve instar dönemi (1./2. instar larva)	Abbott sonucu
1.Deney grubu	$1,6 \times 10^7$	20	% 100
2.Deney grubu	$1,6 \times 10^7$	20	% 100
3.Deney grubu	$1,6 \times 10^7$	20	% 95
Kontrol grubu	-	20	-

Çizelge 4.3 *Vairimorpha plodiae* isolate TR'nin *P. interpunctella*'nın 3. İnstar Larvaları Üzerindeki İnsektisidal Etkinliği

Deney sayısı	Deneyle’utilanan konsantrasyon	<i>P. interpunctella</i> sayısı ve instar dönemi (3. instar larva)	Abbott sonucu
4.Deney grubu	$1,6 \times 10^7$	20	% 54,8
5.Deney grubu	$1,6 \times 10^7$	20	% 43,0
6.Deney grubu	$1,6 \times 10^7$	20	% 54,8
Kontrol grubu	-	20	-

Çizelge 4.4 *Vairimorpha plodiae* isolate TR'nin *P. interpunctella*'nın Son Dönem İnstar Larvaları Üzerindeki İnsektisidal Etkinliği

Deney sayısı	Deneyle’utilanan konsantrasyon	<i>P. interpunctella</i> sayısı ve instar dönemi (son dönem instar larva)	Abbott sonucu
7.Deney grubu	$1,6 \times 10^7$	20	% 20,0
8.Deney grubu	$1,6 \times 10^7$	20	% 15,2
9.Deney grubu	$1,6 \times 10^7$	20	% 17,6
Kontrol grubu	-	20	-

Yapılan bioassay denemeleri sonuçlarına göre; *V. plodiae* isolate TR'nin $1,6 \times 10^7$ konsantrasyonun *P. interpunctella* 1. ve 2. instar larvalarına karşı oldukça yüksek derecede insektisidal etki gösterdiği ancak *P. interpunctella* instar dönemi arttıkça *V. plodiae* isolate TR'nin etkinliğinin düşüğü belirlenmiştir. Denemeler sonucunda ölen larvalarda *V. plodiae* isolate TR ölümünü teyit etmek için yapılan mikroskopik incelemelerde larvaların oldukça yüksek yoğunlukta *V. plodiae* isolate TR sporları ile enfekte olduğu ve hayatı kalma sürelerinin kısa olduğu gözlenmiştir.

Tez çalışmasının sonuçlarına benzer şekilde; Kellen ve Lindegren (1974), farklı konsantrasyonlardaki *Nosema plodiae* sporlarını içeren diyetlerle beslenen *P. interpunctella* larvalarının hayatı kalma sürelerinin kısallığını, spor konsantrasyonu

arttıkça ergin bireye geçiş oranının azaldığını ve hayatı kalan tüm yetişkinlerinde *N. plodiae* sporları ile enfekte olduğunu bildirmiştir.

P. interpunctella instar dönemi arttıkça mikrosporidyum patojeninin etki yüzdesinin düşüğü tespit edilmiştir. Bu yüzden *V. plodiae* isolate TR ve ticari olarak satılan *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Delfin®WG 11B2 biyolojik insektisit) süspansiyon karışımı *P. interpunctella* larvalarına karşı test edilmiş ve insektisidal etkinliği incelenmiştir.

Bu biyoassay denemesi için de hem deney hem de kontrol grupları oluşturulmuştur. Deney grubu için 4, kontrol grubu içinde 2 adet deney düzeneği kurulmuştur. 1. ve 2. deney gruplarına *P. interpunctella* 2. ve 3. instar larvaları (Çizelge 4.5), 3. ve 4. deney gruplarına da 4. dönem ve neredeyse son dönem larvalar eklenmiştir (Çizelge 4.6). Kontrol gruplarına da deney grubundakilere benzer şekilde 2., 3., 4. ve son dönem larvalar kullanılmıştır.

Çizelge 4.5 *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* ve *V. plodiae* isolate TR'nin 2. ve 3. İnstar Larvalardaki İnsektisidal Etkinliğinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Konsantrasyonlar

Deney sayısı	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	Deneye kullanılan konsantrasyon	<i>P. interpunctella</i> sayısı ve instar dönemi (2/3 instar larva)	Abbott sonucu
1.Deney grubu	0.25 gr Bt, 250 ml su	$1,6 \times 10^7$	20	% 100
2.Deney grubu	0.25 gr Bt, 250 ml su	$1,6 \times 10^7$	20	% 100
Kontrol grubu	-	-	20	-

Çizelge 4.6 *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* ve *V. plodiae* isolate TR'nin 4. ve Son Dönem İnstar Larvalardaki İnsektisidal Etkinliğinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Konsantrasyonlar

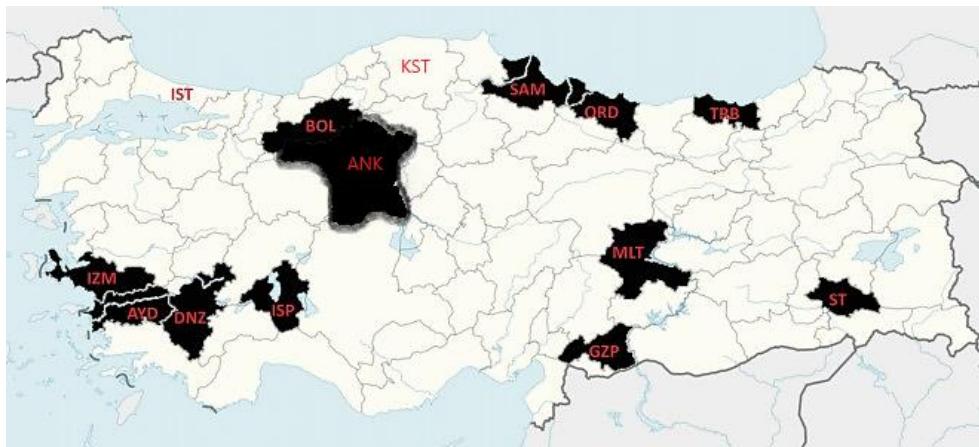
Deney sayısı	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	Deneye kullanılan konsantrasyo n	<i>P. interpunctella</i> sayısı ve instar dönemi (4. ve son instar larva)	Abbott sonucu
3.Deney grubu	0.25 gr Bt, 250 ml su	$1,6 \times 10^7$	20	% 100
4.Deney grubu	0.25 gr Bt, 250 ml su	$1,6 \times 10^7$	20	% 100
Kontrol grubu	-	-	20	-

Bioassay denemeleri sonucunda *P. interpunctella* 2. ve 3. dönem larvaların deneyin 3. ve 4. gününde tamamen öldüğü, 4. ve son dönem larvaların da benzer şekilde 4. günün sonunda tamamen öldüğü gözlenmiştir.

Yapılan bazı çalışmalar *P. interpunctella*'nın *Bacillus thuringiensis*'e karşı direnç geliştirebileceğini göstermiştir (Johnson ve ark., 1990; Van-Rie ve ark., 1990; McGaughey ve Johnson, 1992; Subramanyam ve Hagstrum, 1996; Herrero ve ark., 2001). Ancak tez çalışması boyunca yapmış olduğumuz *V. plodiae* isolate TR ve ticari olarak satılan *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* süspansiyon karışımına *P. interpunctella*'nın direnç gösterdiğine dair bir bulguya rastlanılmamıştır. Bu kapsamda *P. interpunctella*'nın daha çok zararlı olduğu 2. ve 3. instar zamanlarında *Bacillus thuringiensis*'in tek başına kullanılmasının yerine *V. plodiae* ile karışımı halinde uygulanmasının veya sadece *V. plodiae* uygulanmasının daha etkili bir sonuç verebileceği düşünülmektedir.

4.1.4 *Vairimorpha plodiae* isolate TR'nin Popülasyonlardaki Varlığı ve Dağılımı

Doktora tez çalışması boyunca toplamda 14 farklı ilden (Ankara, Aydın, Bolu, Denizli, Gaziantep, Isparta, İstanbul, İzmir, Kastamonu, Malatya, Ordu, Samsun, Siirt ve Trabzon) 6.367 (4.091 ölü larva, 609 canlı larva, 1.330 ergin ve 337 pupa) *P. interpunctella* larva, pupa ve ergini disekte edilmiştir. Disekte edilen toplam 6.367 böceğin 1.424'ü *V. plodiae* isolate TR tarafından enfekte olduğu ve ayrıca 14 popülasyonun 12'sinde *V. plodiae* isolate TR varlığı tespit edilmiştir (Şekil 4.8). Sadece iki popülasyonda enfeksiyon gözlenmemiştir. Enfeksiyon tespit edilemeyen iller ise İstanbul ve Kastamonu'dur (Şekil 4.8). Enfeksiyon gözlenmeyen iki ildeki popülasyonların lokal izole ve tek koloniden gelişen popülasyonlar olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.8 Türkiye'deki *P. interpunctella* Popülasyonlarında Mikrosporidian Patojen *V. plodiae* isolate TR Enfeksiyonları. (AYD: Aydın, BOL: Bolu, DNZ: Denizli, GZP: Gaziantep, ISP: İsparta, İST: İstanbul, İZM: İzmir, MLT: Malatya, ORD: Ordu, SAM: Samsun, ST: Siirt, TRB: Trabzon)

Tüm popülasyonlar için enfeksiyon ortalaması ise %22,4 olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, *V. plodiae* isolate TR enfeksiyonunun *P. interpunctella* popülasyonlarında önemli ölçüde yüksek prevalansa ulaştığı (%78,6) ve popülasyonlar arasında da %4,9-%78,6 arasında değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7 *P.interpunctella* Popülasyonlarında Tespit Edilen *V. plodiae* isolate TR Varlığı

Lokalite	İncelenen böcek sayısı	Enfekte böcek sayısı	Enfeksiyon oranı (%)
Ankara	623	45	7,2
Aydın	171	65	38
Bolu	2.089	529	25,3
Denizli	122	6	4,9
Gaziantep	599	34	5,7
Isparta	781	346	44,3
İstanbul	261	0	0
İzmir	45	15	33,4
Kastamonu	119	0	0
Malatya	791	60	7,6
Ordu	193	15	7,8
Samsun	271	213	78,6
Siirt	145	69	48,1
Trabzon	157	27	17,2
Toplam	6.367	1.424	22,4

Ayrıca bu tez çalışmasında, farklı popülasyonlardaki farklı yaşam evreleri (larva, pupa ve ergin) arasındaki enfeksiyon oranları da belirlenerek ve *V. plodiae*

isolate TR'nin *P. interpunctella*'nın tüm yaşam evrelerini enfekte ettiği de gösterilmiştir.

Toplam 6.367 örnekten 4.091 ölü larvadan 913'ü (%22,3), 609 canlı larvadan 116'sı (%19), 337 pupadan 58'i (%17,2) ve 1.330 ergin böcekten 337'sinin (%25,3) *V. plodiae* isolate TR tarafından enfekte olduğu tespit edilmiştir. En yüksek enfeksiyon oranı ise erginlerde görülmüştür (%25,3). Ölü ve canlı larva arasındaki enfeksiyon oranları arasında da önemli farklılıklar tespit edilmiştir (Çizelge 4.8). 609 canlı larvanın 116'sında (%19), 4.091 ölü larvanın 913'ünde (%22,3) *V. plodiae* isolate TR enfeksiyonu tespit edilmiştir (Çizelge 4.8).

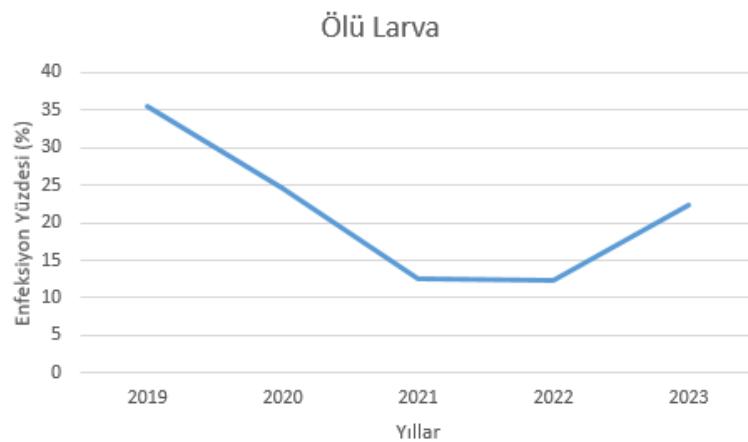
Çizelge 4.8 *P.interpunctella*'nın Farklı Yaşam Evrelerinde *V. plodiae* isolate TR Oluşumu

Yaşam Evresi	Disekte Edilen Örnek Sayısı	Enfekte Örnek Sayısı	Enfeksiyon Oranı (%)
Canlı Larva	609	116	19
Ölü Larva	4.091	913	22,3
Pupa	337	58	17,2
Ergin	1.330	337	25,3
Toplam	6.367	1.424	22,4

Çalışma boyunca tespit edilen *V. plodiae* isolate TR patojeni hem Türkiye'deki *P. interpunctella* popülasyonlarında hem de populasyonun pupa, larva ve erginlerinde çok yaygın (14 ilin 12'inde) olarak tespit edilmiştir. Böyle yaygın bir enfeksiyon, bir biyolojik kontrol ajansı için istenilen bir özellik olması nedeniyle oldukça önemlidir.

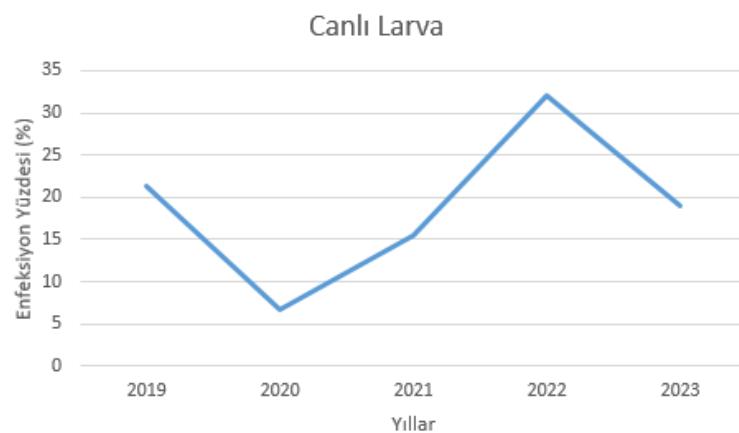
Tüm bu çalışmalara ek olarak, *V. plodiae* isolate TR'nin ölü larva, canlı larva, ergin ve pupa evresindeki enfeksiyon varlığının 5 yıl (2019, 2020, 2021, 2022 ve 2023) bazındaki değerlendirilmesi de yapılmıştır.

Ölü larvada tespit edilen en yüksek enfeksiyon %35,5 ile 2019 yılında tespit edilmiştir (Şekil 4.7). 2020 yılında; %24,5, 2021 yılında %12,5, 2022 yılında %12,4 ve son olarak 2023 yılında %22,3 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.9).



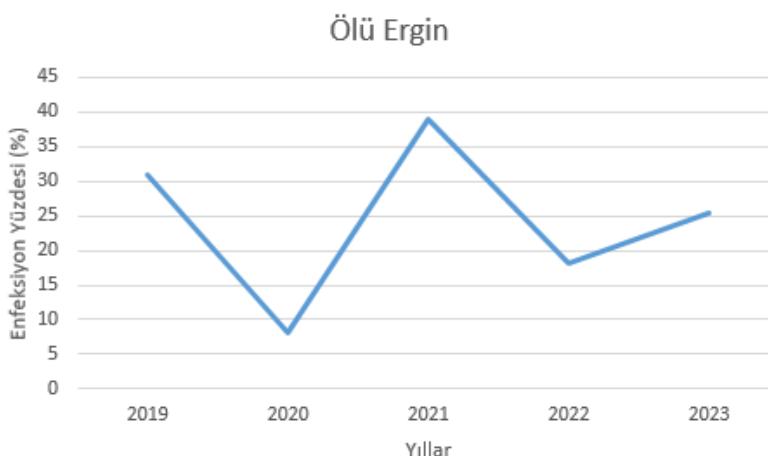
Şekil 4.9 Ölü Larvada Tespit Edilen *V. plodiae* isolate TR Enfeksiyonu

Canlı larvada tespit edilen en yüksek enfeksiyon %32 ile 2022 yılında tespit edilmiştir. 2019 yılında; %21,3, 2020 yılında %6,6, 2021 yılında %15,4 ve son olarak 2023 yılında %19 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.10).



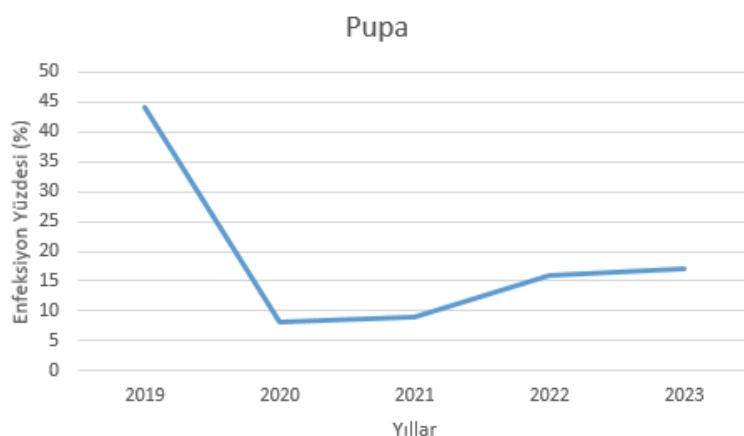
Şekil 4.10 Canlı Larvada Tespit Edilen *V. plodiae* isolate TR Enfeksiyonu

Ölü erginde tespit edilen en yüksek enfeksiyon %39 ile 2021 yılında tespit edilmiştir. 2019 yılında ise %31, 2020 yılında %8,1, 2022 yılında %18,2 ve son olarak 2023 yılında 25,3 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11 Ölü Erginde Tespit Edilen *V. plodiae* isolate TR Enfeksiyonu

Ve son olarak pupa evresinde tespit edilen en yüksek enfeksiyon ise %44 olarak 2019 yılında tespit edilmiştir. 2020 yılında ise %8,1, 2021 yılında %9, 2022 yılında %16 son olarak 2023 yılında %17,2 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12 Pupa Evresinde Tespit Edilen *V. plodiae* isolate TR Enfeksiyonu

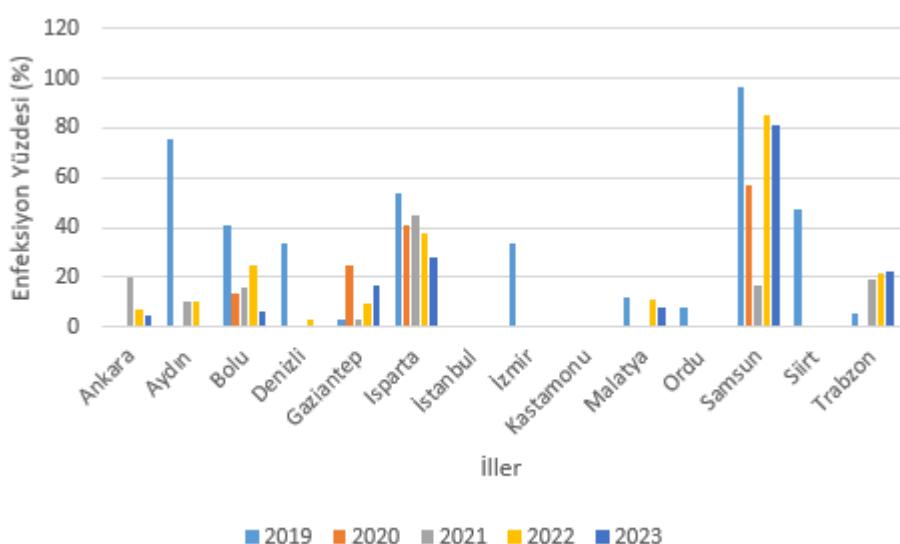
Solter ve ark., (2012)'ye göre mikrosporidia enfeksiyonunun enzootik prevalansı ara sıra veya sürekli olarak düşük seviyelerden, geniş seviyelere kadar değişiklik göstermektedir. Bunun, spesifik patojen konakçı etkileşimleri, yüksek konak yoğunluğu ve konakçının popülasyon dinamiklerinden kaynaklı olabileceği bilinmektedir. Ayrıca *P. interpunctella*'nın larva popülasyonu yoğunluğu, besin kaynaklarının farklılığından ve ebeveyn popülasyonlarına bağlı olarakta değişmektedir. Ayrıca Gage (1995), bu türün çok kozmopolit bir beslenme düzenine sahip olduğunu ve doğal ortamdaki/doğadaki popülasyonlarının sayısının bir kaç bireyden, yüksek yoğunluklu birden fazla jenerasyonlardan meydana geldiğini belirtmiştir. Tüm bunlara ek olarak teorik çalışmalar; hastalıkların, böceklerin

popülasyon dinamikleri üzerinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir (Sait ve ark., 1994).

Bu tez çalışmasında da popülasyonlar arasında gözlemlenen enfeksiyon oranlarındaki değişkenlik, bir popülasyondaki enfeksiyon oranının *P. interpunctella* popülasyon yoğunluğuna ve dinamiklerine bağlı olabileceğini desteklemektedir. Bu çalışmanın sonuçlarının da, *V. plodiae* isolate TR'nin doğal koşullar altında *P. interpunctella* popülasyonlarını düzenlemeye nasıl yardımcı olabileceğinin anlaşılması ve mikrosporidian patojenin bir haşere kontrol ajanı olarak potansiyelinin değerlendirilmesini desteklemesi açısından da önemli olduğu düşünülmektedir.

Ayrıca çalışmada, *P. interpunctella*'da tespit edilen *V. plodiae* isolate TR'nin ülke genelindeki dağılımı ve 2019, 2020, 2021, 2022 ve 2023 yılları arasındaki yoğunlukları da incelenmiştir.

Ülke genelindeki enfeksiyon dağılımına bakıldığından en yüksek enfeksiyon sırası ile; Samsun, Isparta ve Bolu illerinde tespit edilmiştir. Hiç enfeksiyon tespit edilemeyen iller ise Kastamonu ve İstanbul illeri olmuştur (Şekil 4.13).



Şekil 4.13 *V. plodiae* isolate TR'nin Ülke Genelindeki Dağılımı

Şekil 4.13 incelendiğinde; **2019** yılında tespit edilen en fazla enfeksiyon sırası ile; Samsun (%96), Aydın (%75,3) ve Isparta (%53,4) illerinde, **2020** yılında tespit edilen en fazla enfeksiyon, sırası ile; Samsun (%57,1), Isparta (%41) ve Gaziantep

(%25) illerinde, **2021** yılında tespit edilen en fazla enfeksiyon, sırası ile; Isparta (%45), Ankara (%19,6) ve Trabzon (%19) illerinde, **2022** yılında tespit edilen en fazla enfeksiyon, sırası ile; Samsun (%85), Isparta (%38) ve Bolu (%24,4) ve son olarak **2023** yılında tespit edilen en fazla enfeksiyon sırası ile; Samsun (%81), Isparta (28,2) ve Trabzon (22,5) illerinde tespit edilmiştir

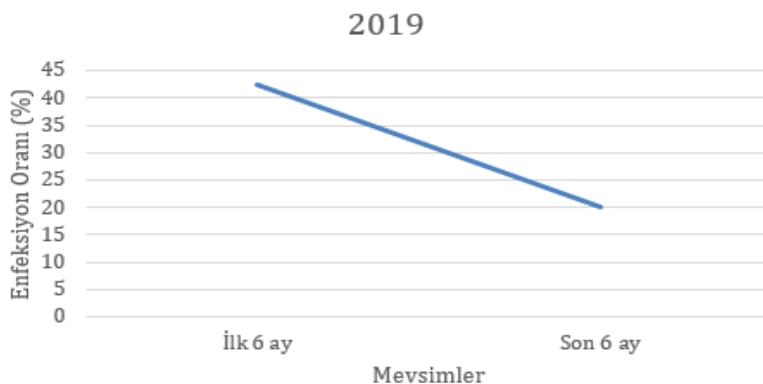
Yıllara göre enfeksiyon yoğunluğuna bakıldığından ise; en yüksek enfeksiyon oranı sırası ile; %33,7 ile 2019 yılında, daha sonra %18,1 ile 2020 yılında ve %16,4 ile 2022 yılında, sonra %15,8 ile 2021 yılında ve son olarak %13,7 ile de 2023 yılında tespit edilmiştir (Şekil 4.14).



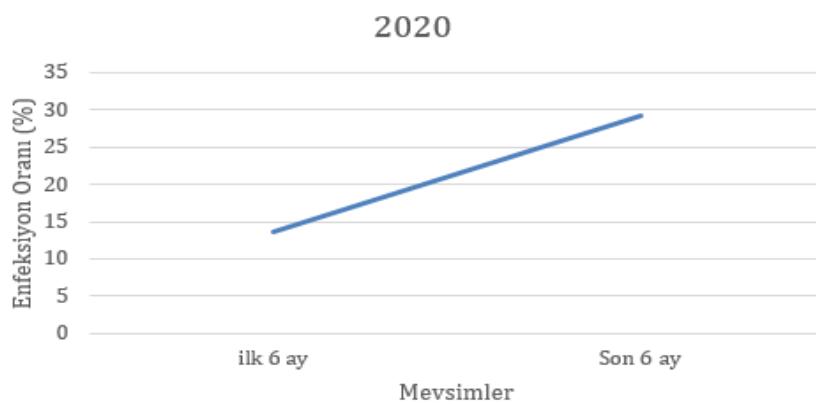
Şekil 4.14 2019, 2020, 2021, 2022 ve 2023 Yıllarında Tespit Edilen Toplam *V. plodiae* isolate TR Enfeksiyonu

Ek olarak bu çalışmada, mevsimsel olarak *V. plodiae* isolate TR yoğunluğu da detaylı bir şekilde incelenmiştir.

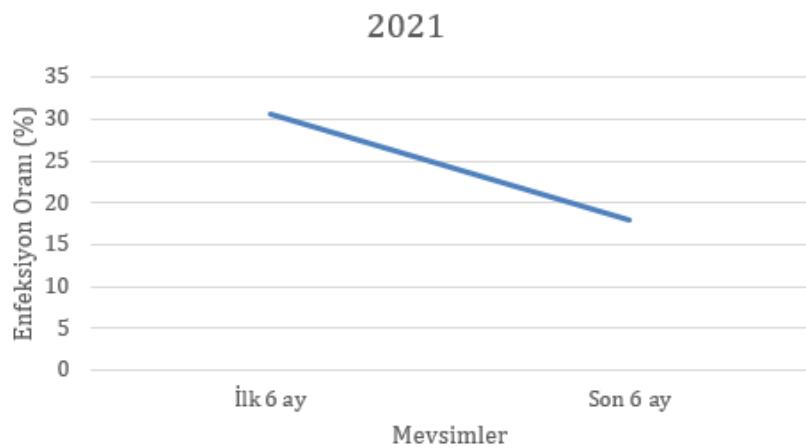
Çalışma boyunca elde edilen verilere göre, 2019 yılının ilk 6 ayında (Ocak, Şubat, Mart, Nisan, Mayıs ve Haziran) enfeksiyon oranı oldukça yüksek iken (%42), yılın ikinci yarısında %20'lere kadar düşüğü tespit edilmiştir (Şekil 4.15).



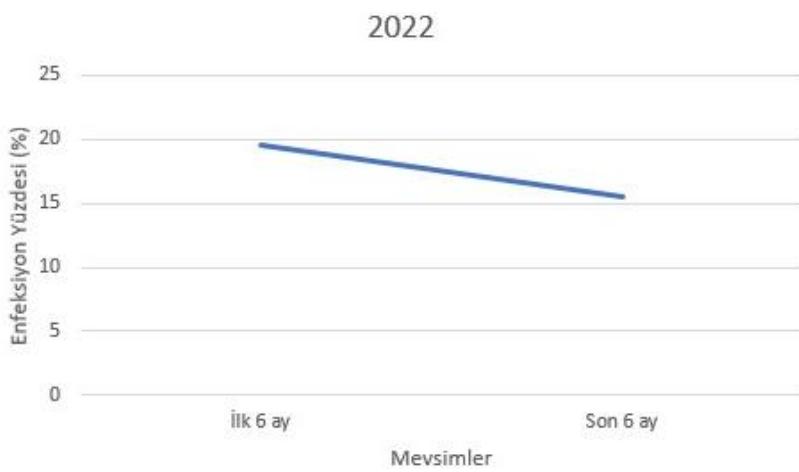
Şekil 4.15 2019 Yılında Tespit Edilen *V.plodiae* isolate TR Yoğunluğu 2020 yılının ilk 6 ayında ise, enfeksiyon oranı %13 iken, yılın son 6 ayında %29'lara kadar çıktıgı gözlenmiştir (Şekil 4.16).



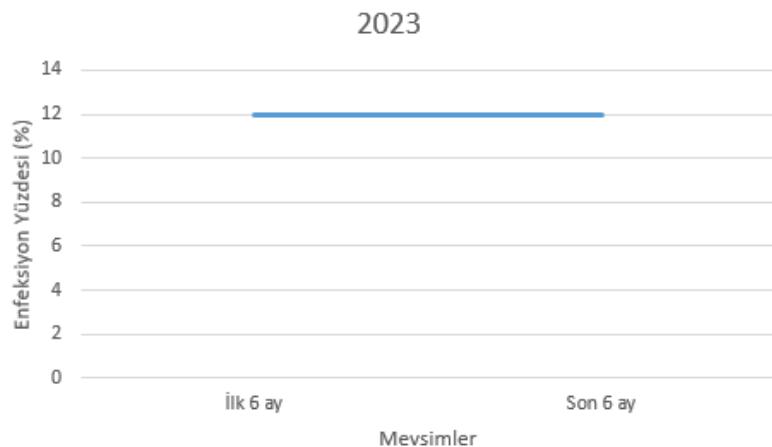
Şekil 4.16 2020 Yılında Tespit Edilen *V. plodiae* isolate TR Yoğunluğu 2021 yılında ki enfeksiyon yoğunluğuna bakıldığındá ise 2019 yılına benzer şekilde yılın ilk 6 ayında enfeksiyon oranı yüksek iken, son 6 ayında düşüş gözlenmiştir (Şekil 4.17).



Şekil 4.17 2021 Yılında Tespit Edilen *V. plodiae* isolate TR Yoğunluğu 2022 yılındaki enfeksiyon oranına bakıldığından hem 2019 hem de 2021 yıllarına benzer şekilde enfeksiyonun yılın ilk yarısında yüksek, yılın ikinci yarısında az bir düşüş olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.18 2022 Yılında Tespit Edilen *V. plodiae* isolate TR Yoğunluğu 2023 yılındaki enfeksiyon oranına bakıldığından ise hem yılın ilk yarısında hem de yılın ikinci yarısında aynı oranda enfeksiyon tespit edilmiştir (Şekil 4.19).



Şekil 4.19 2023 yılında Tespit Edilen *V. plodiae* isolate TR Yoğunluğu

P. interpunctella'nın gelişiminin sıcaklıktan etkilendiği bilinmektedir ve optimal sıcaklık düzeyinde gelişim hızlanmaktadır, bu düzeyin altındaki sıcaklıklarda ise yavaşlamaktadır. Sıcaklığın kontrollsüz bir şekilde olduğu depo veya evlerde özellikle soğuk aylarda *P. interpunctella* larvalarının diyapoz evresine girdiği ancak uygun ortam koşulları tekrar sağlandığında (özellikle ilkbaharın başlarında veya evlerin kış aylarında bile sıcak olmasıyla) güve popülasyonunda ciddi artışlar meydana geldiği bilinmektedir (Mason, 2002; Güngör, 2014). Eğer sıcaklık çok fazla düşmüyorsa güvenin diyapoz evrine girmediği de bildirilmiştir (Prevett, 1971). Çalışmamızda da mevsimsel olarak *V. plodiae* isolate TR yoğunluğunun incelendiği araştırma bulgularına göre; genelde yılın ilk 6 ayında enfeksiyon yoğunluğunun fazla olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.13, 4.15, 4.16 ve 4.17). Bu artışın ev ve depo ortamlarının sıcaklığından ve ortamın neminden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Yılın son 6 ayındaki enfeksiyon yoğunluğuna bakıldığına ise 2020 yılında enfeksiyon oranının arttığı gözlenmiştir (Şekil 4.14). Yılın sıcak ayları olması nedeniyle bu aylardaki enfeksiyonun artışında *P. interpunctella*'nın gelişimi için optimal sıcaklık şartlarının sağlanmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Çalışma boyunca, özellikle evlerden yapılan arazi çalışmalarında kış aylarında bile çok fazla güvelenmiş ürün bulabilmek mümkün olmuştur.

Düşük yoğunluktaki mikrosporidial virülans, konağın yaşam döngüsünü tamamlamasına olanak sağlarken mikrospodial patojenin yumurta veya embriyo yoluyla bir sonraki konakçı nesline aktarılmasını sağlayabilmektedir (Solter ve ark., 2012). Tez çalışmasında kapsamında, *P. interpunctella*'nın tüm yaşam evrelerinde

tespit edilen mikrosporidian patojenin yaygınlığı, *V. plodiae* isolate TR'nin daha düşük virülansına sahip enfeksiyonun, patojenin tüm yaşam evreleri boyunca ve bir sonraki konakçı nesile bulaşmasını sağladığını doğrulamaktadır.

Mikrosporidalar böceklerde kronik enfeksiyonlara neden olmak için dokuları istila eder. Böceğin doğurganlığının ve pupa ağırlığının azalmasına, ve de yaşam süresinin kısalmasına sebep olurlar (Solter ve ark., 2012).

Microspora filumunda yer alan; özellikle *Vairimorpha* cinsi üyeleri potansiyel mikrobiyal insektisit aday türlerini içermektedir. Yapılan bazı çalışmalarında da *Vairimorpha necatrix*'in lepidopteran zararlarda yüksek mortaliteye sahip olduğu ve gelecekte lepidoptera zararları ile mücadelede umut vaad eden ajanlar olduğu belirlenmiştir (Maddox ve ark., 1981; Down ve ark., 2004). Bu yüzden, *P. interpunctella*'nın önemli bir patojeni olan *V. plodiae* isolate TR üzerinde yapılan bu doktora tez çalışmanın sonuçları, mikrosporidian patojen *V. plodiae* isolate TR'nin çok yaygın ve yoğun olduğunu ve larva, pupa ve yetişkinlerin tüm yaşam evrelerinde yüksek enfeksiyonlara sebep olup *P. interpunctella* popülasyonlarında doğal olarak bulunduğu ortaya çıkarması nedeniyle biyolojik mücadele açısından oldukça önemli bir yere sahiptir.

Depolanmış ürün zararlara karşı çeşitli haşere kontrolü yöntemleri mevcuttur ancak bunların etkinliği sınırlıdır ve alternatiflere ihtiyaç vardır. Fakat *P. interpunctella* popülasyonlarını basklayan doğal entomopatojenik organizmalar üzerine çok az çalışma vardır. Şimdiye kadar mikrosporidian patojenler *Nosema plodiae* (Kellen ve Lindegren, 1971, 1973), *Vairimorpha plodia* (Malone, 1984a; Malone, 1984b; Yaman ve ark., 2016b) neogregarin patojen *Mattesia dispora* (Wendell ve Dicke, 1964) gregarin patojen *Leidyana* sp. (Suzaki ve ark., 2006) bakteriyel patojen *Bacillus thuringiensis* (Kantack, 1959; Nwanze ve ark., 1975; Kinsinger ve McGaughey, 1976; McGaughey, 1978), baculovirusler nükleopolihedrovirus (Hunter ve ark., 1979) ve granülovirus (Wilson ve Consigli, 1985) ve mantar patojenleri *Beauveria bassiana* (Adane ve ark., 1996) *Metarrhizium anisoplia*, *Paecilomyces farinosus* ve *Lecanicillium (Verticillium) lecanii* (Buda ve Peçiulytė, 2008) ve nematodlar *Steinernema feliae* (Oğuzoğlu ve Özer, 2007), *Steinernama riobrave* (Ramos-Rodríguez ve ark., 2007) *Heterorhabdites indica*,

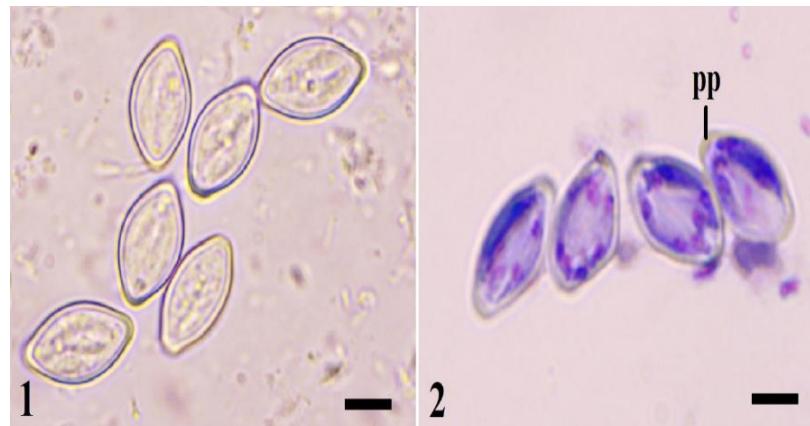
Heterorhabditis marelatus ve *Heterorhabditis megidis* (Mbata ve Shapiro Ilan, 2005), *P. interpunctella*'ya karşı potansiyel kontrol ajanları olarak incelenmiştir. Ancak *P. interpunctella*'da mikrobiyal patojenin doğal koşullardaki dağılımı, oluşumu ve potansiyeli üzerine herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışma ile *Vairimorpha plodiae* isolate TR'nin (Opisthokonta: Microspora)'nın 2019-2023 yılları arasında tüm Türkiye'yi temsil eden 12 lokalitedeki *P. interpunctella* popülasyonlarındaki dağılımı ve varlığı ilk kez kapsamlı bir saha çalışmasıyla ortaya konularak doğal popülasyonlar üzerindeki etkinliği doğrulanmıştır.

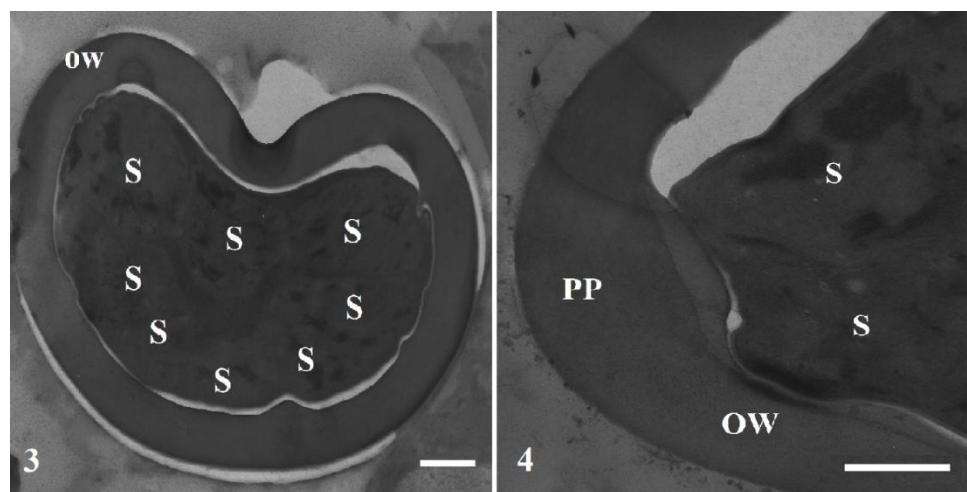
4.2 *Plodia interpunctella*'da Tespit Edilen Neogregarine Patojeni

Plodia interpunctella populasyonunda tespit edilen ikinci protist patojen bir neogregarine olmuştur. Tespit edilen neogregarine patojeninin ookistleri ve diğer hayat safhaları ışık ve TEM mikroskopları kullanarak incelenmiştir. Disekte edilmiş *P. interpunctella*'nın taze dokuları ışık mikroskopu altında incelenmiş ve patojenin yalnızca bir türü bulunmuştur.

Tespit edilen neogregarine patojeninin mikroskopik olarak belirlenmesi için ışık ve elektron mikroskopu (TEM) çalışmaları olmak üzere iki temel yol izlenmiştir. Tespit edilen neogregarine patojeni, önce ışık mikroskopu altında saptanmıştır (Şekil 4.20-1). Taze preparatlardaki neogregarine patojeninin ookistleri incelenmiştir. Daha sonra entomopatojenlerin detaylı bir şekilde ele alınmasında yaygın olarak kullanılan Giemsa boyama tekniği uygulanmış, ookist yapıları tekrar incelenmiş ve neogregarine varlığı teyit edilmiştir (Şekil 4.20-2). TEM çalışmaları ile neogregarine patojeninin ultrastrüktürel yapısı ortaya çıkarılmış ve karakteristik özelliklerinin belirlenmesi açısından detaylı olarak incelenmiştir (Şekil 4.21).



Şekil 4.20 Neogregarine Patojeninin Işık Mikroskobu Görüntüsü



Şekil 4.21 Neogregarine Patojeninin TEM Mikroskobu Görüntüsü

Tespit edilen neogregarine patojeni yoğunlukla larvaların yağ gövdelerinde gözlenmiştir ve patojenin polisporokistik ookistleri de enfeksiyonun kanıtı olarak bilinmektedir.

Patojenin tipik taze naviküler ookistleri $13,280 \pm 0,41$ (13,1–14,41) μm uzunluğunda ve $7,72 \pm 0,51$ (6,6–8,54) μm genişliğinde ($n=50$) olarak ölçülmüştür. Giemsa ile boyanmış ookistler ise $12,32 \pm 0,78$ (10,88–13,24) μm uzunluğunda ve $7,01 \pm 0,26$ (6,5–7,43) μm genişliğinde ölçülmüştür. Polar tüpler, 1400 ila 1600 nm olarak ölçülmüştür. Ookist duvarı oldukça kalın ve 800 ila 900 nm arasında olarak ölçülmüştür ve tespit edilen neogregarine patojeninin $37,79 \pm 4,45$ (31,07–42,81) çapında ölçülen ookistleri 8 ve daha fazla sporokist içeriği belirlenmiştir (Şekil 4.19).

Tespiti yapılan neogregarine patojen ilk kez Naville (1930), tarafından *Ephestia kuehniella* larvalarından tanımlanmıştır ve daha sonra *P. interpunctella*'nın

da dahil olduğu farklı konakçılardan kaydedilen *Mattesia dispora*'ya çok benzer olduğu belirlenmiştir (Yaman ve ark., 2021). Ayrıca, Yaman ve ark., (2019) bu patojeni Türkiye'deki *E. kuehniella*'nın laboratuvar kültürlerinden tanımlamışlardır. Her iki konakta (*E. kuehniella* ve *P. interpunctella*) depolanan ürünlerdeki zararlı böceklerle yakından ilişkilidir ve sıklıkla aynı yaşam alanını paylaşmalarıyla bilinirler. Bu yüzden hem literatür taraması, hem de ışık (Şekil 4.18) ve TEM mikroskopu (Şekil 4.19) çalışmaları sonucunda çalışmamızda tespit etmiş olduğumuz neogregarine patojeninin; *Mattesia dispora* olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamız boyunca *P. interpunctella* popülasyonlarında neogregarine patojeninin tek bir türü (*M. dispora*) tespit edilmiştir. Ancak Suzuki ve ark., (2006) *P. interpunctella* popülasyonlarında *Lediyan* sp.'yi tanımlamışlardır. Çalışmamızda oldukça fazla sayıda örnek incelememize rağmen tarafımızca başka bir patojen tespit edilememiştir.

Ek olarak gregarinler arasında yalnızca neogregarinler, konağın yağ gövdesini yok ederek ve enerji kaynaklarını tüketerek konakçıları üzerinde yüksek patojenik etkiye sahiptir (Yaman ve ark., 2022). Çalışma sonuçları, *M. dispora* enfeksiyonlarının *P. interpunctella* popülasyonlarında arzu edilen ve önemli doğal baskılacak faktörler olduğunu bir kez daha doğrulamıştır.

4.2.1 Neogregarine *Mattesia dispora*'nın insektisidal etkinliğinin belirlenmesi

Zararlı popülasyonlarında doğal bir baskılacak faktör olarak neogregarine enfeksiyonları hakkında çok az şey bilinmektedir. Neogregarinler lepidopteran kökenli zararlarda doğal enfeksiyonlar oluştururlar ve bazıları oldukça yüksek patojenite gösterir (Yaman ve ark., 2022). Bu nedenle neogregarinler Lepidopteran zararlara karşı potansiyel biyokontrol ajanları olarak kabul edilmişlerdir.

Bu amaçla; *Mattesia dispora*'nın insektisidal etkisinin belirlenmesi için, sağlıklı 20'şer larva kullanılarak deneyler en az 3'er kez tekrarlanmıştır. Yürüttülen deneylerin sonuçları 3 deneyin ortalaması olarak tespit edilmiştir. Yoğunlukları $1,6 \times 10^7$ seyreltilen entomopatojen numunelerini içeren solusyona eşit boyutlardaki (2x2 mm) findık tablet parçaları daldırılarak oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra kontrol grubu haricindeki deney gruplarına entomopatojenleri içeren bu findık tabletleri verilmiştir (Şekil 4.22). Kontrol grubundaki bireyler ise steril suya

batırılan fındık parçaları ile beslenmiştir. Sonraki günlerde besinlerini tüketen tüm grupların bulunduğu kaplar yenilenerek bireyler temiz ve entomopatojen içermeyen fındık tablet parçaları ile günlük olarak beslenmiştir. 14 günlük deney süresince tüm gruplar, 26 ± 1 °C'de %40-60±1 nem oranına ayarlanmış iklim dolabında bulundurularak günlük olarak gözlemlenmiştir.



Şekil 4.22 *Mattesia dispora*'nın İnsektisidal Etkinliği İçin Hazırlanmış Olan Bioassay Düzeneği

M. dispora'nın $1,6 \times 10^7$ konsantrasyonunun 2. ve 3. instar larvalara karşı insektisidal etkinliğinin belirlenmesi için 3 deney grubu ve 2 kontrol grubu olmak üzere toplam 5 tane deney düzeneği hazırlanmıştır (Çizelge 4.9). Deney süresince *P. interpunctella* ölüm oranları günlük not edilmiş ve ölen larvalar hemen disekte edilerek entomopatojen enfeksiyonu açısından teyit edilmiştir. 1. 2. ve 3. deney düzeneklerinde 2. ve 3. instar *P. interpunctella* larvaları kullanılmıştır. Kontrol gruplarına ise; deney düzeneğine benzer şekilde 2. ve 3. instar *P. interpunctella* larvaları kullanılmıştır.

Çizelge 4.9 *Mattesia dispora*'nın 2.-3. İnstar Larvaları Üzerindeki İnsektisidal Etkinliği Belirlenmesi İçin Hazırlanan Deney Düzeneği

Deney sayısı	Saf <i>M. dispora</i> yoğunluğu	Deneyde kullanılan konsantrasyon	<i>P. interpunctella</i> sayısı ve instar dönemi (2./3 instar larva)	Abbott sonucu
1.Deney grubu	$14,2 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$	20	% 100
2.Deney grubu	$14,2 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$	20	% 100
3.Deney grubu	$14,2 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$	20	% 95
Kontrol grubu 1	-	-	20	-
Kontrol grubu 2	-	-	20	-

Bioassay sonuçlarına göre; $1,6 \times 10^7$ konsantrasyonda *M. dispora* bulaştırılmış findık tablet ile beslenen *P. interpunctella* 2. ve 3.instar larvalarının deney başlangıcından yaklaşık 1 hafta içerisinde öldüğü gözlenmiştir. Kontamine besinle beslenen larvaların hareketlerinde yavaşlama ve renklerinde değişimler gözlenmiştir. Ölen larvaların diseksiyonu ile de enfeksiyonun tablet yemelerden besin aracılığı ile *P. interpunctella* larvalarına geçtiği ve yüksek derecede insektisidal etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Tarafımızca yapılmış olan, Yaman ve ark., (2022) çalışmada da *P. interpunctella*'nın ikinci/üçüncü dönem larvalarına karşı *M. dispora* sporları laboratuvar koşullarında test edildi. Bioassay sonuçlarına göre, *M. dispora*'nın *P. interpunctella*'nın ikinci/üçüncü dönem larvalarına karşı oldukça yüksek patojenik etkiye sahip olduğu ve %98,33 ölüm orANIyla oldukça yüksek bir virülansa sahip olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde mevcut tez çalışmasında da *M. dispora* sporlarının *P. interpunctella*'ya karşı oldukça yüksek derecede insektisidal etki gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.9).

Çalışmada ayrıca, *M. dispora*'nın farklı konsantrasyonlardaki insektisidal etkinliğinin belirlenmesi için 5 farklı konsantrasyonda ($1,5 \times 10^7$, $1,5 \times 10^6$, $1,5 \times 10^5$, $1,5 \times 10^4$ ve $1,5 \times 10^3$) deney düzeneği hazırlanmıştır ve toplamda her bir konsantrasyon için 60'sar larva kullanılmıştır (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10 *Mattesia dispora*'nın Farklı Konsantrasyonlardaki Yoğunlıklarının İnsektisidal Etkinliği Belirlenmesi İçin Hazırlanan Deney Düzeneği

Deney sayısı	Deneyde kullanılan <i>M. dispora</i> konsantrasyonu	<i>P. interpunctella</i> sayısı ve instar dönemi (2./3 instar larva)	Abbott sonucu
1.Deney grubu	$1,5 \times 10^7$	60	%98
2.Deney grubu	$1,5 \times 10^6$	60	%95
3.Deney grubu	$1,5 \times 10^5$	60	%100
4.Deney grubu	$1,5 \times 10^4$	60	%37,5
5.Deney grubu	$1,5 \times 10^3$	60	%24,2
Kontrol grubu	-	60	-

Bioassay sonuçlarına göre; *P. interpunctella* larvalarının deney başlangıcından 5-6 gün sonra ölmeye başladığı, canlı kalan larvaların ise daha erken pupa oluşturduğu, çoğunuğunun ise pupadan ergin evreye geçemediği gözlenmiştir. Deney sonucuna göre *M. dispora* için en uygun konsantrasyonun %100 ölüm ile $1,5 \times 10^5$, %98 ölümle $1,5 \times 10^7$ ve %95 ölümle $1,5 \times 10^6$ olduğu tespit edilmiştir.

Neogregarinlerde *Mattesia* cinsinin üyeleri, konakçıları üzerinde önemli patojenik etkiye sahip çeşitli böceklerin önemli patojenleri olarak bilinmektedir (Valigurova ve Koudela, 2006). Bu nedenle, neogregarinlerin birçok konakçı böcek üzerindeki etkileri, mikrobiyal kontrol amacıyla birçok yazar tarafından araştırılmıştır. Kapsamlı bir çalışmada, depolanan tahıldaki çeşitli zararlı böceklerden 2 *Mattesia* türü izole edilmiştir. *M. oryzaephili* *Cryptolestes ferrugineus*'tan, *M. dispora* türü de *Ephestia kuehniella*'da tespit edilmiştir (Lord, 2003).

Valigurova ve Koudela (2006), *Mattesia* cinsinin üyelerinin, konakçıları üzerinde önemli bir patojenik etkiye sahip olan, zararlı böceklerin önemli patojenleri olduğunu bildirmiştir. Bu nedenle, neogregarinlerin mikrobiyal kontrol ajanı olarak kullanılması ve konakçı böcek üzerindeki etkileri birçok araştırmacı tarafından da araştırılmıştır. Lord (2003), depolanan tahillarda bulunan çeşitli böcek zararlıları olan *Cryptolestes ferrugineus*'tan izole edilen *M. oryzaephili* ve *E. kuehniella*'dan izole edilen *M. dispora* olmak üzere 2 *Mattesia* türünün mikrobiyal kontrol için duyarlılıklarını test etmiştir. Araştırmacı, *Mattesia* türlerinin tahilların korunmasında biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilecek değerde olduğunu ancak daha fazla denemenin yapılması gerektiğini bildirmiştir.

Alfazairy ve ark., (2019) *P. interpunctella*'ya karşı *Mattesia* spp. türlerini test etmişlerdir ve *Mattesia*'nın larva ölümlerine sebep olmasının yanında, sporlarla enfekte olup hayatı kalan zararlı böcek popülasyonununda yoğunluğunu etkilediğini belirlemiştir. Bazı entomopatojenik protozoonların (örneğin neogregarine, coccidia ve microsporidia) bazı zararlı böcekler üzerindeki bu olumsuz etkileri birçok araştırmacı tarafından da gözlemlenmiştir. Örneğin; Milner (1972), mikrosporidian entomopatojen *Nosema whitei* tarafından ağır şekilde enfekte olmuş *Tribolium castaneum*'un pupaları ve yetişkinleri arasında deformasyonlar olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde Rabindra ve ark., (1981) neogregarin *Farinocystis tribolii* ile enfekte olmuş *Tribolium* türlerinde larva-pupa ve pupa-ergin gibi ara formları gözlemlemiştir. Yine Listov (1977), *N. whitei* ve koksidiyen parazit *Adelina tribolii*'nin, *Tribolium* spp. erginlerinin ikinci dönem larvalarına gıda aracılığı ile uygulandığında enfekte pupaların gelişliğini bildirmiştir.

Neogregarinlerin hem konak ölümüne sebep olması hemde neogregarine enfeksiyonunda sağ kalan böceğin depolamadaki böcek zararlarını baskılanması mikrobiyal mücadelede istenilen bir durumdur (Alfazairy ve ark., 2019). Bu nedenle neogregarinler böcek popülasyonlarının baskılanmasında oldukça önemli potansiyel kontrol ajanları olabilirler.

P. interpunctella, neogregarin patojenlerin kitlesel çoğalması için potansiyel bir konakçı görevi görebilir (Sağlam ve ark., 2021). Mevcut doktora tez çalışması ile, *P. interpunctella*'nın daha büyük miktarlarda neogregarin üretmek için bir ortam görevi görebileceğini ve *M. dispora*'nın *P. interpunctella* popülasyonunun doğal bir baskılacak faktörü olabileceğini doğrulamaktadır.

4.2.2 Neogregarine *Mattesia dispora*'nın Popülasyonlardaki Varlığı ve Dağılımı

Doktora tez çalışması boyunca *P. interpunctella*'da tespit edilen *M. dispora* patojeninin, Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan *P. interpunctella* popülasyonlarındaki alternatif doğal baskılacak faktörlerinin var olup olmadığını doğrulamak üzere patojenin varlığı ve dağılımı da çalışılmıştır. Toplam 14 farklı popülasyondan toplanan 6.367 *P. interpunctella* larva, pupa ve erginleri enfeksiyon varlığının öğrenilmesi için incelenmiştir ve incelenen örneklerin 824 tanesinde *M.*

dispora enfeksiyonu tespit edilmiştir. 14 popülasyonun 8'inde neogregarin patojenin varlığı bulunmuştur (Çizelge 4.11). Enfeksiyon tespit edilemeyen iller ise Aydın, Denizli, İstanbul, Kastamonu, Siirt ve Trabzon'dur.

Enfeksiyon ortalaması tüm popülasyonlar için %13 olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, *M. dispora* enfeksiyonunun *P.interpunctella* popülasyonlarında önemli ölçüde yüksek prevalansa ulaştığı (% 79,3) ve popülasyonlar arasında da %2,3-%79,3 arasında değişiklik gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11 *P.interpunctella* Popülasyonlarında Tespit Edilen *M. dispora* Varlığı

Lokalite	İncelenen böcek sayısı	Enfekte böcek sayısı	Enfeksiyon oranı (%)
Ankara	623	71	11,4
Aydın	171	0	0
Bolu	2.089	97	4,6
Denizli	122	0	0
Gaziantep	599	334	56
Isparta	781	93	12
İstanbul	261	0	0
İzmir	45	1	2,3
Kastamonu	119	0	0
Malatya	791	19	2,4
Ordu	193	15	7,8
Samsun	271	215	79,3
Siirt	145	0	0
Trabzon	157	0	0
Toplam	6.367	824	13

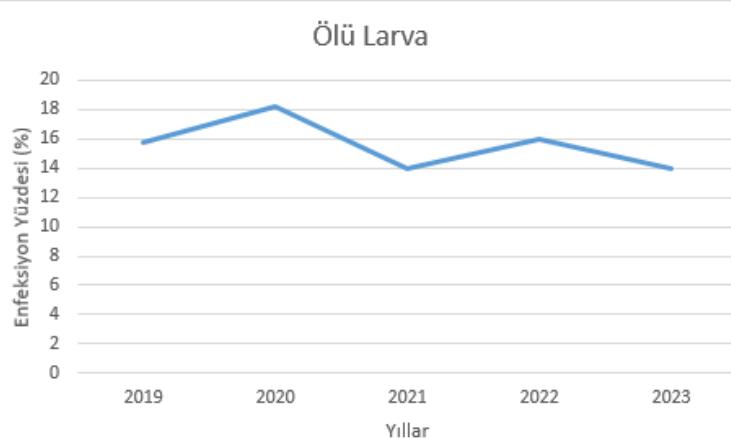
Ayrıca, farklı popülasyonlarda ki, farklı yaşam evreleri (larva, pupa ve ergin) arasındaki enfeksiyon oranları da belirlenerek neogregarine patojenin *P. interpunctella*'nın tüm yaşam evrelerini enfekte ettiği de belirlenmiştir. İncelenen 4.091 ölü larvadan 629'u (%15,4), 609 canlı larvadan 49'u (%8), ve 1.330 ergin böcekten 127'si (%9,5), 337 pupadan 19'u (%5,6) neogregarine patojen *M. dispora* tarafından enfekte olduğu tespit edilmiştir. En yüksek enfeksiyonun ölü larvalarda olduğu da belirlenmiştir (% 15,4) (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12 *P.interpunctella*'nın Farklı Yaşam Evrelerinde *M. dispora* Oluşumu

Yaşam Evresi	Disekte Edilen Örnek Sayısı	Enfekte Örnek Sayısı	Enfeksiyon Oranı (%)
Canlı Larva	609	49	8
Ölü Larva	4.091	629	15,4
Pupa	337	19	5,6
Ergin	1.330	127	9,5
Toplam	6.367	824	13

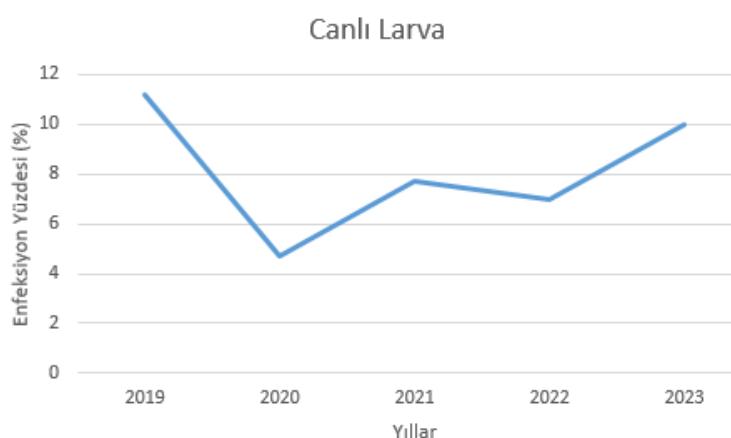
Ek olarak çalışmada ölü larva, canlı larva, ergin ve pupa evresindeki *M. dispora* enfeksiyon varlığının 5 yıl (2019, 2020, 2021, 2022 ve 2023) bazındaki değerlendirilmesi de yapılmıştır.

Ölü larvada tespit edilen en yüksek enfeksiyon %18,2 ile 2020 yılında, en düşük enfeksiyon ise %13 ile 2023 yılında tespit edilmiştir (Şekil 4.23).



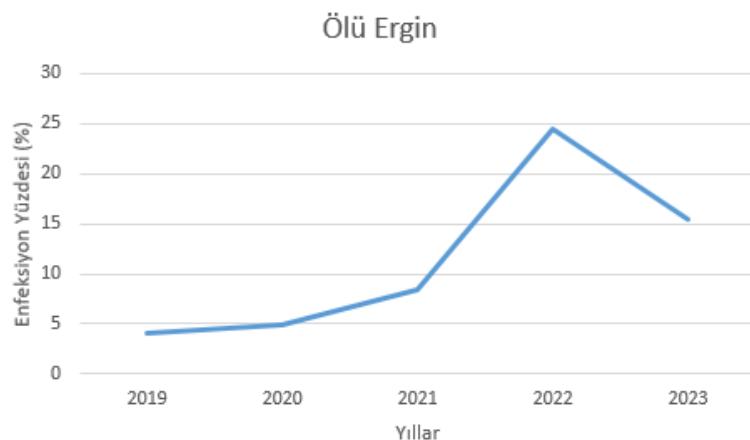
Şekil 4.23 Yıl Bazında Ölü Larvada Tespit Edilen *M. dispora* Enfeksiyonu

Canlı larvada en yüksek enfeksiyon %11,2 ile 2019 yılında en düşük enfeksiyon ise %4,7 ile 2020 yılında tespit edilmiştir (Şekil 4.24).



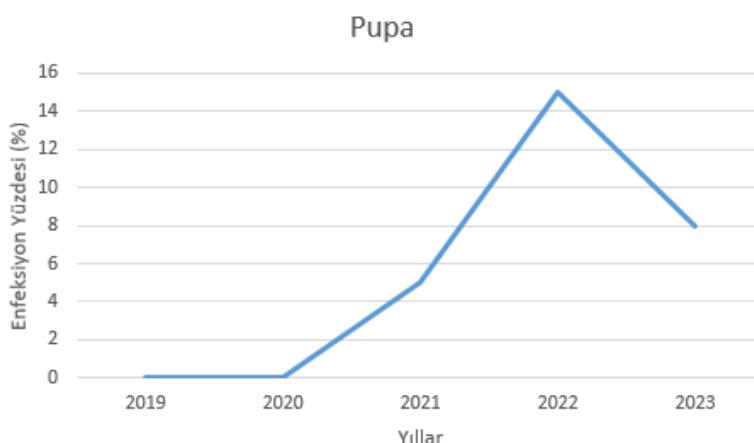
Şekil 4.24 Yıl Bazında Canlı Larvada Tespit Edilen *M. dispora* Enfeksiyonu

Ölü erginde tespit edilen en yüksek enfeksiyon %24,5 ile 2022 yılında, en düşük enfeksiyon ise %4,1 ile 2019 yılında tespit edilmiştir (Şekil 4.25).



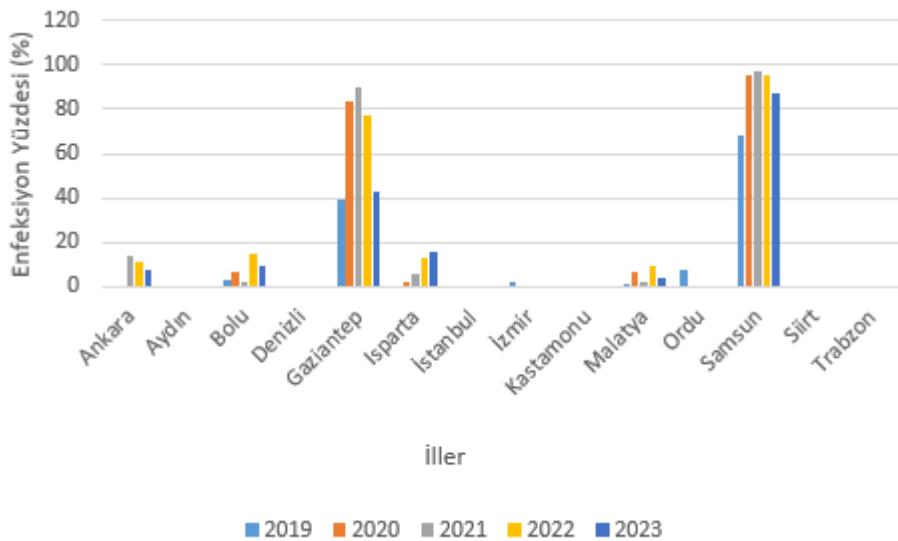
Şekil 4.25 Yıl Bazında Ölü Erginde Tespit Edilen *M. dispora* Enfeksiyonu

Pupa evresinde tespit edilen en yüksek enfeksiyon %15 ile 2022 yılında tespit edilirken 2019 ve 2020 yıllarında hiç enfeksiyon tespit edilememiştir (Şekil 4.26).



Şekil 4.26 Yıl Bazında Pupa Evresinde Tespit Edilen *M. dispora* Enfeksiyonu

Çalışma boyunca 2019, 2020, 2021, 2022 ve 2023 yıllarında ki enfeksiyonların il bazında da bir değerlendirilmesi de yapılmıştır. 2019, 2020, 2021, 2022 ve 2023 yıllarında tespit edilen en yüksek enfeksiyon Samsun'da ikinci olarak Gaziantep'te tespit edilmiştir. Hiç enfeksiyon tespit edilemeyen iller ise Aydın, Denizli, İstanbul, Kastamonu, Siirt ve Trabzon illeri olmuştur (Şekil 4.27).



Şekil 4.27 2019, 2020, 2021, 2022 ve 2023 Yıllarında Tespit Edilen *M. dispore* Enfeksiyonunun İl Bazındaki Değerlendirilmesi

Yıllara göre enfeksiyon yoğunluğuna bakıldığında ise; 2019, 2020 ve 2022 yıllarında azda olsa kayda değer şekilde artış varken 2021 ve 2023 yıllarında ise enfeksiyon oranının nispeten azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.28). En yüksek enfeksiyonun tespit edildiği yıl %14,6 ile 2022 yılı iken en az enfeksiyon tespit edilen yılın ise %11,9 ile 2019 yılı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.28).



Şekil 4.28 2019, 2020, 2021, 2022 ve 2023 Yıllarında Tespit Edilen *M. dispore* Enfeksiyonu Yoğunluğu

Mevsimsel olarak *M. dispore* yoğunluğu incelendiğinde ise; 2019, 2020, 2021 ve 2023 yıllarında enfeksiyon yoğunluğunun hem yılın ilk yarısında (ilk 6 ay) hem de diğer ikinci yarısında (son 6 ay) artış gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.29, 4.30, 4.31, 4.33). Burada yılın ikinci yarısında da yoğun enfeksiyon tespit edilmesinin yine ev ortamlarının optimal sıcaklık düzeyinde olmasından *P. interpunctella*'nın gelişimini

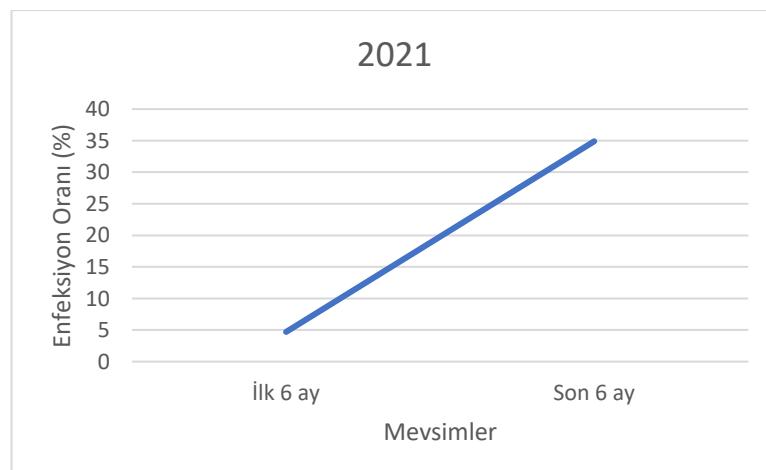
hızlandırmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Sadece 2022 yılında yılın ilk yarısında %19 olan enfeksiyon yoğunluğunun yılın ikinci yarısında %15'e düşüğü gözlenmiştir (Şekil 4.32).



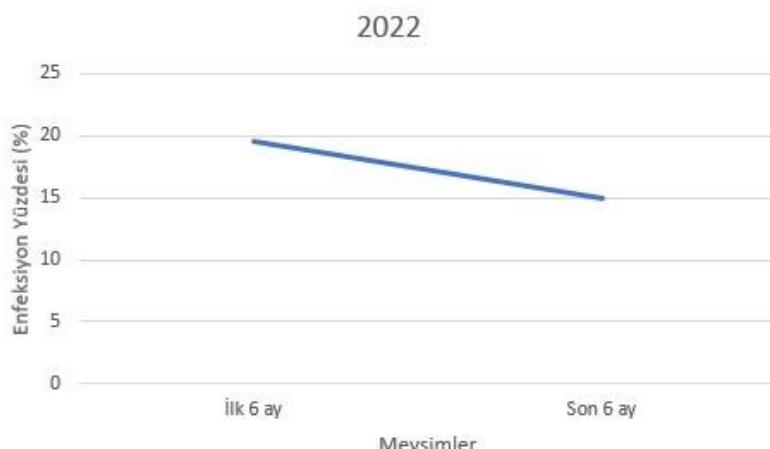
Şekil 4.29 2019 Yılında Tespit Edilen *M. dispersa* Yoğunluğu



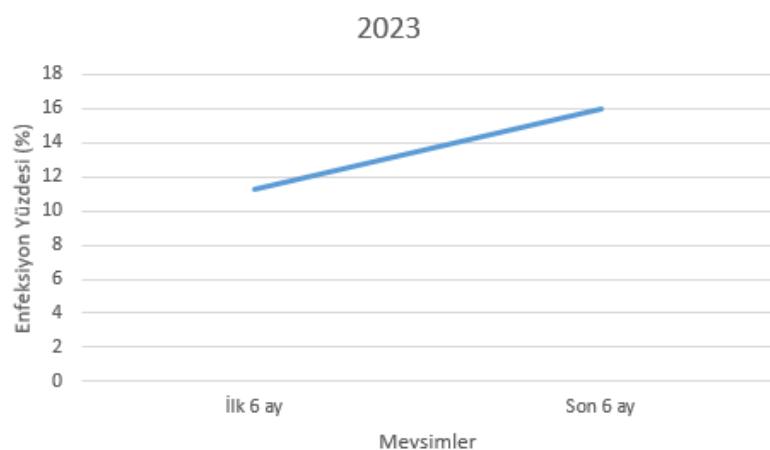
Şekil 4.30 2020 Yılında Tespit Edilen *M. dispersa* Yoğunluğu



Şekil 4.31 2021 Yılında Tespit Edilen *M. dispersa* Yoğunluğu



Şekil 4.32 2022 Yılında Tespit Edilen *M. dispora* Yoğunluğu



Şekil 4.33 2023 Yılında Tespit Edilen *M. dispora* Yoğunluğu

Neogregarinler, zararlı böcek popülasyonlarında doğal olarak meydana gelir ve zararlı böcekler için oldukça patojendir, bu nedenle zararlı böceklerle karşı potansiyel kontrol ajanları olarak kabul edilirler. Mevcut çalışmada *M. dispora*, *P. interpunctella* popülasyonlarında oldukça yaygın tespit edilmiştir ve bioassay sonuçlarına göre de *P. interpunctella*'ya karşı çok yüksek bir virülsans etkisi göstermiştir. Bu yüzden *M. dispora*, *P. interpunctella* popülasyonlarına karşı önemli bir doğal baskılayıcı protistan entomopatojeni olabilme özelliği taşımasından dolayı oldukça önemlidir.

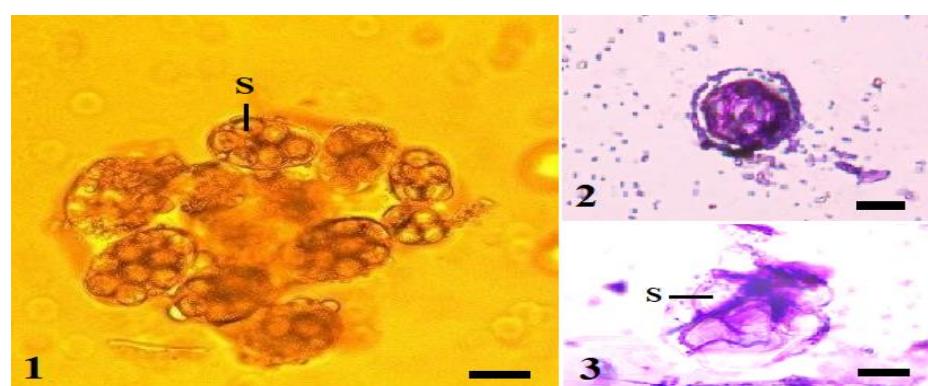
Depolanmış ürün zararlılarının patojenleri ve parazitleri üzerine yapılan birçok çalışma, esas olarak patojenik mikroorganizmaların izolasyonu ve karakterizasyonu

üzerine odaklanmıştır. Bu çalışmalarдан birkaçı *P. interpunctella*'nın protist patojenleri üzerinde gerçekleştirılmıştır. Şimdije kadar *P. interpunctella*'da mikrobiyal patojen olarak incelenen çalışmalar; mikrosporidian patojenler, *Nosema plodiae* (Kellen ve Lindegren, 1973), *Vairimorpha plodiae* (Sağlam ve ark., 2021), neogregarin patojen, *Mattesia dispora* (Wendell ve Dicke, 1964), gregarin patojen, *Leidyana* sp. (Suzaki ve ark., 2006)'dır. *P. interpunctella*'da bir mikrosporidium olan *Vairiomorpha plodiae*'nin doğal koşullardaki dağılımı, oluşumu ve potansiyeli üzerine ise sadece bir çalışma bulunmaktadır (Sağlam ve ark., 2021). Ancak *P. interpunctella*'nın doğal popülasyonlarındaki protistan entomopatojenlerin dağılımı ve potansiyeli üzerine başka bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma ile ilk kez Türkiye'de 14 popülasyonda *P. interpunctella* popülasyonunda *M. dispora*'nın varlığı, dağılımı ve virülansı araştırılmıştır.

4.3 *Plodia interpunctella*'da Tespit Edilen Coccidian Patojeni

P. interpunctella populasyonunda tespit edilen üçüncü protist patojen bir Coccidian olmuştur. Tespit edilen coccidian patojen ışık mikroskopu kullanarak incelenmiştir. Daha sonra entomopatojenin detaylı bir şekilde ele alınmasında yaygın olarak kullanılan Giemsa boyama tekniği uygulanmış, coccidian yapıları tekrar incelenmiş ve coccidian varlığı teyit edilmiştir. Bu patojenin karakteristik özelliği ise larvaların yağ dokusunda enfeksiyona sebep olmasıdır.

Tespit edilen coccidian patojen, larvaların, pupaların ve yetişkinlerin yağ gövdelerinde gözlenmiştir. Patojenin polisporokistik ookistleri enfeksiyonun bir kanıtıdır. $29,52 \pm 3,32$ (25,27–35,08) çapında ölçülen ookistler 8 sporokist içermekte ve sporokistler $9,11 \pm 0,61$ (8,90–9,85) olarak ölçülmüştür (Şekil 4.34).



Şekil 4.34 Tespit edilen Coccidian Patojeni

Ookist başına sporokist sayısı ve konakçı afinitesi genellikle patojeni tür düzeyinde ayırt etmek için geçerli bir taksonomik karakter olarak kabul edilmektedir ve Yaman ve ark., (2021) şimdkiye kadar konakçı böceklerden *Adelina* cinsine ait on beş tür tanımlayarak ayırt edici özelliklerini Çizelge 4.13'te göstermişlerdir.

Çizelge 4.13 Böcekleri Enfekte Eden *Adelina* Türleri ve Morfolojik Özellikleri (Malone ve Dhana, (1988)'dan geliştirilmiştir)

Adelina türleri	Enfekte ettiği dokular	Ookist başına sporokist sayısı	Ookist çapı (um)	Sporokist çapı (um)	Referanslar
<i>A. akidium</i>	Yağ dokusu	12-20	30-40	10	Léger, 1900
<i>A. collembolae</i>	Yağ dokusu	24	40	7,5-8	Purrini, 1984
<i>A. eryptocerci</i>	Çeşitli dokular	5-21	24-51	10-12	Yarwood, 1937
<i>A. mesnili</i>	Yağ dokusu	6-8	-	15	Pérez, 1899
<i>A. riouxi</i>	-	8-18	30-40	7-10	Levine, 1988
<i>A. sericesthis</i>	Yağ dokusu	4-8	30-40	10,8-11,9	Weiser ve Beard, 1959
<i>A. simplex</i>	Bağırsaklar	8-16	25-40	-	Schneider, 1875
<i>A. tenebrionis</i>	Yağ dokusu	2-12	20-35	10-12	Sautet, 1930
<i>A. tenebrionis</i>	Yağ dokusu	3-13	29,2-45	12,3-14	Malone ve Dhana, 1988
<i>A. tipulae</i>	Bağırsaklar	4-10	35-40	-	Schneider, 1875
<i>A. transita</i>	Çeşitli dokular	6-20	30-40	10-11	Léger, 1900
<i>A. grylli</i>	-	4-22	-	-	Butaeva, 1996
<i>A. triboli</i>	Yağ dokusu	4-16	40	10-13	Žižka, 1937
<i>A. melolonthae</i>	Yağ dokusu	4-12	$35,62 \pm 4,04$ (23,97-44,56)	$11,70 \pm 0,42$ (11,02-12,52)	Yaman ve Radek, 2021
<i>A. mesnili</i>	Yağ dokusu	6-8	$29,52 \pm 3,32$ (25,27-35,08)	$9,11 \pm 0,61$ (8,90-9,85)	Mevcut çalışma

Çizelge 4.13'te görüldüğü gibi tespit ettiğimiz Coccidian'ın ookist boyutu on üç Adelina türünden farklıdır ve ookist başına 8 sporokist içeren *A. mesnili* ile benzerdir. Bir ookistteki sporokist sayısı 6 ila 8 arasında değişmekte olup en yaygın olanı 8'dir. Pérez (1899), *A. mesnili*'nin her birindeki sporokist sayısını genellikle 6 ila 8, nadiren 9 olabileceğini bildirmiştir.

Patojenin morfolojik özelliklerini *Adelina* cinsinin diğer türleri (Coccidia: Adeleidae) ile benzerlikler göstermekte ve özellikle Pérez (1899), tarafından lepidopteran konakılarda tanımlanan ve Steinhause (1947), tarafından *P. interpunctella* ve *Ephestia kuehniella* yapay kültürlerinde gözlenen *A. mesnili*'ye benzemektedir. (Steinhause, 1947). Bu nedenle koksidiyen patojenin Türkiye'deki

Adelina mesnili suşu olduğu belirlenmiştir. Böylece, ışık mikroskopu ve literatür taraması sonucunda tespit edilen coccidian patojenin *Adelina mesnili* olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan literatür araştırmasına göre Türkiye'deki *P. interpunctella* popülasyonlarından tespit edilen koksidiyen bir patojen kaydı bulunmamaktadır (Yaman ve ark., 2023). Bu çalışmada sunulan Coccidian entomopatojeni, Türkiye'deki *P. interpunctella* popülasyonlarından ilk Adeleid coccidian kaydı olması nedeni ile oldukça önem arz etmektedir.

4.3.1 Coccidian *Adelina mesnili*'nın Popülasyonlardaki Varlığı ve Dağılımı

Çalışma süresince *P. interpunctella*'da tespit edilen bir diğer protist olan *Adelina mesnili* patojeninin, Türkiye'deki çeşitli bölgelerden toplanan *P. interpunctella* popülasyonlarındaki alternatif doğal baskılayıcı faktörlerin var olup olmadığını doğrulamak üzere varlığı ve dağılımı da çalışılmıştır. 14 farklı popülasyondan toplanan 6.367 *P. interpunctella* larva, pupa ve erginleri enfeksiyon varlığının öğrenilmesi için incelenmiştir ve incelenen örneklerin 53 tanesinde *A. mesnili* enfeksiyonu tespit edilmiştir. 14 popülasyonun 4'ünde *A. mesnili* patojenin varlığı tespit edilmiştir. Enfeksiyon tespit edilen iller; Aydın, İzmir, Kastamonu ve Ordu'dur. Enfeksiyon ortalaması ise tüm popülasyonlar için %0,8 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14 *P.interpunctella* Popülasyonlarında Tespit Edilen *A. mesnili* Varlığı

Lokalite	İncelenen böcek sayısı	Enfekte böcek sayısı	Enfeksiyon oranı (%)
Ankara	623	0	0
Aydın	171	8	4,7
Bolu	2.089	0	0
Denizli	122	0	0
Gaziantep	599	0	0
Isparta	781	0	0
İstanbul	261	0	0
İzmir	45	1	2,3
Kastamonu	119	42	35,3
Malatya	791	0	0
Ordu	193	2	1,03
Samsun	271	0	0
Siirt	145	0	0
Trabzon	157	0	0
Toplam	6.367	53	0,8

Ayrıca, farklı popülasyonlarda ki, farklı yaşam evreleri (larva, pupa ve ergin) arasındaki enfeksiyon oranları da belirlenerek coccidian patojenin *P. interpunctella*'nın hangi yaşam evrelerini enfekte ettiği de gösterilmiştir. İncelenen 4.091 ölü larvadan 48'i (%1,2), 609 canlı larvadan sadece 1 tanesi (%0,2) ve 1.330 ergin böcekten 4'ü (%0,3) coccidian patojen *A. mesnili* tarafından enfekte olduğu tespit edilmiştir. 337 pupanın ise hiç birinde enfeksiyon tespit edilememiştir. En yüksek enfeksiyonun ise ölü larvalarda olduğu tespit edilmiştir (%1,2) (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15 *P.interpunctella*'nın Farklı Yaşam Evrelerinde *A. mesnili* Oluşumu

Yaşam Evresi	Disekte Edilen Örnek Sayısı	Enfekte Örnek Sayısı	Enfeksiyon Oranı (%)
Canlı Larva	609	1	0,2
Ölü Larva	4.091	48	1,2
Pupa	337	0	0
Ergin	1.330	4	0,3
Toplam	6.367	53	0,8

Çalışma boyunca *P. interpunctella* popülasyonlarında tespit edilen *A. mesnili* yoğunluğu bioassay denemelerinde kullanılamayacak kadar az olduğu için *A. mesnili*'nin insektisial etkinliğinin belirlenmesi için bioassay denemeleri yapılamamıştır.

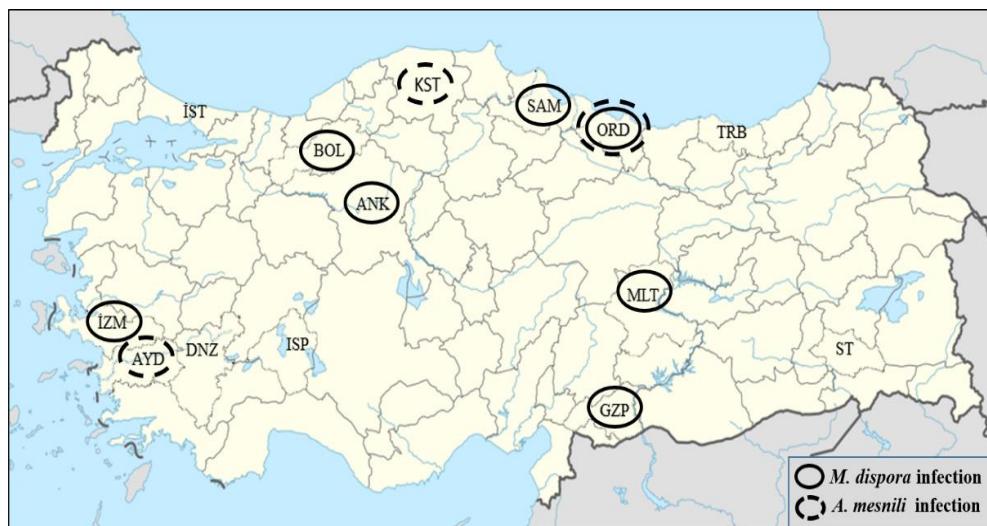
Coccidia'lar Lepidoptera'da doğal olarak bulunur. Bu nedenle Lepidoptera'ya karşı potansiyel biyokontrol ajanları olarak kabul edilmiştir. Ancak patojenik protist

türlerinin kontrol ajanı olarak kullanılması için gelişimin erken aşamalarında olması gerekmektedir. Aynı zamanda koruyucu ajan olarak kullanılması için de kapsamlı araştırmalar yapılması gerekmektedir (Dales, 1994; Yaman ve ark., 2023).

Depolanmış ürün zararlılarının patojenleri ve parazitleri üzerine, esas olarak patojenik mikroorganizmaların izolasyonu ve karakterizasyonuna odaklanan çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bunlardan birkaçı *P. interpunctella*'nın protistan entomopatojenlerini tespit etmek üzerine olmuştur. Tez çalışması boyunca tespit edilen diğer patojenlerle benzer olarak sadece mikrosporidian entomopatojen *V. plodia*'nın doğal koşullar altında *P. interpunctella*'daki dağılımı, oluşumu ve potansiyeli üzerine sadece bir çalışma bulunmaktadır (Sağlam ve ark., 2021). Yapılan literatür taramasına göre, *P. interpunctella*'da *A. mesnili* (Coccidia: Adeleidae) ile ilgili mikrobiyal patojenlerin doğal koşullardaki dağılımları ve potansiyelleri üzerine herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu doktora tez çalışması ile, *P. interpunctella*'nın coccidian entomopatojeninin 2019-2023 yılları arasında tüm Türkiye'yi temsil edecek şekilde 14 lokalitedeki karakterizasyonu, dağılımı ve varlığı araştırılarak, hem Türkiye'den ilk kaydı doğrulanmış hem de ilk kez kapsamlı bir saha çalışmasıyla birlikte doğal popülasyondaki etkinliği ortaya çıkarılmıştır.

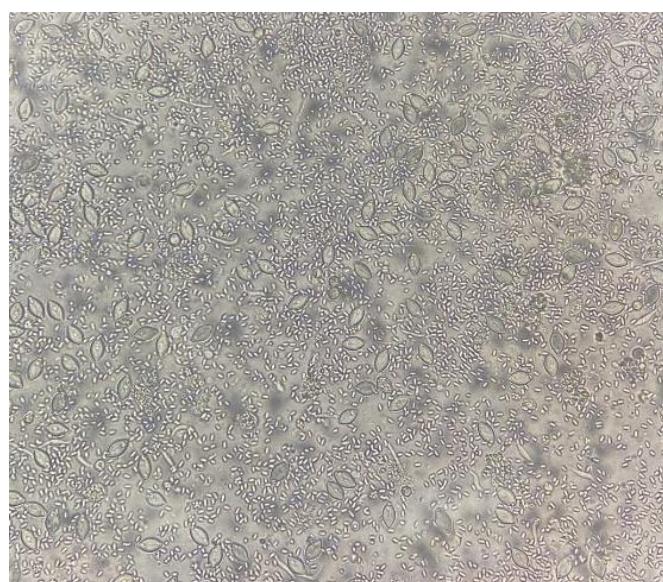
4.4 *M. dispora* ve *A. mesnili*'nin *P. interpunctella* Popülasyonlardaki Varlığı ve Dağılımı

M. dispora ve *A. mesnili*'nın *P. interpunctella* popülasyonlarındaki varlığı ve dağılımları Şekil 4.35'te verilmiştir. Buna göre, Kastamonu'da sadece coccidian patojeni tespit edilirken, Ordu'da ise her iki protist patojen aynı anda tespit edilmişdir.



Şekil 4.35 *M. dispora* ve *A. mesnili*'nin *P. interpunctella* Popülasyonlarındaki Varlığı ve Dağılımı

Tüm bu çalışmalara ek olarak, Ankara, Gaziantep ve Samsun illerinden incelenen *P. interpunctella* larvalarının aynı anda hem *V. plodiae* isolate TR ve hem de *M. dispora* ile enfekte olduğu ikili enfeksiyon görülmüştür (Şekil 4.36).



Şekil 4.36 Ankara, Gaziantep ve Samsun İllerinden İncelenen *P. interpunctella* Larvalarının *V. plodiae* isolate TR ve *M. dispora* ile Enfekte Hali

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Doktora tez çalışmasında, zararlı böcekler ile biyolojik mücadelede kullanılan hedef dışı organizmalara yan etkisi bulunmayan protist entomopatojenlerin bu özelliklerinden faydalananarak, ülkemizde önemli bir depo zararlısı olan kuru meyve güvesi *Plodia interpunctella*'ya karşı zararının, ülkemizdeki farklı coğrafik popülasyonlarında mevcut insektisidal etkisi yüksek protist entomopatojenlerin tespiti, izolasyonu, karakterizasyonu, çeşitliliği, popülasyonlardaki dağılımının belirlenmesi ile mevsimsel olarak patojen yoğunluğunun tespit edilerek doğal popülasyonlarda tespit edilen protist entomopatojenlerin kuru meyve güvesi üzerindeki insektisidal etkilerinin laboratuar koşullarında belirlenmesi sağlanmıştır.

1. Çalışma boyunca, Türkiye'deki 14 farklı popülasyonda (Ankara, Aydın, Bolu, Denizli, Gaziantep, Isparta, İstanbul, İzmir, Kastamonu, Malatya, Ordu, Samsun, Siirt, Trabzon) *P. interpunctella*'nın varlığı ve dağılımı detaylı olarak ilk kez çalışılmıştır. Bu kapsamda 14 farklı lokasyondan 6.367 (4.091 ölü larva, 609 canlı larva, 1.330 ergin ve 337 pupa) *P. interpunctella* larva, pupa ve ergini disekte edilerek protist enfeksiyon varlığı açısından incelenmiştir. 14 ilin 8'inde Neogregarine patojeni, 14 ilin 4'ünde Coccidian patojeni ve 14 ilin 12'sinde de mikrosporidyum patojeni tespit edilmiştir.
2. *P. interpunctella*'da tespit edilen mikrosporidyum patojeninin Türkiye'den ilk kaydı Yaman ve ark., (2016b) tarafından izolasyonu ve karakterizasyonu yapılarak *Vairiomorpha plodiae* olarak tanımlanmıştır. Çalışmamızda da hem ışık mikroskopu incelemeleri hem de moleküler çalışmalar ile tespit edilip filogenisi incelenen mikrosporidyum patojeninin *Vairiomorpha plodiae* isolate TR olduğu teyit edilmiştir. Ancak, mevcut çalışma ile *V. plodiae* isolate TR'nin dünyadaki diğer *Vairiomorpha* türleri ile ilk kez detaylı bir karşılaştırılması yapılmıştır. Yapılan araştırma sonuçları ve filogenetik verilerin sonucuna göre, Türk izolatı olan *Vairiomorpha plodiae* isolate TR'nin diğer *Vairiomorpha* türlerinden farklı olduğu tespit edilmiştir.

3. Çalışma boyunca *P. interpunctella* popülasyonlarında neogregarine patojenin tek bir türü *Mattesia dispora* tespit edilmiştir.
4. Bu doktora tez çalışması ile ilk defa *M. dispora*'nın doğal koşullardaki dağılımı ve oluşumu detaylı bir şekilde incelenmiştir.
5. Çalışmada tespit edilen bir diğer patojen bir Coccidian patojen *Adelina mesnili*'dir ve Türkiye'deki *P. interpunctella* popülasyonlarından elde edilen ilk *Adeleid* Coccidian kaydı olması nedeni ile oldukça önemlidir.

Tespit edilen *A. mesnili* sadece Aydın, İzmir, Kastamonu ve Ordu'da tespit edilmiştir ve enfeksiyon ortalamasının ise tüm popülasyonlar için %0,8 olarak tespit edilmiştir.

Ayrıca, *A. mesnili*'nin farklı popülasyonlarda ki, farklı yaşam evreleri (canlı larva, ölü larva, pupa ve ergin) arasındaki enfeksiyon oranları da belirlenerek coccidian patojenin *P. interpunctella*'nın hangi yaşam evrelerini enfekte ettiği de gösterilmiştir. İncelenen pupaların hiç birinde enfeksiyon tespit edilememiştir. En yüksek enfeksiyonun ise ölü larvalarda olduğu tespit edilmiştir (%1,2).

6. Tespit edilen patojenlerin (*V. plodiae* isolate TR ve *M. dispora*) 5 yıl boyunca (2019, 2020, 2021, 2022 ve 2023) dağılımları ilk kez detaylı bir şekilde incelenmiştir.

V. plodiae isolate TR enfeksiyonunun *P. interpunctella* popülasyonlarında %4,9-%78,6 arasında değişiklik gösterdiği, ayrıca tüm popülasyonlar için enfeksiyon ortalamasının ise %22,4 olduğu tespit edilmiştir. Ülke genelindeki enfeksiyon dağılımına bakıldığından en yüksek enfeksiyon sırası ile; Samsun, Isparta ve Bolu illerinde tespit edilmiştir. Hiç enfeksiyon tespit edilemeyen iller ise Kastamonu ve İstanbul illeri olmuştur. Yıllara göre enfeksiyon yoğunluğuna bakıldığından ise; en yüksek enfeksiyon oranı %33,7 ile 2019 yılında, %18,1 ile 2020 yılında, %16,4 ile 2022 yılında, %15,8 ile 2021 yılında, %13,7 ile de 2023 yılında tespit edilmiştir.

M. dispora enfeksiyonunun *P. interpunctella* popülasyonlarında %2,3-%79,3 arasında değişiklik gösterdiği ayrıca, tüm popülasyonlar için

enfeksiyon ortalamasının ise %13 olduğu tespit edilmiştir. Ülke genelindeki enfeksiyon dağılımına bakıldığından en yüksek enfeksiyon sırası ile; Samsun'da ikinci olarakta Gaziantep'te tespit edilmiştir. Hiç enfeksiyon tespit edilemeyen iller ise Aydın, Denizli, İstanbul, Kastamonu, Siirt ve Trabzon illeri olmuştur. Yıllara göre enfeksiyon yoğunluğuna bakıldığından ise; 2019, 2020 ve 2022 yıllarında azda olsa kayda değer şekilde artış varken 2021 ve 2023 yıllarında ise ise enfeksiyon oranının nispeten azaldığı tespit edilmiştir. En yüksek enfeksiyonun tespit edildiği yıl %14,6 ile 2022 yılı iken en az enfeksiyon tespit edilen yılın ise %11,9 ile 2019 yılı olduğu tespit edilmiştir.

7. Mevsimsel olarak (yılın ilk 6 ayı Ocak, Şubat, Mart, Nisan, Mayıs, Haziran ve son 6 ayı Temmuz, Ağustos, Eylül, Ekim, Kasım, Aralık) *V. plodiae* isolate TR ve *M. dispora* yoğunluğu detaylı bir şekilde ilk kez incelenmiştir.

V. plodiae isolate TR ve *M. dispora* yılın her mevsiminde *P. interpunctella*'da tespit edilmiştir. *P. interpunctella* örneklerinin toplandığı ortamların *P. interpunctella*'nın gelişimi için optimal sıcaklık düzeyinde olup zararının gelişimini hızlandırmışından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

8. Tespit edilen protist enfeksiyonlarının *P. interpunctella* ölü larva, canlı larva, pupa ve ergin evrelerindeki yoğunlukları detaylı olarak ilk kez incelenmiştir.

V. plodiae isolate TR ve *M. dispora*'nın *P. interpunctella*'nın tüm yaşam evrelerini (larva, pupa ve ergin) enfekte ettiği tespit edilmiştir.

9. Tespit edilen protist patojenlerin insektisidal etkinliğinin belirlenmesi için ilk kez detaylı bioassay(=virülans) testleri yapılmıştır.

V. plodiae isolate TR'nin *P. interpunctella*'nın farklı instarları üzerindeki insektisidal etkinliğinin belirlenmesi için yapılan bioassay denemelerinde; $1,6 \times 10^7$ konsantrasyonun *P. interpunctella* 1. ve 2. instar larvalarına karşı oldukça yüksek derecede insektisidal etki gösterdiği ancak, *P. interpunctella* instar dönemi arttıkça *V. plodiae* isolate TR'nin etkinliğinin

düşürü belirlenmiştir. Bu yüzden *V. plodiae* isolate TR ve ticari olarak satılan *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Delfin®WG 11B2 biyolojik insektisit) süspansiyon karışımı *P. interpunctella* larvalarına karşı test edilmiş ve insektisidal etkinliği incelenmiştir.

Bu kapsamda *P. interpunctella*'nın daha çok zararlı olduğu 2. ve 3. instar zamanlarında *Bacillus thuringiensis*'e karşı gelişebilecek olan dirence karşı tek başına kullanılmasının yerine *V. plodiae* ile karışımı halinde uygulanmasının daha etkili bir sonuç verebileceği düşünülmektedir.

M. dispora'nın $1,6 \times 10^7$ konsantrasyonunun *P. interpunctella* 1. ve 2. instar larvalar üzerindeki insektisidal etkinliğinin belirlenmesi için yapılan bioassay denemelerinde kontamine besinle beslenen larvaların yaklaşık 1 hafta içerisinde öldüğü tespit edilmiştir. *M. dispora*'nın farklı konsantrasyonlardaki ($1,5 \times 10^7$, $1,5 \times 10^6$, $1,5 \times 10^5$, $1,5 \times 10^4$ ve $1,5 \times 10^3$) insektisidal etkinliğinin belirlenmesi için yapılan bioassay sonuçlarına göre; *M. dispora* için en uygun konsantrasyonların; % 100 ölümle $1,5 \times 10^5$, %98 ölümle $1,5 \times 10^7$ ve %95 ölümle $1,5 \times 10^6$ olduğu olduğu tespit edilmiştir.

M. dispora ve *V. plodiae* isolate TR *P. interpunctella* popülasyonlarında oldukça yaygın tespit edilmiştir ve *P. interpunctella*'ya karşı çok yüksek bir virülsans etkisi göstermişlerdir. Bu yüzden *M. dispora* ve *V. plodiae* isolate TR *P. interpunctella* popülasyonlarına karşı önemli bir doğal baskılıyıcı protistan entomopatojen olabilme özellikleri taşımaları açısından oldukça önem arz etmektedir.

10. Çalışma sonuçlarına göre; Kastamonu'da sadece *A. mesnili* tespit edilirken, Ordu'da ise *M. dispora* ve *A. mesnili* birlikte tespit edilmiştir.
11. Tüm bu çalışmalara ek olarak; Ankara, Gaziantep ve Samsun illerinden incelenen *P. interpunctella* larvalarının aynı anda hem *V. plodiae* isolate TR ve hem de *M. dispora* ile enfekte olduğu tespit edilmiştir ve böylece ikili enfeksiyon görülmüştür.

Günümüze kadar kadar yapılmış olan çalışmalar *P. interpunctella*'nın patojenlerini tespit etmek üzerine olmuştur. Bunlar; mikrosporidium patojenler (*Nosema plodiae* (Kellen ve Lindegren, 1973) ve *Vairimorpha plodiae* (Sağlam ve ark., 2021), neogregarine patojen *Mattesia dispora* (Wendell ve Dicke, 1964) ve gregarin patojen *Leidyana* sp. (Suzaki ve ark., 2006)'dır. Patojenlerin dağılımları üzerine ise sadece Sağlam ve ark., 2021 yılında yapılan, *P. interpunctella*'da bir mikrosporidium olan *V. plodiae*'nin doğal koşullardaki dağılımı, oluşumu ve potansiyelleri ilgili çalışmadan başka bir çalışma bulunmamaktadır. Bu doktora tez çalışması ile ilk defa *M. dispora*'nın doğal koşullardaki dağılımı ve oluşumu detaylı bir şekilde incelenmiştir.

P. interpunctella'nın zararlı olduğu ürünlerin neredeyse tamamı insanlar tarafından tüketilen gıdalardır. Zararının bulunduğu ortamın/deponun kimyasal insektisit ile ilaçlanması hem çevreye hem de insanlara zararlı yan etkileri nedeniyle fumigasyon uygulamalarının uygulanması mümkün olamamaktır. Ek olarak kuru meyve güvesinin bazı insektisitlere karşı direnç gösterdiği de bildirilmiştir (Attia, 1977). Ancak, dünya çapında depolanmış ürün zararlıları ile mücadelede genel olarak kimyasallar kullanılmaktadır. Fakat, bu kimyasallar hedef canlıya zarar vermenin yanında çevreye, doğadaki diğer yararlı canlılara olan zararlı etkileri ile birlikte insan sağlığını da olumsuz etkilediği için tercih edilmemesi gerekmektedir. Bu kapsamda sadece hedef zararlıya etki ederek, zararlı bir kalıntı bırakmadan insan sağlığını tehdit etmeden, ekosistem, çevre ve biyolojik dengenin sağlıklı bir şekilde korunarak sürdürülmesini sağlayan ve tüm bunlara ek olarak direnç geliştirme gibi bir sorun yaratmayan güvenilir bir biyolojik mücadele yöntemi olan entomopatojenik organizmaların tercih edilmesi bu zararlılarla mücadelede tercih edilmesi gereken yöntemler arasında ilk sırayı almaktadır.

Mevcut tez çalışmasında da yaygın ve yoğun bir şekilde *V. plodiae* isolate TR ve *M. dispora* tespit edilmiştir. Bu kadar yaygın bir enfeksiyonda bir biyolojik kontrol ajanlarında olması arzu edilen bir özellik olması nedeniyle oldukça önemlidir (Pereira ve ark., 2002).

Çalışmada tespit edilen *M. dispora* suşunun *P. interpunctella*'nın hem laboratuvar ortamındaki denemelerinde hem de doğal popülasyonlarındaki yüksek

virülans etkisi nedeniyle *P. interpunctella*'nın biyolojik kontrolünde kullanılmak üzere seri üretiminin olması gerektiği düşünülmektedir. Ve bu düşünceyi destekleyen bazı çalışmalar da mevcuttur. Örneğin Lord (2003), ookist üretimi için kullanılabilecek alternatif konakçıları incelemiş ve *G. mellonella* larvalarının, bilinen bazı konakçılarından daha büyük miktarlarda ookist üretimi için bir ortam görevi görebileceğini ortaya çıkarmıştır. Benzer şekilde Alfazairy ve ark., (2019) spor üretenkenliği, patojenite ve konukçu aralığı analizleri için, bazı tahlil böcek zararlılarından izole edilen Mısır neogregarine olan *Mattesia* sp. türünün potansiyelini değerlendirmiştir. Araştırmacının sonuçlarına göre, *P. interpunctella*'nın, neogregarine patojenlerinin kitlesel çoğalması için en uygun ortamı sağladığı ve potansiyel bir konakçı görevi görebileceği tespit edilmiştir.

Mevcut çalışma ile de, *P. interpunctella*'nın daha yoğun bir şekilde neogregarine patojeni üremek için ideal bir ortam görevi görebileceğini ve *M. dispora*'nın *P. interpunctella* popülasyonlarının doğal bir baskılayıcı faktörü olabileceğini doğrulanmaktadır.

P. interpunctella'nın doğal popülasyonlarında ki entomopatojenlerin tespiti ve bu zararlıya karşı kullanımına yönelik çalışmalar genelde mikrosporidia ile sınırlı kalmıştır (Malone ve Canning, 1982). Entomopatojenlere yönelik yapılmış olan çalışmalarda sedece laboratuvar denemeleri ile sınırlı kalmıştır (Johnson ve ark., 1990; Herrero ve ark., 2004; Buda ve Pečiulytė, 2008).

Ancak bu doktora tez çalışması ile, depolanmış ürün zararlısı olan *P. interpunctella*'nın protist patojenlerinin belirlenmesi ile bu zararlı ile mücadelede insektisidal etkilerinin yüksek ve yerli izolatların veya yeni türlerin bulunabileceği gösterilmiştir.

Elde edilen sonuçlar ile ülkemizdeki *P. interpunctella* popülasyonlarının oldukça yoğun bir şekilde protist entomopatojen içerdiği bir kez daha teyit edilmiştir. McLaughlin (1971), protozoan patojenlerin genellikle uzun vadeli zararlı popülasyon kontrolünde en uygun organizmalar olduğunu belirtmiştir. Mevcut çalışma ile tespit edilen entomopatojenik protistlerin zararının doğal popülasyonlarında önemli bir baskılayıcı faktör olduğu tespit edilmiş olup, genel olarak tüm ülke boyunca yayılmış gösterdikleri belirlenmiştir.

Tespit edilen bu patojenlerin *P. interpunctella* ile mücadelede yakın gelecekte kullanılma potansiyelleri yüksektir. Bunun için gerek kamusal gerekse tüzel teşvik ve yaptırımların hayatı geçirilmesinin oldukça önem arz ettiği düşünülmektedir. Tespit edilen entomopatojenik protistlerin kitle üretim olanakları araştırılarak, mümkün olanların üretilerek kullanıma sunulması gerekmektedir.

Mevcut doktora tez çalışması, ülkemiz için ilk olma niteliğindedir ve bu yüzden bu alanda daha sonra yapılacak olan diğer çalışmalar da zemin hazırlaması bakımından oldukça önem arz ettiği düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abbott, WS. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265-267.
- Adane, K., Moore, D. & Archer, SA. (1996). Preliminary studies on the use of *Beauveria bassiana* to control *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in the laboratory. *Journal of Stored Products Research*, 32(2), 105-113.
- Ahmed, M. (2001). Disinfestations of Stored Grains Pulses Dried Fruits and Nuts and Other Dried Foods: Food Irradiation Principles and Applications, Ed.: Molins, R., John, W., Sons, New York, USA, 77– 112.
- Ahmed, MSH. (1991). Irradiation disinfection and packaging of dates. Insect Disinfestation of Food and Agricultural Products by Irradiation. IAEA, Vienna: 7–26.
- Akar, H. (2021). Entomopatojen nematodların bazı depo zararlılarına karşı etkilerinin in vitro koşullarında belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı.
- Akıncı, T. & Kalyoncu, L. (2014). *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) pupalarının yağ asidi bileşimine düşük sıcaklığın etkileri. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 38, 19-27.
- Alaoğlu, Ö. (1989). *Bacillus thunngiensis*'in depolanmış tahıllardaki lepidoptera larvalarının mücadeleinde kullanılması. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 144-155.
- Alfazairy, AA., El-Abed, YMGZ., Ramadan, HM. & Karam, HH. (2019). Productivity, pathogenicity, host range, and spore mass-propagation of local strain of *Mattesia* sp. isolated from insect cadavers of certain stored grain pests in Egypt. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29,93.
- Anonim, (2006). *Plodia interpunctella* lrv collage.jpg. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Plodia_interpunctella_lrv_collage.jpg. (Erişim Tarihi: 05.05.2024).
- Anonim, (2009). Indian Meal Moth. <https://nathistoc.bio.uci.edu/lepidopt/Pyralidae/Plodia.htm>. ((Erişim Tarihi: 05.05.2024)).
- Anonim, (2011). *Plodia interpunctella* yumurtası. <https://www.biolib.cz/en/image/id169114/>. (Erişim Tarihi: 05.05.2024).
- Anonim, (2014). Ambar zararlıları ile mücadele, <http://kutlulaclama.com.tr/tr/Ambar-Zararlilar-Ile-Mucadele>. (Erişim tarihi: 09.06.2023).
- Anonim, (2015). Kurutılmış meyveler, kuruyemişler ve yağları. <http://www.romerlabs.com/tr/industries/dried-fruits-nuts-oils/>. (Erişim tarihi: 09.06.2023).
- Anonim, (2019). Pupa of Indianmeal moth or Indianmeal moth. (Erişim Tarihi: 05.05.2024).

- Anonim, (2022). Bitkisel üretim istatistikleri. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2022-45504>. (Erişim tarihi: 09.06.2023).
- Anonim, (2023a). Ege ihracatçı birlikleri. <https://upload.eib.org.tr/ZZFAF3F52D/1B793DED8F6D461B793DED8F6D461B793DED8F6D461B793DED.pdf>. (Erişim tarihi: 09.06.2023).
- Anonim, (2023b). Ürün raporu findık. [https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/ Belgeler/PDF%20%C3%9Cr%C3%BCn%20Raporlar%C4%B1/2022%20%C3%9Cr%C3%BCn%20Raporlar%C4%B1/F%C4%B1nd%C4%B1nd%C4%B1k%20%C3%9Cr%C3%BCn%20Rapor%C2%80%202022-365%20TEPGE.pdf](https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/ Belgeler/PDF%20%C3%9Cr%C3%BCn%20Raporlar%C4%B1/2022%20%C3%9Cr%C3%BCn%20Raporlar%C4%B1/F%C4%B1nd%C4%B1k%20%C3%9Cr%C3%BCn%20Rapor%C2%80%202022-365%20TEPGE.pdf). (Erişim tarihi: 09.06.2023).
- Anonim, (2024a). Environmental pest solutions. <https://environmentalpest.ie/stored-product-insects-moth/>. (Erişim Tarihi: 05.05.2024).
- Anonim, (2024b). TEM hazırlığında dehidrasyon işlemi aşamaları. https://www.dicle.edu.tr/Dosya/2018-09/histoloji-kullanilan-yontemler-ve-temel-prensipler-tip-1-2012_1039.PDF. (Erişim Tarihi: 08.05.2024).
- Argobast, RT. (2007). A wild strain of *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) from farm-stored maize in South Carolina: Development under different temperature, moisture, and dietary conditions. *Journal of Stored Products Research*, 43, 160-166.
- Arthur, FH., Zettler, JL. & Halliday, WR. (1988). Insecticide resistance among populations of almond moth and Indian meal moth, (Lepidoptera: Pyralidae) in stored peanuts. *Journal of Economic Entomology*, 81, 1283–1287.
- Arthur, FH. & Phillips, TW. (2003). Stored-product insect pest management and control: Food Plant Sanitation, Ed.: Hui, YH., Bruinsma, BL., Gorham, JR., Nip, WK., Tong, PS., Ventresca, P., Marcel Dekker, New York, USA, 341–358.
- Attia, FI. (1977). Insecticide resistance in *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in New South Wales, Australia. *Journal of Australian Entomological Society*, 16, 149–152.
- Attia, FI. (1981). Insecticide resistance in pyralid moths of grain and stored products. *General and Applied Entomology*, 13, 3–8.
- Aydin, FN. (2019). Kuru Meyve Güvesi [*Plodia interpunctella* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae)]'nin farklı konukçulardaki gelişimi üzerine araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı.
- Ayvaz, A., Albayrak, S. & Karaborklu, S. (2008). Gamma radiation sensitivity of the eggs, larvae and pupae of Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Pest Management Science*, 64, 505–512.
- Ayvaz, A., Sağıdıç, O., Karaborklu, S. & Öztürk, İ. (2010). Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. *Journal of Insect Science*, 10, 1-13.

- Baggen, LR., Gurr, GM. & Meats, A. (1999). Flowers in tri-trophic systems: mechanisms allowing selective exploitation by insect natural enemies for conservation biological control. Proceedings of the 10th International Symposium on Insect-Plant Relationships Springer, Dordrecht. 155-161 pp.
- Baker, J. (2000). The problem: Indian Meal Moths, http://ipmofalaska.homestead.com/files/indian_meal_moth.html. (Erişim Tarihi: 09.06.2023).
- Baki, H. (2013). Doğu Karadeniz Bölgesi’nde *Ips sexdentatus* (Boerner) ve *Ips typographus* (L.)’ta patojenik organizmaların karakterizasyonu, varlığı ve dağılımı. Doktora Tezi, Trabzon Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.
- Becnel, JJ. (1997). Complementary techniques: Preparations of entomopathogens and diseased specimens for more detailed study using microscopy: *Manual of Techniques in Insect Pathology*, Ed.: Lacey, LA., Academic Press, Cambridge, USA, 337-353.
- Bengtsson, GB. & Hagen, SF. (2008). Improving the health-promoting properties of fruit and vegetable products, Woodhead Publishing, Cambridge, USA, 584.
- Boots, M. & Begon, M. (1995). Strain differences in the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*, in response to a granulosis virus. *Researches on Population Ecology*, 37, 37–42.
- Borsa, J. & Iverson, SL. (1993). Cost and benefits of grain disinfestation and poultry and shrimp decontamination using 10-mev electron accelerators. *Cost-Benefit Aspect of Food Irradiation Processing*. IAEA, Vienna, 233–241 pp.
- Boxall, RA. (2001). Post-harvest losses to insect a world overview. *International Biodeterioration&Biodegradation*, 48, 137-152.
- Brady, UE., Tumlinson III, JH., Brownlee, RG. & Silverstein, RM. (1971). Sex stimulant and attractant in the Indian meal moth and in the almond moth. *Science*, 171, 802–804.
- Butaeva, FG. (1996). *Adelina grylli* sp. nov. (Apicomplexa: Coccidia: Adeleidae) from *Gryllus bimaculatus*. *Parazitologiya*, 30, 64–69.
- Büda, V. & Pečiulytė, D. (2008). Pathogenicity of four fungal species to Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Ekologija*, 54(4).
- Chaudhry, MQ. (1997). A review of the mechanisms involved in the action of phosphine as an insecticide and phosphine resistance in storedproduct insects. *Pesticide Science*, 49, 213–228.
- Clopton, RE. (2004). Standard nomenclature and metrics of plane shapes for use in gregarine taxonomy. *Comparative Parasitology*, 71, 130-140.
- Codex Alimentarius. (1984). Codex general standards for irradiated foods and recommended international code of practice for the operation of radiation facilities used for the treatment of foods. Codex Alimentarius, 15. Codex Alimentarius Commission, FAO, Rome.

- Coşkuncu, KS. (2004). Bursa ili un fabrika ve değirmenlerinde zararlı böcek türleri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(1), 33-44.
- Çökmüş, C. & Younsten AA. (1994). Characterization of *Bacillus sphaericus* strains by SDS-PAGE. *Journal of Invertebrate Pathology*, 64, 276-268.
- Dales, MJ. (1994). Controlling insect pests of stored products using insect growth regulators and insecticides of microbial origin.
- Dillman, AR. & Sternberg, PW. (2012). Entomopathogenic nematodes. *Current Biology*, 22(11), 430-431.
- Dizlek, H., Gül, H. & Kılıçdağı, R. (2008). Tahılların depolanmasında en sık karşılaşılan sorunlar ve bu sorunların çözüm önerileri. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum, 21-23 Mayıs 2008, 391-394 s.
- Down, RE., Bell HA., Kirkbride AE. & Edwards JP. (2004). The pathogenicity of *Vairimorpha necatrix* (Microspora: Microsporidia) against the tomato moth, *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera: Noctuidae) and its potential use for the control of Lepidopteran glass house pests. *Pest Management Science*, 60, 755–764.
- Efron, B. (1982). The jackknife, the bootstrap and other resampling plans. Society for Industrial and Applied Mathematics, Philadelphia:USA.
- Emekçi, M., Ferizli, AG., Tunçbilek, AŞ., Işıkber, AA., Akan., K. & Tütüncü, Ş. (2015). Depolanmış ürün zararlılarıyla mücadele, Türkiye Ziraat Mühendisliği VIII. Teknik Kongresi Bildiriler Kitabı, Türkiye: Ankara.
- Emekçi, M., Ferizli, AG., Tütüncü, S. & Navarro, S. (2007). The applicability of controlled atmospheres as an alternative to methyl bromide fumigation of dried fruits in Turkey: Proc. Int. Conf. Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, Ed.: Donahaye, EJ., Navarro, S., Bell, C., Jayas, D., Noyes, R., Phillips, TW., FTIC Ltd. Publishing, Israel, 159-166 pp.
- Emekçi, M. & Ferizli, AG. (2000). Current status of stored products protection in Turkey. *Integrated Protection of Stored Products IOBC Bulletin*, 23(10), 39-46.
- Erickson, BW. Jr. & Blanquet, RS. (1969). The occurrence of chitin in the spore wall of *Glugea weissenbergi*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 14, 358-364.
- Evans, H. & Shapiro, M. (1997). Viruses: Manuel of techniques in insect pathology. Academic Press, UK:London.
- FAO, (2022). Gıda ve tarım. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. (Erişim tarihi: 09.06. 2023).
- Fasulo, TR. & Knox, MA. (2023). Indianmeal Moth, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae). University of Florida Featured Creatures. http://entnemdept.ufl.edu/creatures/urban/stored/indianmeal_moth.htm. (Erişim Tarihi: 04.05.2023).
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39:783-791.

- Fields, PG. (1992). Thecontrol of stored product insects and mites with extreme temperatures. *Journal of Stored Products Research*, 28,89–118.
- Ferizli, AG. & Emekçi, M. (2014). Depolanmış ürün zararlılarıyla savaşım, sorunlar ve çözüm yolları. <http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/19fec2f129fbdbake.pdf>. (Erişim Tarihi: 03.05. 2024).
- Franzen, C. & Müller, A. (1999). Molecular techniques for detection, species differentiation, and phylogenetic analysis of microsporidia. *Clinical microbiology reviews*, 12(2), 243-285.
- Gage, MJG. (1995). Continuous variation in reproductive strategy as an adaptive response to population density in the moth *Plodia interpunctella*. *Proceedings of the Royal Society of London*, 261, 25–30.
- Grieshop, MJ. (2005). Evaluation of three species of *Trichogramma* egg parasitoids for biological control of the Indian meal moth in warehouses and retail stores. Ph.D. Thesis, Kansas State University.
- Grieshop, MJ., Flinn, PW., Nechols, JR. & Campbell, JF. (2006). Effects of shelf architecture and parasitoid release height on biological control of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) eggs by *Trichogramma deion* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of economic entomology*, 99(6), 2202-2209.
- Grieshop, MJ., Flinn, PW., Nechols, JR. & Campbell, JF. (2008). Effects of fine-grain habitat complexity on egg parasitism by three species of *Trichogramma*. *Biological Control*, 45(3), 328-336.
- Güngör, FB. (2014). Kuru Meyve Güvesi (*Plodia interpunctella* (Hübner), Lepidoptera: Pyralidae)'nde patojenik bir mikrosporidyum türünün karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Trabzon Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.
- Hall, TA. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic acids symposium series, Information Retrieval Ltd., London,UK, c1979-c2000.
- Halverson, SL., Phillips TW., Bigelow TS., Mbata GN. & Payton ME. (1999). The control of various species of stored-product insects with EHF energy. *Proceeding of the Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions*, 541-544.
- Hargitai, PL., Kovacs, AV. & Stevko, M. (1993). Results of a feasibility study on grain disinfestation by an accelerator. Cost–Benefit Aspects of Food Irradiation Processing: Proceedings of an International Symposium on Cost–Benefit Aspects of Food Irradiation Processing. IAEA, Vienna, 223–232 pp.
- Harvey, JA. & Thompson, DJ. (1995). Developmental interactions between the solitary endoparasitoid *Venturia canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae), and two of its hosts, *Plodia interpunctella* and *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae). European Journal of Entomology, 92, 427-435.
- Hayashi, T., Imamura, T., Todoriki, SS., Miyanooshita, A. & Nakakita, H. (2004). Soft electron treatment as a phytosanitary measure for stored product pests.

http://www.pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/te_1427_web.pdf#page=7
4. (Erişim Tarihi: 24.08.2023).

- Hazard, C., Morton, DC., Terlevich, R. & McMahon, R. (1984). Nine new quasi-stellar objects with broad absorption lines. *Astrophysical Journal*, 282(1), 33-52.
- Herrero, S., Oppert, B. & Ferre, J. (2001). Different mechanisms of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in the Indian meal moth. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 1085-1089.
- Hoch, G., Pilarska, DK. & Dobart, N. (2009). Efect of midgut infection with the microsporidium *Endoreticulatus schubergi* on carbohydrate and lipid levels in *Lymantria dispar* larvae. *Journal of Pest Science*, 82, 351–356.
- House, H. (1977). Nutrition of natural enemies: Biological control by augmentation of natural enemies, Springer.
- Hunter, DK., Collier, SS. & Hoffmann, DF. (1979). The effect of a granulosis virus on *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) infestations occurring in stored raisins. *Journal of Stored Products Research*, 15(2), 65-69.
- İstek, Ş. & Ferizli AG. (2019). Yağ meyve ve sebze zararlıları ile mücadelede hasat sonrası sıcaklık uygulamaları. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 8(1), 37-42.
- Johnson, DE., Brookhart, GL., Kramer, KJ., Barnett, BD. & McGaughey, WH. (1990). Resistance to *Bacillus thuringiensis* by the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*: comparison of midgut proteinases from susceptible and resistant larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 55, 235–244.
- Johnson, JA., Valero, KA. & Hannel, MM. (1997). Effect of low temperature storage on survival and reproduction of Indian meal moth (Lepidoptera: Pyralidae). *Crop Protection*, 16, 519–523.
- Johny, S., Kanginakudru, S., Muralirangan, MC. & Nagaraju J. (2005). Morphological and molecular characterization of a new microsporidian (Protozoa: Microsporidia) isolated from *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). *Parasitology*, 132, 803–814.
- Kahraman, E. (2009). Kuru Meyve Güvesi, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae)'ye fosfinin bazı etkileri üzerinde araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı.
- Kampfer, P. (1995). An efficient method for preparation of extracts from Gram-Positive bacteria for comparison of cellular protein patterns. *Journal of Microbiological Methods*, 21, 55-66.
- Kantack, BH. (1959). Laboratory studies with *Bacillus thuringiensis* Berliner and its possible use for control of *Plodia interpunctella* (Hbn.). *Journal of Economic Entomology*, 52(6), 1226-1227.
- Kaplan, C. & Dilmen H. (2021). Siirt Fıstığı depolarında *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae)'nın tespiti ve zararı. *MAS Journal of Applied Sciences*, 1177–1183.

- Karadağ, E. & Kayahan A. (2021). Mikrodalga radyasyonun Un biti, *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae)'a etkisi Effect of microwave radiation to Red Flour Beetle *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 8(1), 186-192.
- Karnovsky, MJ. (1971). Use of ferrocyanide-reduced osmium tetroxide in electron microscopy. 14th The American Society for Cell Biology, USA, 146 p.
- Kaya Apak, F. (2022). Malatya ili kuru kayısı depolarındaki zararlı türlerin belirlenmesi. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Dergisi*, 19(1), 11-16.
- Kaymakçı, AB. (2022). *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae)'nın tam buğday unu, kepekli un ve buğday rüseyiminde gelişimi ve çoğalması. Yüksek Lisans Tezi, Konya Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı.
- Kellen, WR. & Lindegren, JE. (1968). Biology of *Nosema plodiae* sp. n., a microsporidian pathogen of the Indian-meal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner), (Lepidoptera: Phycitidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 11(1), 104-111.
- Kellen, WR. & Lindegren, JE. (1969). Host-pathogen relationships of two previously undescribed microsporidia from the Indian-meal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner), (Lepidoptera: Phycitidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 14(3), 328-335.
- Kellen, WR. & Lindegren, JE. (1971). Modes of transmission of *Nosema plodiae* Kellen and Lindegren, a pathogen of *Plodia interpunctella* (Hübner). *Journal of stored Products Research*, 7(1), 31-34.
- Kellen, WR. & Lindegren JE. (1973). Transovarian transmission of *Nosema plodiae* in the Indian-meal moth *Plodia interpunctella*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 21(3), 248–254.
- Kellen, WR. & Lindegren, JE. (1974). Comparative virulence of *Nosema plodiae* and *Nosema heterosporum* in the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 23(2), 242-245.
- Kıvan, M. & Karsavuran, Y. (1991). Effect of the food on the larval development of *Plodia interpunctella* (Hübner), (Lepidoptera: Phycitidae). *Türkiye entomoloji dergisi*, 15, 113-116.
- Kibar, H. & Öztürk, T. (2010). Depolamada ortaya çıkan ürün kayıplarının nedenleri ve çözüm önerileri, I. Ulusal Sulama ve Tarımsal Yapılar Sempozyumu, Kahramanmaraş, 27-29 Mayıs 2010, 806-815 ss.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of molecular evolution*, 16, 111-120.
- Kinsinger, RA. & McGaughey, WH. (1976). Stability of *Bacillus thuringiensis* and a granulosis virus of *Plodia interpunctella* on stored wheat. *Journal of Economic Entomology*, 69(2), 149-154.

- Korku, B. (2019). *Plodia interpunctella* (Hübner) ve *Epeorus kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidea) ile mücadelede mikrodalga enerjisinin kullanımı. Yüksek Lisans Tezi, İzmir Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı.
- Kraszpulski, P. & Davis, R. (1988). Interactions of a parasite, *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae), and a predator, *Xylocoris flavipes* (Hemiptera: Anthocoridae), with populations of *Tribolium castaneum* and *Plodia interpunctella*. *The American Midland Naturalist Journal*, 119, 71-76.
- Kuwahara, Y., Kitamura, C., Takahashi, S., Hara, H., Ishii, S. & Fukami, H. (1971). Sex pheromone of the Almond moth and the Indian Meal moth: cis-9, trans-12-Tetradecadienyl Acetate. *Science*, 171, 801-802.
- Kuwahara, Y. & Casida, JE. (1973). Quantitative analysis of the sex pheromone of several phycitid moths by electroncapture gas chromatography. *Agricultural and Biological Chemistry*, 37, 681-684.
- Lacey, LA. (1997). Bacteria: Laboratory bioassays of bacteria against aquatic insects with emphasis on larvae of mosquitoes and black flies: Manual of 87 *Techniques in Insect Pathology*, Ed.: Lacey, LA., Academic Press, New York, USA.
- Lange, CE. & Wittenstein, E. (2002). The Life Cycle of *Gregarina ronderosi* n. sp. (Apicomplexa: Gregarinidae) in the Argentine grasshopper *Dichroplus elongatus* (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 79, 27-36.
- Lapidot, M., Saveanu, S., Padova, R. & Ross, I. (1991). Insect disinfection by irradiation, in insect disinfection of food and agricultural products by irradiation. *Proceeding IAEA*, 103.
- Larsson, E. (1986). The effect of dummy-sucking on the occlusion: a review. *The European Journal of Orthodontics*, 8(2), 127-130.
- Léger, L. (1900). Sur la présence d'une Coccidie coelomique chez Olocrates abbreviatus O1. *Arch Zool Exp Gén Sér*, 3(8), 1-3.
- Levine, ND. (1988). The protozoan phylum Apicomplexa. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Lipa, JJ. (1975). An Outline of Insect Pathology, Warsaw, Poland.
- Listov, MV. (1977). The effect of pathogenic protozoa on the hormonal balance of flour beetles (Coleoptera, Tenebrionidae). *The Review of applied entomology*, 66(11), 5622.
- Lord, JC. (2003). *Mattesia oryzaephili* (Neogregarinorida: Lipotrophidae), a pathogen of stored-grain insects: virulence, host range and comparison with *Mattesia dispora*. *Biocontrol Science and Technology*, 13, 589-598.
- Maddox, JV. & Sprenkel, RK. (1978). Some enigmatic microsporidia of the genus *Nosema*. Selected Topics on the genus *nosema* (Microsporida). *Entomological Society of America*, 11, 65.

- Maddox, JV., Brooks, WM. & Fuxa, JR. (1981). *Vairimorpha necatrix*, a pathogen of agri-cultural pests: potential for pest control: Microbial Control of Pests and Plant Diseases, Ed.: Burges HD., Academic Press, London, UK.
- Mahmood, OS. (2021). Fotoperiyod, cinsiyetler oranı, ergin yaşı, ergin beslenme durumu ve popülasyon yoğunluğunun *Plodia interpunctella* (Hübner) erginine ve dişi yumurta bırakma davranışına etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Konya Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı.
- Malone, LA. & Canning, EU. (1982). Fine structure of *Vairimorpha plodiae* (Microspora: Burenellidae), a pathogen of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Phycitidae) and infectivity of the dimorphic spores. *Protistologica*, 18, 503–516.
- Malone, LA. (1984a). Factors controlling in vitro hatching of *Vairimorpha plodiae* (Microspora) spores and their infectivity to *Plodia interpunctella*, *Heliothis virescens*, and *Pieris brassicae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 44(2), 192–197.
- Malone, LA. (1984b). A comparison of the development of *Vairimorpha plodiae* and *Vairimorpha necatrix* in the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*. *Journal of invertebrate pathology*, 43(2), 140-149.
- Malone, LA. & Dhana S. (1988). Life cycle and ultrastructure of *Adelina tenebrionis* (Sporozoea: Adeleidae) from *Heteronychus arator* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Parasitol Research*, 74, 201–207.
- Marcotte, M. (1993). United Nations environment programme methyl bromide technical options committee. *Food Irradiation Newsletter*, 17, 27–32.
- Mason, L. (2002). Insects and mites: Food plant sanitation, Boca Raton, Florida, ABD.
- Milner, RJ. (1972). *Nosema whitei*, a microsporidian pathogen of some species of *Tribolium*: III. Effect on *T. castaneum*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 19, 248–255.
- Mbata, GN. & Shapiro-Ilan, DI. (2005). Laboratory evaluation of virulence of heterorhabditid nematodes to *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae). *Environmental Entomology*, 34(3), 676-682.
- Mbata, GN. & Shapiro-Ilan, DI. (2010). Compatibility of *Heterorhabditis indica* (Rhabditida: Heterorhabditidae) and *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) for biological control of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Biological Control*, 54, 75–82.
- McGaughey, WH. (1978). Effects of larval age on the susceptibility of almond moths and Indian meal moths to *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Economic Entomology*, 71(6), 923-925.
- McGaughey, WH. & Johnson, DE. (1992). Indian meal moth (Lepidoptera: Pyralidae) resistance to different strains and mixtures of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Economic Entomology*, 85, 1594–1600.
- McLaughlin, RE. (1971). Use of protozoans for microbial control of insects. Burges, HD Microbial control of insects & mites.

- Mohandass, S., Arthur, F., Zhu, K. & Throne, JE. (2007). Biology and management of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in stored products. *Journal of Stored Products Research*, 43(3), 302-311.
- Müller, A., Trammer, T., Chioralia, G., Seitz, HM., Diehl, V. & Franzen, C. (2000). Ribosomal RNA of *Nosema algerae* and phylogenetic relationship to other microsporidia. *Parasitology Research*, 86(1), 18-23.
- Nansen, C. & Phillips, TW. (2003). Ovipositional responses of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) to oils. *Annals of the Entomological Society of America*, 96, 524-531.
- Nansen, C. & Phillips, TW. (2003). Attractancy and toxicity of an attracticide for Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology*, 97, 703-710.
- Navarro, S., Finkelman, S., Rindner M. & Dias, R. (2004). Heat treatment for disinfestation of nitidulid beetles from dates: Proc. Int. Conf. on Alternatives to Methyl Bromide, Ed.: Batchelor, T., Alfarroba, F., Lisbon, Portugal.
- Naville, A. (1930). Recherches cytologiques sur les schizogregarines. I. Le cycle e'volutif de *Mattesia dispura* n.g., n.sp. Z Zellforsch Mikroskopische Anat, 11, 375-396.
- Nwanze, KF., Partida, GJ. & McGaughey, WH. (1975). Susceptibility of *Cadra cautella* and *Plodia interpunctella* to *Bacillus thuringiensis* on wheat. *Journal of Economic Entomology*, 68(6), 751-752.
- Oğuzoğlu, I. & Özer, N. (2007). Bioassays of entomopathogen nematode *Steinernema feltiae* all type Rhabditida: *Steinernematidae* and *Heterorhabditis bacteriophora* Tur-H2 Rhabditida: *Heterorhabditidae*. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 35(1), 39-44.
- Oluwafemi, AR., Rao, Q., Wang, XQ. & Zhang, HY. (2009). Effect of *Bacillus thuringiensis* on *Habrobracon hebetor* during combined biological control of *Plodia interpunctella*. *Insect Science*, 16, 409-416.
- Ombui, JN., Mathenge, JM., Kimotho, AM., Macharia, JK. & Nduhiu, G. (1996). Frequency of antimicrobial resistance and plasmid profiles of *Bacillus cereus* strains isolated from milk. *East African Medical Journal*, 73(6), 380-384.
- Omoto, CK. & Cartwright, DC. (2003). Investigating the diversity of parasitic protozoa using gregarine parasites of invertebrates. In 24th Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education, 77-85pp.
- Özer, M. (1957). Türkiye'de depo, ambar, fabrika ve silolarda muhtelif hububat taneleri, un ve mamulleri ile kuru meyveler ve tütünlerde önemli zarar yapan böcek türlerinin morfolojileri, kısa biyolojileri ve yayılıları üzerinde araştırmalar. Ankara Üni. Basimevi, 135pp.
- Özge, S. (2013). *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae)'nın farklı gelişim evrelerinin yağ asidi bileşimi. Yüksek Lisans Tezi, Konya Konya Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.

- Özyardımcı, B., Çetinkaya, N., Denli, E., İç, E. & Alabay, M. (2006). Inhibition of egg and larval development of the Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) and almond moth *Ephestia cautella* (Walker) by gamma radiation in decorticated hazelnuts. *Journal of Stored Products Research*, 42, 183-196.
- Pereira, RM., Williams, DV., Becnel, JJ. & Oi, HD. (2002). Yellow-head disease caused by a newly discovered *Mattesia* sp. in populations of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 81, 45–48.
- Pérez, C. (1899). Sur une Coccidie nouvelle (*Adelea mesnili* n. sp.), parasite cœlomique d'un Lépidoptère. *Bulletin de la Société entomologique de France*, 4(14), 275-277.
- Press, JW., Flaherty, BR. & Arbogast, RT. (1974). Interactions among *Plodia interpunctella*, *Bracon hebetor* and *Xylocoris flavipes*. *Environmental Entomology*, 3, 183–184.
- Prevett, PF. (1971). Some laboratory observations on the development of two African strains of *Plodia interpunctella* (Hübn.) (Lepidoptera: Phycitidae), with particular reference to the incidence of diapause. *Journal of Stored Products Research*, 7(4), 253-260.
- Prevett, PE. (1975). Stored product pests causing losses of stored food. *FAO Plant Protection Bulletin*, 23, 115-117.
- Purrini, K. (1984). Two new coccidian parasites of the genus *Adelina* (Adeleidae, Coccidia) parasitizing oribatid mite *Nothrus silvestris* (Oribatei, Acarina) and springtail *Neanura muscorum* (Collembola, Apterygota). *Arch Protistenkd*, 128, 99–107.
- Rehman, UZ. (2006). Storage effects on nutritional quality of commonly consumed cereals, *Food Chemistry*, 95, 53-57.
- Rees, D. (2004). Insects of Stored Products. Collingwood: CSIRO Publishing.
- Ramos-Rodríguez, O., Campbell, JF. & Ramaswamy, SB. (2007). Efficacy of the entomopathogenic nematode *Steinernema riobrave* against the stored-product insect pests *Tribolium castaneum* and *Plodia interpunctella*. *Biological Control*, 40, 15–21.
- Reynolds, ES. (1963). The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *Journal of Cell Biology*, 17, 208–212.
- Rabindra, RJ., Balasubramanian, M. & Jayaraj, S. (1981). The effects of *Farinocystis tribolii* on the growth and development of the flour beetle *Tribolium castaneum*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 38(3), 345–351.
- Saejeng, A., Tidbury, H., Siva-Jothy, MT. & Boots, M. (2010). Examining the relationship between hemolymph phenoloxidase and resistance to a DNA virus, *Plodia interpunctella* granulosis virus (PiGV). *Journal of Insect Physiology*, 56, 1232-1236.
- Sağlam, T., Yaman, M. & Ertürk, Ö. (2021). Distribution and occurrence of *Vairimorpha plodiae* (Opisthokonta: Microspora) in the indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) populations: an extensive field study. *Acta Protozoologica*, 60, 31–36.

- Sait, SM., Begon M. & Thompson DJ. (1994). Long-term population dynamics of the Indian meal moth *Plodia interpunctella* and its granulosis virus. *Journal of Animal Ecology*, 63, 861–870.
- Sautet, J. (1930). A propos d'*Adelina tenebrionis*, coccidie coelomique de *Tenebrio molitor*. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 8, 582–589.
- Schaafsma, AW. (1990). Resistance to malathion in populations of Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Proceedings of the Entomological Society of Ontario*, 121, 101–104.
- Schneider, A. (1875). Contribution à l'histoire des Grégaries des Invertébrés de Paris et de Roscoff. *Archives de zoologie expérimentale et générale*, 4, 493–604.
- Schöller, M. & Flinn, PW. (2000). Parasitoids and predators: Alternatives to Pesticides in Stored-product IPM, Ed.: Subramanyam, B., Hagstrum, DW., Kluwer Academic Publishers, Norwell, MA.
- Shojaaddini, M., Lopez, MJ., Moharramipour, S., Khodabandeh, M., Talebi, AA., Vilanova, C., Latorre, A. & Porcar, M. (2012). A *Bacillus thuringiensis* strain producing epizootics on *Plodia interpunctella*: A case study. *Journal of Stored Products Research*, 48, 52-60.
- Soderstrom, EL., Brandl, DG., Vick, KW. & Coffelt, JA. (1980). Evaluation of synthetic sex pheromone. *Insecticide Acaricide Tests*, 5, 207-208.
- Solter, LF., Becnel, JJ. & Oi, DH. (2012). Microsporidian entomopathogens. Insect Pathology, Elsevier Inc., Holland, 221–263 pp.
- Sower, LL., Vick, KW. & Tumlinson, JH. (1974). (Z,E)-9,12-Tetradecadien-1-ol: a chemical released by female *Plodia interpunctella* that inhibits the sex pheromone response of male *Cadra cautella*. *Environmental Entomology*, 3, 120-122.
- Steinhaus, EA. (1947). A Coccidian Parasite of *Ephestia kuehniella* Zeller and of *Plodia interpunctella* (Hbn.) (Lepidoptera, Phycitidae). *Journal of Parasitology*, 33(1), 29-32.
- Subramanyam, Bh. & Hagstrum, DW. (1996). Resistance measurement and management: Integrated Management of Insects in Stored Products, Ed.:Subramanyam, B., Hagstrum, DW., Marcel Dekker, Inc., New York, USA.
- Sumner, WA., Harein, PK. & Subramanyam, B. (1988). Malathion resistance in larvae of some southern Minnesota USA populations of the Indian meal moth *Plodia interpunctella*, (Lepidoptera: Pyralidae) infesting bulk-stored shelled corn. *Great Lakes Entomologist*, 21, 133–138.
- Suzaki, T., Uwo, MF., Noda, H. & Takeda, M. (2006). A new gregarine parasite of *Plodia interpunctella* (Insecta: Lepidoptera). *Japanese Journal of Protozoology*, 39(1), 130–131.
- TAGEM, (2008). Zirai Mücadele Teknik Talimatları. Başak Matbaacılık ve Tan. Hiz. Ltd. Şti., Türkiye, Ankara, 283 p.

- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30, 2725-2729.
- Tanada, Y. & Kaya, HK. (1993). Protozoan infection: Apicomplexa, Microspora. Insect Pathology, Academic Press, San Diego, 414-458 pp.
- Tarım Orman, (2014). Üretici bilgi köşesi. https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/UreticiBilgi_Kosesi/Brosurer/biyolojik_liflet.pdf. (Erişim tarihi: 28.09.2023).
- T.C. Tarım ve Köy işleri Bakanlığı. (1990). Bitki Koruma El Kitabı, İzmir İl Müdürlüğü, Memleket Gazetecilik ve Matbaacılık, Türkiye, İzmir, 878 s.
- Teal, PEA., Heath, RR, Dueben, BD., Coffelt, JA. & Vick, KW. (1995). Production and release of (Z,E)-9,12-Tetradecadienal by sex pheromone glands of female *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Chemical Ecology*, 21, 787-800.
- Thompson, JD., Gibson, TJ., Plewniak, F., Jeanmougin, F. & Higgins, DG. (1997). The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25, 4876–4882.
- TMMOB. (2015). Türkiye Ziraat Mühendisliği VIII. Teknik Kongresi Bildiriler Kitabı-2. Türkiye, Ankara.
- Toguebaye, BS., Marchand, B. & Bouix, G. (1988). Microsporidia of Chrysomelidae: Biology of Chrysomelidae, Ed.: Petitpierre E., Hsiao TH., Jolivet PH., Kluwer Academic Publishers, USA, Boston.
- Tunç, İ., Berger, BM., Erler, F. & Dağlı, F. (2000). Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-products insects. *Journal of Stored Products Research*, 36, 161-168.
- Türk, S. & Doğruman-Al, F. (2009). Microsporidia: Genel özellikleri ve güncel laboratuvar tanısı. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*, 23, 89-95.
- Undeen, A. & Vávra, J. (1997). Research methods for entomopathogenic protozoa. Manual of Techniques in Insect Pathology, Academic Press, San Diego. 117-151 pp.
- UNEP. (1995). Montreal Protocol on substance that deplete the Ozone layer. Methyl Bromide Technical Option Committee, Kenya, 304 p.
- UNEP, (2005). Toolkit for identification and quantification of mercury releases – pilot draft of November 2005, United Nations Environment Programme, Chemicals Branch, Geneva. <http://www.chem.unep.ch/mercury/> Guidance-training-materials.htm. (Erişim Tarihi: 04.05.2023).
- Uslu, F., Balcı, M. & Öztürk, H. (2022). Organik Tarım ve Gıda Teknolojisinde Sürdürülebilir Üretim Stratejileri. Palet Yayınları, Türkiye, Konya, 221 p.
- Usta, G. (2021). *Xyllocoris flavipes* Reuter (Heteroptera: Anthocoridae)'in depolanmış ürün zararlardan *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) yumurtalarında biyolojisi ve av tercihleri üzerine araştırmalar. Yüksek Lisans

Tezi, İğdır Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tarım Bilimleri Anabilim Dalı.

- Uygur, FN. & Lanini, WT. (2006). Organik yabancı ot kontrol yöntemleri ve yan etkileri. Türkiye III. Organik Tarım Sempozyumu, Yalova, 1-3 Kasım 2006, 173-184 ss.
- Vail, PV., Tebbets, JS., Cowan, DC. & Jenner, KE. (1991). Efficacy and persistence of a Granulosis virus against infestations of *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) on raisins. *Journal of Stored Products Research*, 27, 103–107.
- Vail, PVDF. & Tebbets, JS. (1993). Autodissemination of *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) granulosis virus by healthy adults. *Journal of Stored Products Research*, 29, 71–74.
- Valigurova, A. & Koudela, B. (2006) Ultrastructural study of developmental stages of *Mattesia dispora* (Neogregarinorida: Lipotrophidae), a parasite of the flour moth *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera). *European Journal of Protistology*, 42, 313–323.
- Van Driesche, RG., Carruthers, RI., Center, T., Hoddle, MS., Hough-Goldstein, J., Morin, L., Smith, L., Wagner, DL., Blossey, B., Brancatini, V., Casagrande, R., Causton, CE., Coetzee, JA., Cuda, J., Ding, J., Fowler, SV., Frank, JH., Fuester, R., Goolsby, J., Grodowitz, M., Heard, TA., Hill, MP., Hoffmann, JH., Huber, J., Julien, M., Kairo, MTK., Kenis, M., Mason, P., Medal, J., Messing, R., Miller, R., Moore, A., Neuenschwander, P., Newman, R., Norambuena, H., Palmer, WA., Pemberton, R., Perez Panduro, A., Pratt, PD., Rayamajhi, M., Salom, S., Sands, D., Schooler, S., Schwarzländer, M., Sheppard, A., Shaw, R., Tipping, RW. & Van Klinken, RD. (2010). Classical biological control for the protection of natural ecosystems. *Biological control*, 54(1):2- 33.
- Van-Rie, J., McGaughey, WH., Johnson, DE., Barnett, BD. & Van-Mellaer, TH. (1990). Mechanism of insect resistance to the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*. *Science*, 247, 72–74.
- Vávra, J., Hylis, M., Vossbrinck, CR., Pilarska, D., Linde, A., Weiser, J., Mcmanus, ML., Hoch, G. & Solter, LF. (2006). *Vairimorpha disparis* n. comb. (Microsporidia: Burenellidae): a redescription and taxonomic revision of *Thelohania disparis* Timofejeva 1956, a microsporidian parasite of the gypsy moth *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 53, 292–304.
- Vernick, SH., Sprague, V. & Krause, D. (1977). Some ultrastructural and functional aspects of the Golgi apparatus of *Thelohania* sp. (Microsporida) in the shrimp *Pandalus jordani* Rathbun, *The Journal of Protozoology Research*, 24, 94-9.
- Waage, JK. (1978). Arresment responsesn of the parasitoid, *Nemeritis canescens*, to a contact chemical produced by its host, *Plodia interpunctella*. *Physiological Entomology*, 3, 135-146.

- Weeden, CR., Shelton, AM. & Hoffman, MP. (2007). Biological Control: A Guide to Natural Enemies in North America. <https://biocontrol.entomology.cornell.edu/index.php> (Erişim Tarihi: 08.08.2022).
- Weiser, J. & Beard RL. (1959) *Adelina sericesthis* n. sp., a new coccidian parasite of scarabaeid larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1, 99–106.
- Weiser, J. & Purrini, K. (1985). Light- and electron microscopic studies on the microsporidian *Vairimorpha ephestiae* (Mattes) (Protozoa, Microsporidia) in the meal moth *Ephesia kuhniella*. *Archiv für Protistenkunde*, 130, 179–189.
- Weiser, J., Wegensteiner, R. & Zizka, Z. (1998). Unikaryon *Montanum* sp. n. (Protista: Microspora), a new pathogen of the spruce bark beetle, *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae). *Folia Parasitologica*, 45, 191–195.
- Weiser, J., Holusa, J. & Zizka, Z. (2006). *Larssoniella duplicati* n.sp. (Microsporidia, Unikaryonidae), a newly described pathogen infecting the double-spined spruce bark beetle, *Ips duplicatus* (Coleoptera, Scolytidae) in the Czech Republic. *Journal of Pest Science*, 79, 127–135.
- Wendell, EB. & Dicke RJ. (1964) Detection by ultraviolet light of stored-product insects infected with *Mattesia dispora*. *Journal of Economic Entomology*, 57, 818–819.
- Wilson, ME. & Consigli, RA. (1985). Functions of a protein kinase activity associated with purified capsids of the granulosis virus infecting *Plodia interpunctella*. *Virology*, 143(2), 526–535.
- Yaman, M. & Radek, R. (2003). *Nosema chaetocnemae* sp. n., a microsporidian (Microspora; Nosematidae) parasite of *Chaetocnema tibialis* (Chrysomelidae, Coleoptera). *Acta Protozoologica*, 42, 231–237.
- Yaman, M. & Radek, R. (2005). A new microsporidian parasite record of *Phyllotreta undulata* (Chrysomelidae, Coleoptera). *Turkish Journal of Zoology*, 29, 67–69.
- Yaman, M., Radek, R., Aslan, İ. & Ertürk, Ö. (2005). Characteristic features of *Nosema phyllotretae* Weiser 1961, a Microsporidian parasite of *Phyllotreta atra* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Turkey. *Zoological Studies*, 44, 368–372.
- Yaman, M. (2007). Distribution of *Nosema meligethi* (Microsporida) in populations of *Meligethes aeneus* (Coleoptera: Nitidulidae) in Turkey. *Entomological Research*, 37, 298–301.
- Yaman, M., Radek, R., Tosun O. & Ünal S. (2009a). *Nosema raphidiae* sp.n. (Microsporida, Nosematidae): A microsporidian pathogen of the predatory snake-fly *Raphidia ophiopsis* (Raphidiophtera: Raphidiidae). *Acta Protozoologica*, 48, 353–358.
- Yaman, M., Tosun O. & Aydin Ç. (2009b). Occurrence of the pathogens and parasites of *Phyllotreta undulata* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 33, 139–146.
- Yaman, M. (2012). Böcek patolojisi atlası (Biyolojik mücadelede entomopatojenler için), Sage, Türkiye, Ankara.

- Yaman, M., Eroğlu M. & Radek R. (2016a). Occurrence of a microsporidium in the predatory beetle *Calosoma sycophanta* L. (Coleoptera: Carabidae) *Turkish Journal of Agriculture Forestry*, 40, 420–424.
- Yaman, M., Güngör, FP., Güner, BG., Radek, R. & Linde, A. (2016b). First report and spore ultrastructure of *Vairimorpha plodiae* (Opisthokonta: Microspora) from *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in Turkey. *Acta Parasitologica*, 61(2), 228–231.
- Yaman, M., Acar KF. & Radek R. (2019). First record of the entomopathogenic protist, *Mattesia disporea* (Neogregarinorida: Lipotrophidae) of the Mediterranean four moth, *Epeorus kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) in Turkey. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29, 78.
- Yaman, M. & Radek, R. (2021). Characteristic light and electron microscopic features of *Adelina melolonthae*, a coccidian pathogen of the European cockchafer, *Melolontha melolontha* (Coleoptera/Scarabaeidae). *Acta Parasitologica*, 66, 925–931.
- Yaman, M., Sağlam, T. & Ertürk, Ö. (2021). Protist pathogens of Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in Turkey. Paper presented at the XII international scientific agricultural symposium AGROSYM 2021, Jahorina, Bosnia and Herzegovina, 07–10 October, 660-665 pp.
- Yaman, M., Sağlam T. & Ertürk, Ö. (2022). Characterization, distribution, and virulence of protistan entomopathogen, *Mattesia disporea* (Sporozoa, Gregarina) in the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) populations in Turkey. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 32, 82.
- Yaman, M., Sağlam, T. & Ertürk, Ö. (2022b). Entomopathogens for biological control of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner, Lepidoptera: Pyralidae). *Биологические основы защиты растений*, Krasnodar, Rusya, 13-15 September, pp. 259-281.
- Yaman, M., Saglam, T. & Ertürk, Ö. (2023). First record, distribution and occurrence of a protistan entomopathogen, *Adelina mesnili* Perez (Coccidia: Adeleidae) in the Indian Meal Moth, *Plodia interpunctella* (Hübner)(Lepidoptera: Pyralidae) Populations in Türriye, *Turkish Journal of Parasitology*, 47(3), 151-156.
- Yarwood, EA. (1937). The life cycle of *Adelina cryptocerci* sp. nov., a coccidian parasite of the roach *Cryptocercus punctulatus*. *Parasitology*, 29, 370–390.
- Yetkin, MS. & Atakan E. (2022). Mersin ili, Tarsus ve Akdeniz ilçelerinde depolanmış buğday ve mısır zararlının belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 59 (3), 471-483.
- Yıldırım, E., Özbeğ, H. & Aslan, G. (2001). Depolanmış ürün zararları. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, Türkiye, Erzurum, 117 s.
- Yıldırım, E., Özbeğ, H. & Aslan, İ. (2014). Depolanmış ürün zararları ve mücadele yöntemleri 4, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Türkiye, Ankara, 122 s.

- Yücel, A. (1982). Güneydoğu Anadolu Bölgesinde ambarlanmış buğdaylarda ambar böceklerinin neden olduğu ürün kayıpları, Hasat Öncesi ve Hasat Sonrası Ürün Kayıpları Seminer Bildirileri. T.G.T.O.B. Zir. İsl. Md., Merkez İkmal Müdürlüğü Basımevi, Türkiye, Ankara, 559 s.
- Yüksel, ÜP. (2006). Farklı Besinlerin *Plodia interpunctella* L. larva ve pupunun total lipid ve total yağ asidi bileşimine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Konya Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.
- Zettler, JL., McDonald, LL., Redlinger, LM. & Jones, RD. (1973). *Plodia interpunctella* and *Cadra cautella* resistance in strains to malathion and synergized pyrethrins. *Journal of Economic Entomology*, 66, 1049–1050.
- Zettler, JL. (1982). Insecticide resistance in selected stored product insects infesting peanuts in the Southeastern USA. *Journal of Economic Entomology*, 75, 359–362.
- Zettler, JL., Halliday, WR. & Arthur, FH. (1989). Phosphine resistance in insects infesting stored peanuts in the Southeastern USA. *Journal of Economic Entomology*, 82, 1508–1511.
- Zhu, J., Ryne, C., Unelius, R., Valeur, PG. & Löfstedt, C. (1999). Reidentification of the female sex pheromone of the Indian meal moth, *P. interpunctella*: evidence for a four-component pheromone blend. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 85, 137-146.
- Žižka, Z. (1937). Ultrastructure of the sporozoite and the sporocyst wall of the coccidian species *Adelina tribolii* Bhatia, 1937 within the course of an autoinfection. *Arch Protistenkd*, 129, 119–126.

EKLER

EKLER

EK 1. 16S SSU rRNA genine göre analizlerde kullanılan örneklerin baz farklılıklarını (Pairwise Distance Analizi)

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	
AF426104.1_Vairimorpha_carpocapsae																										
EU219086.1_Vairimorpha_thomsoni	0,013																									
LC467323.1_Vairimorpha_sp_BM-2018-15	0,010	0,020																								
LC467313.1_Vairimorpha_sp_BM-2018-5	0,010	0,020	0,004																							
JQ083083.1_Vairimorpha_sp_SB-2012	0,010	0,020	0,004	0,002																						
EU487251.1_Vairimorpha_sp_CHW-2008a	0,012	0,020	0,006	0,004	0,004																					
LC467291.1_Vairimorpha_sp_BM-2012-10	0,012	0,020	0,006	0,004	0,004	0,006																				
JX280351_Vairimorpha_pieriae	0,016	0,003	0,022	0,022	0,022	0,022																				
X73894.1_Nosema_apis	0,045	0,046	0,051	0,051	0,050	0,051	0,053	0,047																		
FJ789787.1_Nosema_apis_isolate_333	0,045	0,046	0,052	0,052	0,051	0,052	0,054	0,047	0,002																	
MG907019.1_Vairimorpha_sp_WFH-2018b	0,003	0,012	0,009	0,009	0,009	0,011	0,011	0,015	0,045	0,045																
LC467320.1_Vairimorpha_sp_BM-2018-12	0,010	0,020	0,004	0,000	0,002	0,004	0,004	0,022	0,051	0,052	0,009															
DQ996241.1_Vairimorpha_necatrix_small	0,015	0,023	0,024	0,024	0,024	0,026	0,025	0,026	0,052	0,051	0,017	0,024														
LC422323.1_Vairimorpha_sp_OSL-2015-4	0,017	0,024	0,025	0,025	0,025	0,027	0,026	0,027	0,053	0,052	0,018	0,025	0,001													
DQ272237.1_Vairimorpha_disparis	0,015	0,007	0,020	0,020	0,020	0,020	0,021	0,010	0,049	0,049	0,014	0,020	0,025	0,026												
AF033315.1_Vairimorpha_lymantriae	0,015	0,007	0,020	0,020	0,020	0,020	0,021	0,010	0,049	0,049	0,014	0,020	0,025	0,026	0,000											
EU267796.1_Nosema_ceraces	0,201	0,196	0,197	0,196	0,196	0,198	0,196	0,194	0,218	0,218	0,198	0,196	0,196	0,197	0,199	0,199										
HM566196.1_Nosema_pyrausta	0,197	0,192	0,194	0,192	0,192	0,194	0,193	0,191	0,214	0,214	0,194	0,192	0,192	0,194	0,196	0,196	0,005									
U26532.1_Nosema_fumacalis	0,188	0,191	0,181	0,180	0,180	0,182	0,181	0,191	0,206	0,208	0,185	0,180	0,186	0,188	0,193	0,193	0,025	0,024								
AJ131645.1_Nosema_imperfecta	0,196	0,191	0,192	0,191	0,191	0,192	0,191	0,189	0,212	0,212	0,192	0,191	0,191	0,192	0,194	0,194	0,003	0,002	0,022							
EU864526.1_Nosema_antheraeae	0,199	0,194	0,195	0,194	0,194	0,196	0,194	0,192	0,216	0,216	0,196	0,194	0,194	0,195	0,197	0,197	0,009	0,006	0,028	0,006						
JF443599.1_Nosema_bombycis	0,200	0,192	0,197	0,195	0,195	0,197	0,196	0,191	0,217	0,217	0,197	0,195	0,192	0,194	0,196	0,196	0,008	0,007	0,027	0,005	0,011					
MW740155.1_Vairimorpha_sp_isolate_TR-44	0,006	0,015	0,012	0,012	0,014	0,013	0,019	0,048	0,048	0,003	0,012	0,020	0,021	0,018	0,018	0,020	0,199	0,189	0,197	0,200	0,202					
FN265929.1_Trypanosoma_congolense	6,616	6,567	6,494	6,579	6,530	6,317	6,530	6,567	6,631	6,685	6,579	6,399	6,530	6,436	6,436	5,896	5,789	5,685	5,977	5,826	6,445					
Vairimorpha_plodiae_isolate_TR	0,004	0,013	0,010	0,010	0,012	0,012	0,016	0,046	0,046	0,001	0,010	0,018	0,019	0,015	0,015	0,198	0,194	0,185	0,193	0,196	0,197	0,004	6,631			

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Tuğba SAĞLAM GÜVENDİK
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	
Uyruğu	* T.C. Diğer:
Telefon	
E-Posta Adresi	
Eğitim Bilgileri	
Ön Lisans	
Üniversite	Eskişehir Anadolu Üniversitesi
Fakülte	Açıköğretim Fakültesi
Bölümü	Laborant ve Veteriner Sağlık
Mezuniyet Yılı	01.10.2019
Lisans	
Üniversite	Denizli Pamukkale Üniversitesi
Fakülte	Fen Edebiyat Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	01.07.2015
Yüksek Lisans	
Üniversite	Denizli Pamukkale Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji Anabilim Dalı
Mezuniyet Tarihi	19.12.2018
Doktora	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Mezuniyet Tarihi	
Yayınlar	
Yayınlar	
<p>Sağlam T., Yaman M., Ertürk Ö. 2021. Distribution and occurrence of <i>Vairimorpha plodiae</i> (Opisthokonta: Microspora) in the indian meal moth, <i>Plodia interpunctella</i> (Lepidoptera: Pyralidae) populations: an extensive field study. <i>Acta Protozoologica</i>, 60:31-36.</p>	
<p>Yaman M., Sağlam T., Ertürk, Ö. 2022. Characterization, distribution, and virulence of protistan entomopathogen, <i>Mattesia dispura</i> (Sporozoa, Gregarina) in the Indian meal moth, <i>Plodia interpunctella</i> (Lepidoptera: Pyralidae) populations in Turkey. <i>Egyptian Journal of Biological Pest Control</i>, 32(1), 82.</p>	
<p>Yaman M., Sağlam Güvendik T. (2024). Isolation, molecular identification and pathogenicity of <i>Beauveria hoplocheli</i> from the pine processionary moth, <i>Thaumetopoea pityocampa</i> (Lepidoptera: Notodontidae). <i>Acta Entomologica Serbica</i>. (İncelemede).</p>	

- Yaman M., Sağlam Güvendik T., Ünal S., Ertürk Ö., Aytar F., AK K., Sarı Ö. (2024). Entomopathogenic bacteria in the populations of Box tree moth, *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859) (Lepidoptera, Crambidae). *Annals of Forest Research.* (İncelemede).
- Sağlam T., Düşen S., Mete E., Karaman Ü. 2022. Comparative evaluation of Re 529-Bp sequence and B1 gene in the detection of *Toxoplasma gondii* through PCR in water samples of Denizli, Turkey. *Acta Parasitologica*, 1-5.
- Yaman M., Sağlam T., Ünal S. 2023. Prevalence of Nosemosis and Varroosis in honey bees in Sinop province. *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 23(2), 119-125.
- Sağlam T., Düşen S., Apaydin Yağcı M., Yağcı A. 2021. Eğirdir Gölü'nde (Isparta) *Cryptosporidium* spp. ve *Giardia* spp. varlığının araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 51(4): 363-367.
- Yaman M., Sağlam T., Ertürk Ö. 2021. Entomopathogens as biological control of the mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Artvin Coruh University Journal of Forestry Faculty*, 22(2): 331-338.
- Sağlam T., Düşen S., Karaman Ü., Mete E. 2022. Denizli il merkezindeki içme sularında ve çevresel sularda protozoon parazitlerinin varlığı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 46(4): 271-275.
- Yaman M., Sağlam T. 2023. Prevalence of Nosemosis and Varroosis in honeybees (*Apis mellifera* L., 1758) in Bolu region. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 9(1), 50-56.
- Yaman M., Sağlam T., Ertürk Ö. 2023. First record, distribution and occurrence of a protistan entomopathogen, *Adelina mesnili* Perez (Coccidia: Adeleidae) in the Indian Meal Moth, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) populations in Türkiye. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 47(3), 151-155.
- Yaman M., Sağlam Güvendik T. (2024). First record and occurrence of microsporidian pathogen, *Chytridiopsis typographi* (Protista: Microspora) in *Pityokteines curvidens* (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) populations in Bolu region, Turkey. *Turkish Journal of Forestry*. (İncelemede).

1. Uluslararası ve Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan Bildiriler/Sunumlar

Tam Metin Bildiriler

Sağlam T., Düşen, S., Mete, E., Karaman, Ü. 2018. Atık suların sebep olduğu bazı Protozoon (=Tek Hücreli) parazit enfeksiyonları. 1. Uluslararası İçmesuyu ve Atıksu Sempozyumu (1 st International Potable Water and Waste Water Symposium), 6-7 Aralık, Afyonkarahisar, Türkiye, *Book of*, 117-128.

Yaman M., Sağlam T., Ertürk Ö. 2021. Protist pathogens of Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in Turkey. Proceedings of the XII International Scientific Agricultural Symposium “Agrosym 2021”, 7-10 Ekim, Bosna-Hersek, *Book of*, 660-665.

Yaman M., Sağlam T., Ertürk Ö. 2022. Entomopathogens for biological control of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner, Lepidoptera: Pyralidae). In *Биологические основы защиты растений*, 13-15 Eylül, Krasnodar, Rusya, *Book of*, 259-28.

Yaman M., Sağlam T. 2022. First results on the honey bee diseases in Bolu provience, Turkey. Proceedings of the XIII International Scientific Agricultural Symposium “Agrosym 2022”, 6-9 Ekim, Bosna-Hersek, *Book of*, 1082-1085.

Yaman M., Sağlam T. 2022. The presence of protistan pathogens in some Coleopteran Stored Pests. Proceedings of the XIII International Scientific Agricultural Symposium “Agrosym 2022”, 6-9 Ekim, Bosna-Hersek, *Book of*, 578-582.

Poster Bildirileri

Sağlam T., Yaka Gül H., Düşen S. 2015. Denizli şehir merkezinde içme suyu ve tarla sulamasında kullanılan bazı su kaynaklarında Tek Hücreli (=Protozoa) parazitlerin incelenmesi üzerine bir ön araştırma, 19. Ulusal Parazitoloji Kongresi ve Uluslararası Katılımlı Ekinokokkozis Sempozyumu, 5-9 Ekim, Erzurum, 158.

Düşen S., Yalım F.B., Yaka Gül H., Sağlam T., Karaman A. 2016. A preliminary study on the parasite fauna of Large-Eye Dentex, (*Dentex macrourus* Bloch, 1791) (Teleostei: Sparidae) collected in Çanakkale and İzmir regions, Aegean Sea, from Turkey. Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2016), 23-27 May, Antalya, Turkey, 635.

Sağlam T., Düşen S. 2016. A preliminary research on the protozoa existence in raw milk samples in Denizli city center. Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2016), 23-27 May, Antalya, Turkey, 639.

- Düsen S., Düsen O., Sağlam T., Erk H., Saldır Y. 2017. A preliminary study on feeding biology and helminths of Kotschy's Gecko, *Mediodactylus kotschyi* (Steindachner, 1870) collected from Denizli Province, Turkey. The 3rd International Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2017), 05-08 July, Minsk, Belarus, 129.
- Düsen S., Sağlam T., Şeşen Onaç H. 2017. A study on the Rumen Ciliates of Domestic Sheeps (*Ovis ammon aries*) in Denizli. The 3rd International Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2017), 05-08 July, Minsk, Belarus, 692.
- Sağlam T., Apaydın Yağcı M., Yağcı A., Düsen S. 2017. A research on some protozoan parasites in Egirdir Lake, Isparta from Turkey. The 3rd International Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2017), 05-08 July, Minsk, Belarus, 690.
- Sağlam T., Düsen S., Ergun Mete. 2018. Su kaynaklarından bulaşan bazı Protozoon (=Tek Hücreli) Parazitler. Uluslararası Su ve Çevre Kongresi SUÇEV, 22-24 Mart, Bursa, Turkey, 2234.
- Düsen S., Sağlam T., Çakır B. 2018. A preliminary study on the investigation of the parasites of *Merlangius merlangus* (Whiting Fish) collected from the Aegean Sea. The 4rd International Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2018), 03-06 July, Kiev, Ukraine, 300.
- Sağlam T., Düsen S., Mete E., Karaman Ü., Top Ş. 2018. The *Cryptosporidium parvum* findings in the waters used for agricultural irrigation in Denizli province center, Turkey. The 4rd International Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2018), 03-06 July, Kiev, Ukraine, 309.
- ## 2. Katıldığı ve Görev Aldığı Projeler
- T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü 5. Bölge Müdürlüğü Denizli Şube Müdürlüğü tarafından düzenlenen “Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Envanter ve İzleme Projesi” kapsamında ‘Denizli İli’nin Karasal ve İç Su Ekosistemleri Biyolojik Çeşitlilik Envanter İzleme Projesi’nde Çift Yaşarlar Araştırmacı, (2016-2018).
- Denizli İl Merkezi’nde Tarımsal Sulama ve İçme Suyu Kaynaklarında Bulunan Bazı Tek Hücreli (Protozoa) Parazitler Üzerine Bir Araştırma, Yürüttülen Kuruluş: Pamukkale Üniversitesi, Destek Alınan Kuruluş: Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi (BAP), Araştırmacı, 01 Şubat 2016, 01 Aralık 2018.
- TÜBİTAK 118O980, Kuru Meyve Güvesi (*Plodia interpunctella* (Hübner), Lepidoptera: Pyralidae) İle Biyolojik Mücadelede Entomopatojenlerin Kullanılma Olanaklarının Belirlenmesi, TOVAG - Tarım, Ormancılık Ve

Veterinerlik Araştırma Destek Grubu, 1001 - Araştırma, ARDEB, Bursiyer Araştırmacı.

TÜBİTAK 221O401, Şimşir Güvesi, *Cydalima Perspectalis* (Lepidoptera: Crambidae) İle Biyolojik Mücadelede Entomopatojenlerin Kullanılma Olanaklarının Araştırılması, TOVAG - Tarım, Ormancılık Ve Veterinerlik Araştırma Destek Grubu, 1001 - Araştırma, ARDEB, Bursiyer Araştırmacı.

Kazandığı Burs ve Destekler

TÜBİTAK, Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı, BİDEB 2211-A Yurt İçi Doktora Burs Programı.

TÜBİTAK, Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı, BİDEB 2250-Lisansüstü Bursları Performans Programı.