

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ENTOMOPATOJEN FUNGUS *METARHIZIUM BRUNNEUM* VE
UÇUCU YAĞLARIN ÇAM KESEBÖCEĞİ (*THAUMETOPOEA*
WILKINSONI TAMS) (LEPIDOPTERA: NOTODONTIDAE)'NE
ETKİLERİ

Tuğçe AYDIN

Danışman
Prof. Dr. İsmail KARACA

II. Danışman
Yrd. Doç. Dr. Özlem GÜVEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2016



© 2016 [Tuğçe AYDIN]

TEZ ONAYI

Tuğçe AYDIN tarafından hazırlanan "**Entomopatojen fungus, *Metarhizium brunneum* ve uçucu yağların Çam keseböceği (*Thaumetopoea wilkinsoni* Tams) (Lepidoptera: Notodontidae)'ne etkileri**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Bitki Koruma Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman **Prof. Dr. İsmail KARACA**
Süleyman Demirel Üniversitesi

II. Danışman **Yrd. Doç. Dr. Özlem GÜVEN**
Süleyman Demirel Üniversitesi

Jüri Üyesi **Prof. Dr. Selçuk HAZIR**
Adnan Menderes Üniversitesi

Jüri Üyesi **Prof. Dr. İsmail DEMİR**
Karadeniz Teknik Üniversitesi

Jüri Üyesi **Doç. Dr. Hülya ÖZGÖNEN ÖZKAYA**
Süleyman Demirel Üniversitesi

Enstitü Müdür **Doç. Dr. Yasin TUNCER**

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Tuğçe AYDIN



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET	i
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	10
3.1. Çam Keseböceği Örneklerinin Alınması.....	11
3.2. Uçucu Yağlar.....	12
3.2.1. Uçucu yağların fitotoksisite testleri	12
3.2.2. Uçucu yağların 1. dönem larvalara etkinliklerinin belirlenmesi.....	12
3.2.3. Uçucu yağların larvalara yüzey etkisinin belirlenmesi.....	13
3.2.4. Uçucu yağların çam keseböceği keselerindeki etkinliklerinin belirlenmesi.....	14
3.3. Entomopatojen Fungus Etkinlik Denemeleri.....	15
3.3.1. Spor süspansiyonu hazırlaması	15
3.3.2. Entomopatojen fungus sporlarının larvalar üzerindeki etkinliklerinin belirlenmesi.....	16
3.3.3. Entomopatojen fungusların yumurtalar üzerindeki etkinliklerinin belirlenmesi.....	16
3.3.4. Entomopatojen fungusların çam keseböceği keselerindeki etkinliklerinin belirlenmesi.....	17
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	19
4.1. Uçucu Yağların 1. Dönem Larvalara Etkisi	19
4.2. Uçucu Yağların Larvalara Yüzey Etkisi	19
4.3. Uçucu Yağların Kese Denemesi	20
4.4. Entomopatojen Fungus 1. Dönem Larva Denemesi.....	22
4.5. Entomopatojen Fungusların Yumurtalar Üzerindeki Etkinlikleri.....	23
4.6. Entomopatojen Fungusların Çam Keseböceği Keselerindeki Etkinlikleri.....	26
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	28
KAYNAKLAR.....	32
ÖZGEÇMİŞ	36

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ENTOMOPATOJEN FUNGUS, *METARHIZIUM BRUNNEUM* VE UÇUCU YAĞLARIN ÇAM KESEBÖCEĞİ (*THAUMETOPOEA WILKINSONI* TAMS) (LEPIDOPTERA: NOTODONTIDAE)'NE ETKİLERİ

Tuğçe AYDIN

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İsmail KARACA

II. Danışman: Yrd. Doç. Dr. Özlem GÜVEN

Çam keseböceği (*Thaumetopoea wilkinsoni* ve *T. pityocampa*) Türkiye'de önemli orman zararlılarından biridir. Çam ağaçlarına verdikleri zararın yanında vücutlarında bulunan yakıcı kılların alerjik etkisinden dolayı insan ve birçok hayvan üzerinde de zarara sebep olurlar. Bu zararlıya karşı sürekli ve bilinçsiz kimyasal ilaçların kullanılması sonucunda çevre ve insan sağlığında gelişen olumsuzluklar dikkat çekmektedir. Bu nedenle, zararlı böceklere karşı alternatif mücadele yöntemlerinin araştırılması önem kazanmıştır. Zararlı böceklerin savaşımında etkin bir yöntem olan biyolojik mücadelede entomopatojen fungusların ve uçucu yağların kullanılması üzerine birçok çalışmalar yürütülmektedir. Bu çalışmada; zencefil, biberiye ve okaliptüs uçucu yağlarının ve entomopatojen fungus *Metarhizium brunneum* türünün V275 ve 4556 isimli iki izolatının çam keseböceği üzerine etkileri araştırılmıştır.

Uçucu yağların 3 farklı konsantrasyonu (% 3, % 1 ve % 0,1) çam ağacı yapraklarına daldırma yöntemi kullanılarak uygulanmış ve böceğin davranışı, beslenmesi ve yaşamları üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Uçucu yağlardan zencefilin fitotoksik etkisi olmayan %1'lik konsantrasyonu 1. dönem larvalar üzerinde oldukça etkili bulunmuştur. Ayrıca laboratuvar koşullarında 3. dönem larvaların oluşturduğu keselere uygulanan uçucu yağlardan zencefil en fazla etkiyi gösterdiği bulunurken, arazi koşullarında tüm uçucu yağların etkisinin aynı olduğu belirlenmiştir.

Metarhizium brunneum izolatlarının 1×10^7 konidi/ml⁻¹ konsantrasyonunda yumurta, 1. dönem larva ve 3. dönem larvaların oluşturduğu keselere uygulanarak patojenitesi araştırılmıştır. Entomopatojen fungusun yumurtadan larva çıkışını engellediği gibi yumurta üzerinde bulunan sporlar yumurtadan çıkan 1. dönem larvalara bulaşarak patojenik etki göstermiştir. Arazi ve laboratuvar koşullarında 3. dönem larvaların oluşturduğu keselere uygulanan izolatların kese içinde etkili oldukları ve %100 ölüm meydana getirdikleri belirlenmiştir.

Bu çalışmada kullanılan *Metarhizium brunneum* ve uçucu yağların çam keseböceklerine karşı etkili oldukları belirlenmiştir. İleriki çalışmalara öncülük niteliğinde olan bu çalışma özellikle arazi koşullarında yapılacak daha detaylı çalışmalarla pekiştirilmelidir.

Anahtar kelimeler: Biyolojik mücadele, çam keseböceği, entomopatojen fungus, *Metarhizium brunneum*, uçucu yağlar

2016, 36 sayfa



ABSTRACT

M.Sc. Thesis

EFFECTS OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI, *METARHIZIUM BRUNNEUM* AND ESSENTIAL OILS ON PINE PROCESSIONARY MOTH (*THAUMETOPOEA WILKINSONI* TAMS) (LEPIDOPTERA: NOTODONTIDAE)

Tuğçe AYDIN

Süleyman Demirel University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. İsmail KARACA

Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Özlem GÜVEN

The pine processionary moth (*Thaumetopoea wilkinsoni* and *T. pityocampa*) is one of the most important forest pest in Turkey. Besides the damage they cause to the pine trees allergic effect due to burning of hairs found on the body cause damage on human and many animals. This is harmful to continuous and unconscious use of chemical pesticides as a result of noteworthy growing negativity in the environment and human health. Therefore, alternative control methods against insect pests has gained importance in research. Many studies have been conducted to control insect pests with entomopathogenic fungi and essential oils as an effective and safe methods. In this study; effect of three essential oils (ginger, rosemary and eucalyptus) and two isolates of *Metarhizium brunneum* (V275 and 4556) on the pine processionary moth were studied.

Three different concentrations (% 3, % 1 and % 0.1) of essential oils were applied to leaves by the dipping method and behavior, feeding, and mortality of larva were investigated. 1% concentration of non-phytotoxic ginger was found to be very effective on 1st instar larvae. Also in the laboratory conditions, this concentration of ginger had larvicidal effect inside the nests containing 3rd instar larvae. In the field conditions, all essential oils were found to be very effective.

Pathogenicity of 1×10^7 konidi/ml⁻¹ concentration of *Metarhizium brunneum* isolates were investigated on the eggs, 1st instar larvae and nests containing 3rd instar larvae. Entomopathogenic fungus spores on the egg batches prevented to eggs hatching and also contaminated to newly hatching 1st instar larvae. In the field and laboratory conditions, the 3rd instar larvae inside the nests were very susceptible to *M. brunneum* isolates and 100% fungal infection was observed.

In this study, entomopathogenic fungi and essential oils were determined to be very effective on pine processionary moth larvae. This study needs to be supported by extensive field researches.

Key Words: Biological control, pine processionary moth, entomopathogenic fungi, *Metarhizium brunneum*, essential oils

2016, 36 pages



TEŞEKKÜR

Bu çalışma boyunca benden bilgilerimi, tecrübelerini ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. İsmail KARACA'ya,

Arazi ve laboratuvar çalışmalarımın her aşamasının planlanmasından tezin anlatım dilinin düzeltilmesine kadar her aşamada bilgi ve tecrübesi ile yanımda olan ve bana her koşulda yol gösteren II. danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Özlem GÜVEN'e

Arazi çalışmalarım boyunca yardımlarını benden esirgemeyen özellikle yumurta koçanı bulmam konusunda yardımcı olan Prof. Dr. Mustafa AVCI' ya

Uzun ve zorlu arazi çalışmaları esnasında her daim yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Yüksek Biyolog Recep BAYDAR, Zir. Yük. Müh. Yakup ÇELİKPENÇE ve Zir. Müh. Adile AKDAŞ' a

Denemelerim esnasında tükenmez enerjileriyle yardımlarını esirgemeyen, gerek zorlu arazi çalışmalarının gerekse laboratuvar çalışmalarının daha keyifli hale gelmesini sağlayan ve her daim yanımda olan değerli kardeşlerim Biyolog Pelin TAŞBAŞ, Biyolog Merve KURŞUNATAN' a

Çam keseböceği ile çalışma konusunda bizi teşvik eden, bilgi ve tecrübelerini bizimle paylaşan, tez konusuyla ilgili sorularıma gerekli cevapları sabırla veren Prof Dr. Tariq BUTT (Swansea University/UK)'a,

Çalışmalar esnasında kullandığımız entomopatojen fungus izolatlarını bize temin eden James TAYLOR'a (Swansea University/UK)' a

Tüm öğrenim hayatım boyunca sonsuz maddi ve manevi destek ve fedakarlıklarını hiçbir zaman benden esirgemeyen canımdan kıymetli aileme,

Hayatımın her aşamasında yanımda olduğu, her daim varlığını ve desteğini hissettirdiği için, her koşulda gülümsememi ve güçlü olmamı sağladığı, huzurlu hissetmemin sebebi olduğu için 13 Temmuz 2015 yılında kaybettiğim anneannem Saniye ERKAYA' ya

Ayrıca 4637-YL1-16 No'lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na

Teşekkür ederim...

Tuğçe AYDIN
ISPARTA, 2016

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1. Çam keseböceğinin yumurta koçanları (A), 1. dönem larvaları (B), 3. dönem larvaları (C), ağaç üzerinde oluşturdukları keseler (D)	10
Şekil 3.2. Uçucu yağ ve entomopatojen fungus uygulamalarının şematik görüntüsü	11
Şekil 3.3. Denemelerde kullanılan okaliptüs, zencefil ve biberiye uçucu yağları(A), çam yapraklarına uçucu yağların uygulanması (B) ve Petri kaplarına konulması (C)	13
Şekil 3.4. Çam keseböceği 3. dönem larvalarının bulunduğu keselere uçucu yağ uygulaması. Laboratuvar (A) ve arazi (B) koşullarında	15
Şekil 3.5. Pullu ve pulsuz çam keseböceği yumurta koçanları	17
Şekil 4.1. Yumurta koçanları üzerinde saprofit (A) ve entomopatojen fungus (B) gelişimi	23
Şekil 4.2. (A) Kontrol grubu yumurta koçanlarında larva çıkışı, (B) entomopatojen fungus uygulaması yapılan yumurta koçanlarından çıkan larvalarda gözlenen entomopatojen fungus gelişimi	24
Şekil 4.3. (A) Yumurtalardan çıkan parazitoit, <i>Ooencyrtus pityocampae</i> (B) entomopatojen fungus ile enfekte olmuş <i>O. pityocampae</i>	25
Şekil 4.4. Kese içinde entomopatojen fungus ile enfekte olmuş çam keseböceği larvaları	26

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 3.1. Entomopatojen fungus izolatları ve orijinleri	11
Çizelge 4.1. Uçucu yağ uygulanan çam keseböceği 1. dönem larvalarında gözlemlenen yüzde ölüm oranları	20
Çizelge 4.2. Uçucu yağların çam keseböceği 3. dönem larvalarına yüzey etkisi	20
Çizelge 4.3. Arazi ve laboratuvar koşullarında uçucu yağ uygulanan 3. dönem çam keseböceği larvalarının oluşturduğu keselerde gözlemlenen yüzde ölüm oranları	22
Çizelge 4.4. <i>Metarhizium brunneum</i> uygulandıktan sonra Çam keseböceği 1. dönem larvalarının ölüm yüzdeleri.....	22
Çizelge 4.5. Çam keseböceği erken yumurta koçanlarında ve 1. dönem larvalardaki entomopatojen fungus <i>M. brunneum</i> V275 ve ARSEF 4556 izolatlarının uygulanmasından 15 gün sonra belirlenen yüzde ölüm oranları	24
Çizelge 4.6. Çam keseböceği geç yumurta koçanlarında ve 1. Dönem larvalardaki entomopatojen fungus <i>M. brunneum</i> V275 ve ARSEF 4556 izolatlarının uygulanmasından beş gün sonra belirlenen yüzde ölüm oranları	25
Çizelge 4.7. Çam keseböceği 3. dönem larvaların bulunduğu kese denemelerinde ölüm oranlarının yüzdeleri	27

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

cm	Santimetre
cm ²	Santimetre kare
dk	Dakika
gr	Gram
ha	Hektar
LT ₅₀	Yüzde 50 ölüm zamanı
LT ₉₀	Yüzde 90 ölüm zamanı
ml	Mililitre
mg	Miligram
PDA	Patates Dekstroz Agar
Sn	Saniye
%	Yüzde
°C	Santigrat
µl	Mikrolitre

1. GİRİŞ

Dünya'nın en önemli doğal dengeyi koruyucu unsurlarından birini ormanlar oluşturmaktadır. Ormanlar havayı temizler, erozyonu önler, canlılara ev sahipliği yapar, su rejimini düzenler ve estetik görünüm sağlar. Bu nedenle orman alanlarının korunması ve devamının sağlanması önem arz etmektedir. Ormanlara zarar veren etmenlerin önceden belirlenmesi ve buna yönelik koruma ve mücadele önlemlerinin alınması oldukça önemlidir.

Ülkemizde ise özellikle Akdeniz bölgesi farklı ağaç türlerini barındıran bir komünite yapısına sahiptir. Farklı komünitelerin yoğunluğundan dolayı farklı zararlı böceklerin de bu ormanlarda yoğunluk gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu zararlıların ormanlarda yaptıkları zararlar ise gözle görülür niteliktedir.

Yoğunluğu artan zararlılardan biri de çam keseböceğidir. Bu zararlının Türkiye'deki varlığı 200 yıldır bilinmekte olup neredeyse tüm kıyı şeridi boyunca yayılım göstermiştir (OGM, 2014). Ormanlarda önemli zarara neden olan çam keseböceğinin ülkemizde en çok tercih ettiği bitki türü kızılçam (*Pinus brutia* Ten.)'dir. Kızılçam ülkemizde Akdeniz ikliminin etkisi altında bulunan Ege, Akdeniz ve Marmara Bölgeleri'nde yayılım göstermektedir. Kızılçam türü 5.8 milyon ha alanı ile Türkiye'de yayılım yapan orman ağacı türleri arasında birinci sıradadır ve bu miktar ülkemizin toplam orman alanının %27'sine karşılık gelmektedir (OGM, 2014). Kızılçam yayılımı itibariyle ülkemiz ormanları için önemli bir türdür. Bu yüzden tür üzerinde zararlı olan etmenlerin bilinmesi de önem taşımaktadır.

Çam keseböceği halk arasında keseli kelebek, ağu böceği, çam büyü, gürdük, keseli tırtıl gibi farklı isimlerle adlandırılmaktadır. Çam keseböceği Lepidoptera takımının, Thaumetopoeidae familyasının, *Thaumetopoea* cinsine ait bir türdür. Cins Hübner tarafından 1820'de isimlendirilmiştir (İpekdal, 2012).

Çam keseböceğinin ergin evrelerinin yüksek rakımlarda düşük rakımlara göre daha erken, pupa evresinin ise daha geç başladığı gözlemlenmiştir. Ayrıca

yumurta koçanlarının ve larva keselerinin güney cephesinde yoğunluk gösterdiği özellikle yumurta koçanlarında bu eğilimin yükseklikle birlikte doğru orantılı olarak arttığı gözlemlenmiştir (İpekdal, 2005).

Çam keseböceğinin yaşam döngüsü genellikle bir yıldır ama kuzey enlemlerde ya da yüksek rakımlarda bu süre uzayabilir. Kuzey enlemlerde ve yüksek rakımlarda erginler daha erken ortaya çıkarlar. Dişiler çiftleşmeden bir gün sonra genellikle pupa evrelerini geçirdikleri alanın yakınlarındaki çam ağaçlarının üzerine yumurta bırakırlar. Bazı durumlarda birkaç kilometre uzaklığa uçarak konukçu ararlar ve böylece hızlı bir biçimde böceğin geniş alanlara yayılmasını sağlarlar. Yumurta koçanları genellikle taç dal uçları yakınlarında 70 ile 300 yumurta içerirler. Larvalar 30-45 gün sonra yumurtadan çıkarlar ve koloniler halinde toplanırlar. Beş larva dönemi geçiren bireyler, larva geçiş dönemlerinde bitkinin yeşil kısımlarını tüketirler. Larvalar her deri değiştirdiklerinde renk değiştirirler ve 3. dönemde insanlarda ve birçok evcil hayvanlarda alerjiye neden olan kıllar görülür. Larvalar kış dönemini geçirmek için dördüncü larva döneminde ipekten kese örerler ve keseler yaklaşık 20 cm uzunluğundadırlar. Pupa evresi, son larva dönemi bitiminde kış sonu ve baharın ilk evrelerinde ortaya çıkar. Pupa evresine geçişte bir dişi genellikle koloniye liderlik yapar ve sıcak bölgelerde toprakta bir yer seçer ve yerin 5-20 cm altında tünel açarak 10-20°C arasındaki sıcaklıklarda pupa evresine geçerler. Pupa evresi en az 1 ay sürer fakat çevre şartları olumsuz ise birkaç yıl pupa aşamasında kalabilirler ve bu nedenle aynı anda ortaya çıkan birkaç nesil erginler uygun şartlar oluştuğunda şiddetli salgınlara neden olurlar (FAO, 2009; Battisti vd., 2015).

Çam keseböceği yaprak zararlısı olup, larva evresinde çamların yapraklarını yiyerek zarar yapar. Az sayıda bulunan bireylerin zararı yalnızca keselerin civarında bulunan yapraklarda görülür. Epidemide zarar yaptığında ağaçlarda büyük zararlara yol açarlar. Çam keseböceğinin 4. ve 5. larva dönemlerinde beslenme ihtiyacı artar ve zarar miktarında da doğru orantılı artış olur. Zararın en yüksek olduğu evre son larva dönemidir (Devkota ve Schmidt, 1990). Zarar gören yapraklar fotosentez işlevini gerçekleştiremez ve

ağacın büyüme ve gelişmesinde aksaklıklar meydana gelir. Ayrıca çam keseböceği birincil zararlı olup, sağlıklı ağaçları zayıflatarak sıcaklık, kuraklık ve patojenler gibi etkenlere karşı zayıf hale getirmektedir. Birincil zararlıya ikincil zararlı etmenlerin eklenmesiyle, özellikle epidemik olan sahalarda önemli miktarda ağaç kayıpları görülmektedir (Hodar vd., 2003). Bu nedenle çam keseböceği ile mücadele yöntemlerinin belirlenmesi ve buna yönelik yapılan çalışmaların geliştirilmesi gerekmektedir.

Çam keseböceği ile mücadele için bugüne kadar yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır. Öncelikle zararlının biyolojisi araştırılmış ve buna göre oluşturulan mücadele yöntemleri birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır. Çam keseböceği ile mücadelede mekanik (Çanakçıoğlu ve Mol, 1982; Avcı vd., 2011), kimyasal (Onaran ve Katı, 2010), kültürel (Serttaş ve Çetin, 2014), biyolojik (Cebeci vd., 2010) yöntemler kullanılmaktadır. Özellikle son yıllarda bu türün mücadelesinde biyolojik ve biyoteknik mücadele yöntemleri önem kazanmıştır. Zararlı böceklerin kontrolünde etkin bir yöntem olan biyolojik mücadelede fungus, virüs, bakteri, protozoa ve nematodlar gibi etkili, çevreye ve insan sağlığına dost mikrobiyal patojenler kullanılmaktadır. Entomopatojen funguslar, zararlı böceklerde hastalık etmeni olan patojenlerden en yaygın gözlenendir. Uygun ortam koşulları altında fungal hastalıkların görülmesi belirgin epizootiğe yol açar ve geniş alanlarda spesifik zararlı böcek popülasyonunu azaltır. Bu çalışmada, bazı uçucu yağların ve entomopatojen fungusların *Thaumetopoea* cinsine bağlı (*T. wilkinsoni* Tams. ve *T. pityocampa* Schiff) çam keseböceği üzerindeki etkileri araştırılacaktır. Hem uçucu yağların hem de entomopatojen fungusların zararlının erken dönemlerinde türün biyolojisine etkisi araştırılmıştır. Uygulanacak uçucu yağların özellikle böceğin davranışı, beslenmesi ve yaşamları üzerindeki etkisi gözlemlenmiştir. Çam keseböceğinin yumurta ve 1. dönem larvalarına uygulanan entomopatojen fungusların zararlının yumurtalarının açılma oranlarına ve parazitlenmiş olan yumurtalardan parazitoitlerin çıkış oranlarına etkileri incelenmiştir. Ayrıca araziden toplanmış olan ve içinde zararlının larvalarının olduğu keselere de bu etmenler uygulanarak etkileri belirlenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Uçucu yağlar ile ilgili yapılan çalışmalar şunlardır;

Tiberi vd. (1999), tarafından yapılan çalışmada *Pinus* spp. ibrelerindeki monoterpen bileşiminin çam keseböceğinin konukçu seçimindeki rolü araştırılmıştır. Bu çalışmada çam keseböceğinin dişilerinin en az tercih ettiği tür olan *P. pinea*'nın ibrelerinden en yaygın olan monoterpenin limonen elde edilmiştir. Bu madde suyla karıştırılıp diğer çam türleri ibrelerine püskürtüldüğünde böceğe karşı yeterli koruma sağladığı ve R-limonen enantiomerinin böceğe karşı en etkili itici madde olduğu görülmüştür.

Tunç vd. (2000), *Pimpinella anisum*, *Cuminum cyminum*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Origanum syriacum* var *bevanii* ve *Rosmarinus officinalis* bitkilerinden buharlı distilasyon yoluyla elde ettikleri uçucu yağların ovisidal etkisini ambar zararlılarından *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) ve *Ephestia kuehniella*' ya karşı test etmişlerdir. Bunlardan *P. anisum* ve *C. cyminum* uçucu yağının her iki türde de %100; *O. syriacum* var *bevanii* uçucu yağının *T. confusum* ve *E. kuehniella* yumurtalarında sırasıyla %77 ve %89 ölüme yol açtığını; *E. camaldulensis* ve *R. officinalis* uçucu yağlarının sırasıyla %45 ve %65 oranında ölüm meydana getirdiğini belirtmişlerdir.

Kanat ve Alma (2004), çeşitli bitkilerden elde edilen temel yağların *T. pityocampa* larvalarına karşı insektisidal etkisini araştırmışlardır. Kahramanmaraş Ulusal Ormanı'ndaki kızılçam ağaçlarından toplanan dördüncü ve beşinci dönem larvalara laboratuvar koşullarında denenen en etkili uçucu yağın, su buharı ile destile edilmiş odun terebentini olduğu bulunmuştur.

Çetin vd. (2006), *Origanum onites* L.'in bölgesel kısımlarından elde edilen uçucu yağ ve *Citrus aurantium*'un meyve kabuklarından elde edilen uçucu yağları *T. wilkinsoni*'nin 4. ve 5. dönem larvalarına karşı 3 doz (% 0.1, 0.5 ve 1) olarak test etmişlerdir. Sonuçlar aktivitelerin konsantrasyonlara bağımlı olduğunu

göstermiştir. LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri sırasıyla *O. onites* için % 0.288 ve 0.926, *C. aurentium* için % 0.530 ve 2.306 olarak bulunmuştur.

Dayıoğlu (2008), *Melia azederach* ve *Sytrax officinalis* tohumlarından elde edilen ekstraktlar *T. pityocampa*'nın tüm larva dönemlerine, boraks ve borik asidin %10'luk çözeltileri ve meşe odunundan elde edilen katranı ise 1. ve 5. larva dönemleri üzerine 4 farklı dozda uygulanarak temas etkilerini araştırmıştır. 1. larva döneminde kullanılan tüm ekstraktlar %100 ölüme sebep olurken 2. larva döneminde *S. officinalis*'in yaş kabuk ekstraktı %90 ve diğerleri %100'e varan etkisi belirlenmiştir. 3. larva döneminde ise *M. azederach* ve *S. officinalis*'in kuru çekirdek ekstraktları %80 ölüm oranı ile etkili olmuştur. 4. larva döneminde ölüm oranları az bulunurken 5. larva döneminde katran %80 ölüm oranı ile en etkili ekstrakt olduğu belirlenmiştir.

Kesdek vd. (2014), laboratuvar koşullarında. 2., 3. ve 4. dönem *T. pityocampa* larvası üzerinde altı farklı bitki türünden *Achillea wilhelmsii* C. Koch, *Nepeta meyeri* Benth., *Satureja hortensis* L., *Origanum onites* L., *O. rotundifolium* Boiss., *Tanacetum argyrophyllum* (C. Koch) elde edilen bitki ekstraktlarının larva öldürücü etkisini belirlemeyi hedeflemişlerdir. Larva ölümleri 24, 48 ve 96 saat sonunda meydana gelmiştir. İkinci, 3. ve 4. dönem *T. pityocampa*'ya karşı kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında altı bitki ekstraktının larvasit etkisi olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle doğal olan bu bitki ekstraktlarının *T. pityocampa* popülasyonlarını kontrol etmek için yararlı olabileceği belirtilmiştir.

Entomopatojen fungus ile ilgili yapılan çalışmalar şunlardır;

Şahin (2006), Kahramanmaraş ilinde Şekeroba, Kürtül ve Karacasu yörelerinde *T. pityocampa* larvalarının bulunduğu doğal ortamlardaki topraklarda bulunan entomopatojen fungusların *T. pityocampa* larvalarına etkisini belirlemiştir. Topraktan doğrudan ve tuzak böcek yöntemi (*Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) ve *T. pityocampa* larvaları) kullanılarak *Paecilomyces* cinsine ait 16, *Beauveria* cinsine ait 19 tane olmak üzere toplam 35 entomopatojen fungus izolatu elde edilmiştir. Bunlardan seçilen *Paecilomyces*

cinsine ait 3 ve *Beauveria* cinsine ait 5 izolatın 1.5×10^7 konidi/ml⁻¹ 5. dönem *T. pityocampa* larvalarına karşı daldırma yöntemi ile test edilmiştir. Larva ölümleri 5-6. günlerde başlamış olup BKT15 ve BKT18 izolatlarında 11. günde, BŞT7 ve BŞG10 izolatlarında 12. günde %100'e ulaşırken, PŞT6 ve PŞG11 12. günde %82-84 de kalmıştır. *Beauveria* cinsine ait izolatlar ölen larvaların %50-84'ünde, *Paecilomyces* cinsine ait funguslar %28-31'inde fungal gelişim ve spor oluşumu gözlenmiştir.

Er vd. (2007), entomopatojen funguslardan *Paecilomyces*, *Tolyocladium*, *Beauveria*, *Metarhizium* ve *Lecanicillium* (= *Verticillium*) cinslerine ait 13 türün dördüncü dönem *T. pityocampa* larvalarına karşı patojenite değerlendirilmelerini yapmıştır. Larvalar 1.0×10^5 konidi/ml süspansiyonu içine daldırılarak uygulama yapılmıştır. Test edilen tüm izolatlarda %16-100 oranlarında ölüm meydana gelmiş ve bu izolatlardan 11 tanesinin ölü larva üzerinde sporlaşma yaptığı gözlenmiştir. *P. fumosoroseus*'un üç izolatı, *B. bassiana* ve *M. anisopliae*'nin bir izolatı diğer izolatlara göre önemli derecede etkili bulunmuştur. *Paecilomyces fumosoroseus*'un 2679 nolu izolatı, diğer funguslar arasında en umut verici izolat olarak belirlenmiş ve doz-ölüm testi uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar *P. fumosoroseus*'un orman ortamında *T. pityocampa*'ya karşı mikrobiyal kontrol etmeni olarak iyi bir aday olabileceğini göstermiştir.

Sevim vd. (2010), yaptıkları çalışmada *T. pityocampa*'ya karşı daha etkili ve güvenli bir biyolojik kontrol etmeni bulmak için Türkiye'nin Karadeniz Bölgesi'nde entomopatojen fungusları araştırmış ve patojenitelerini test etmişlerdir. İzole edilen beş farklı fungusdan dördü yapılan moleküler ve morfolojik karakterizasyon sonucu *B. bassiana* olarak belirlenmiştir. Bu izolatlar uygulamadan 10 gün sonra %100 ölüm oranına sebep olmuşlardır. *Beauveria bassiana* KTÜ-24 izolatı %100 ölüm oranına ile en yüksek değerde spor üretmiştir. Sonuç olarak, *B. bassiana* KTÜ-24'ün bu zararlıya karşı olası biyolojik kontrol etmeni olarak daha iyi bir aday olduğu görülmüştür.

Draganova vd. (2013) tarafından Bulgaristan'da pul kanatlı orman zararlılarından *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantridae)'in birinci, ikinci ve üçüncü larva dönemlerinde doğal olarak bulunan entomopatojen fungus *B. bassiana*'nın 7 izolatu ve *M. anisopliae*'nin 1 izolatını uygulanmıştır. *B. bassiana* izolatları larvalar üzerinde mikozis gelişimi göstermişlerdir. *M. anisopliae* izolatu 1. dönem larvalarda öldürücü etkiye sahipken *B. bassiana*'nın iki izolatu 3. dönem larvalarda etkili olduğu belirlenmiştir.

Yapılan diğer çalışmalar şunlardır;

Çanakçıoğlu ve Mol (1998), yaptıkları çalışmada çam keseböceğinin Türkiye'de *Pinus brutia*, *P. nigra*, *P. silvestris*, *P. pinea*, *P. halepensis*, ve *Cedrus libani* ve ardıçlar üzerinde bulunduğunu bildirmişlerdir. Zararlının ortamda yeterli gıda bulamaması durumunda çeşitli maki bitkilerine yöneldiklerini ve bu bitkilerin iyi birer gıda kaynağı olmaması nedeniyle tırtılların çoğu kez öldüğünü ifade etmişlerdir.

Kanat (2002), tarafından yapılan çalışmada Kahramanmaraş kızılçam ormanlarında çam keseböceğinin larva evresine karşı biyolojik mücadelede *Calosoma sycophanta* L. (Coleoptera: Carabidae)'nin kullanılması araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda *C. sycophanta*'nın zararlı kontrolünde etkin olduğu görülmüştür.

Can ve Özçankaya (2003), Ege Bölgesi'nde dört Orman Bölge Müdürlüğü'ne ait toplam 43 ağaçlandırma sahasında yürütülen proje ile çam keseböceği yumurtaları ile beslenen üç parazitoit tür tespit etmiştir. Bunlardan etkili olarak belirlenen *Ooencyrtus pityocampae* (Mercet) (Hymenoptera: Encyrtidae) ve *Baryscapus servadeii* Dom. (Hymenoptera: Eulophidae)'nin illere ve rakımlara göre popülasyon yoğunluklarındaki değişimler incelenmiştir.

Özçankaya ve Can (2004), Muğla' da *Bacillus thuringiensis* (Bt)'in dahil olduğu farklı ticari preparatlarla deneme yapmışlardır. Çevreye hiçbir yan etkisi olduğu gözlenmeyen Bt preparatlarının çam keseböceği ile mücadelede kullanılabilir

olduğu kanıtlanmış olmasına rağmen böceğin kontrolünde Türkiye’de halen biyolojik kontrol etmeni olmadığı görülmüştür.

Cebeci vd. (2010), Türkiye’de yaprak zararlısı olan çam keseböceğinin sebep olduğu hasarı kontrol etmek zararını minimuma indirmek ve biyoinsektisitlerin etkinliğini öne çıkarmak için *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* içeren Foray 76B ve VBC 60074 formülasyonlarını kullanarak uygulamalar yapmışlardır. Sonuç olarak bu zararlıda %97-99 arası değişen bir ölüm oranı gözlemlenmiştir.

Onaran ve Katı (2010), orman zararlılarına karşı avcı böcek (*Calosoma sycophanta* L. (Coleoptera: Carabidae)) kullanarak doğal biyolojik mücadele yöntemi uygulamış ve avcı böceklerin çam keseböceğinin tırtıl ve pupa kısımlarını yiyerek yok ettiğini tespit etmişlerdir. Predatör böceğin çam keseböceği tırtıllarını takip ederek onların topluca pupa oldukları yerlere yumurtalarını bıraktığı ve hem larvaları, hem de yeni oluşmuş pupaları yediği tespit belirlenmiştir.

Yılmaz vd. (2014), yerel *Bacillus thuringiensis* (Bt) izolatının, uygun ortam sıcaklığında, orman zararlısı *T. wilkinsoni* kontrolü için larva aşamasında gerekli spor-kristal konsantrasyonunu belirlemişlerdir. *Thaumetopoea wilkinsoni* larvalarının geç evrelerinde ve düşük sıcaklıklarda duyarlılıkları azalmıştır. Optimum sıcaklık 15°C olarak bulunmuştur. En yüksek spor-kristal konsantrasyonu (500 µg g⁻¹)’da, en etkili izolat (SY49.1) ikinci dönem larvaları için 5°C’ de %83 ölüm oranına sebep olmuştur. Bununla birlikte geç dönem larvalarına bu sıcaklık da uygulanan bütün izolatlar için ölümlerde yaklaşık 4 katlık bir azalma gözlemlenmiştir. Yine, diğer Bt izolatları, SY27.3 hariç, erken evre larvalarında 25°C’ de hemen hemen tamamen ölüme sebep olmuştur.

Çam keseböceği yumurtalarının entomopatojen funguslara duyarlılığına dair çalışma bulunamamıştır. Fakat başka zararlı türlerin yumurtalarının, bazı entomopatojen funguslara karşı duyarlılığına ilişkin çalışmalar şunlardır;

Romana ve Fargues tarafından 1992’ de yapılan çalışmaya göre; *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae)’un yumurta ve 1., 3. ve 5. dönem nimf ve

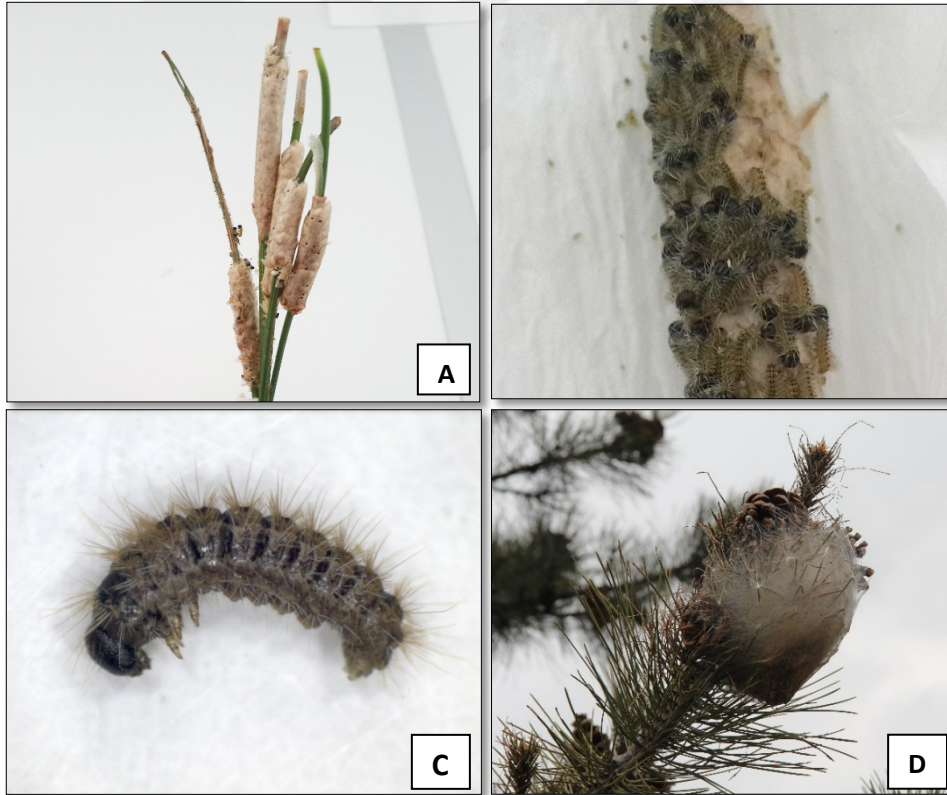
erginlerinin entomopatojen fungus *Beauveria bassiana*'ya duyarlılığını belirlemek için laboratuvar denemeleri yapılmıştır. Denemelerde kullanılan 3×10^2 ve 3×10^5 konidi/cm² dozların sebep olduğu ölüm yüzdeleri yüksek bulunmuştur. Yumurta dönemine yapılan uygulamada yumurtalardan larva çıkışı olmadan önce yumurtaların öldüğü belirlenmiştir.

Shi ve Feng tarafından 2004 yılında yapılan çalışmada; Fungus biyokontrol ajanları, *B. bassiana*, *M. anisopliae* ve *P. fumosoroseus* içeren 10 izolat kırmızı örümcek akarı *Tetranychus cinnabarinus* Boisd. (Acari: Tetranychidae) yumurtaları üzerindeki öldürücü etkileri araştırılmıştır. Fungus uygulamasından sonraki 12 gün boyunca enfekte yumurtalar küçülmüş ve *B. bassiana* için turuncu-kahverengi, *P. fumosoroseus* ya da *M. anisopliae* için siyah-gri renk gözlenmiştir.

Samuels ve arkadaşları tarafından 2002 yılında yapılan çalışmada tahtakurusu *Blissus antillus* (Hemiptera: Lygaeidae) yumurtalarına karşı *B. bassiana* ve *M. anisopliae*'nin patojenitesi ve virülanslığı araştırılmıştır. Uygulama yapılmış yumurtaların değerlendirmeleri 20 gün boyunca her gün yapılmıştır. *M. anisopliae* izolatları yumurtalarda 1×10^4 konidi/ml⁻¹ de bile yüksek virülanslık göstermiştir. Tüm *B. bassiana* izolatlarının uygulandığı denemelerde düşük virülanslık ya da hiçbir etki olmadığı gözlemlenmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

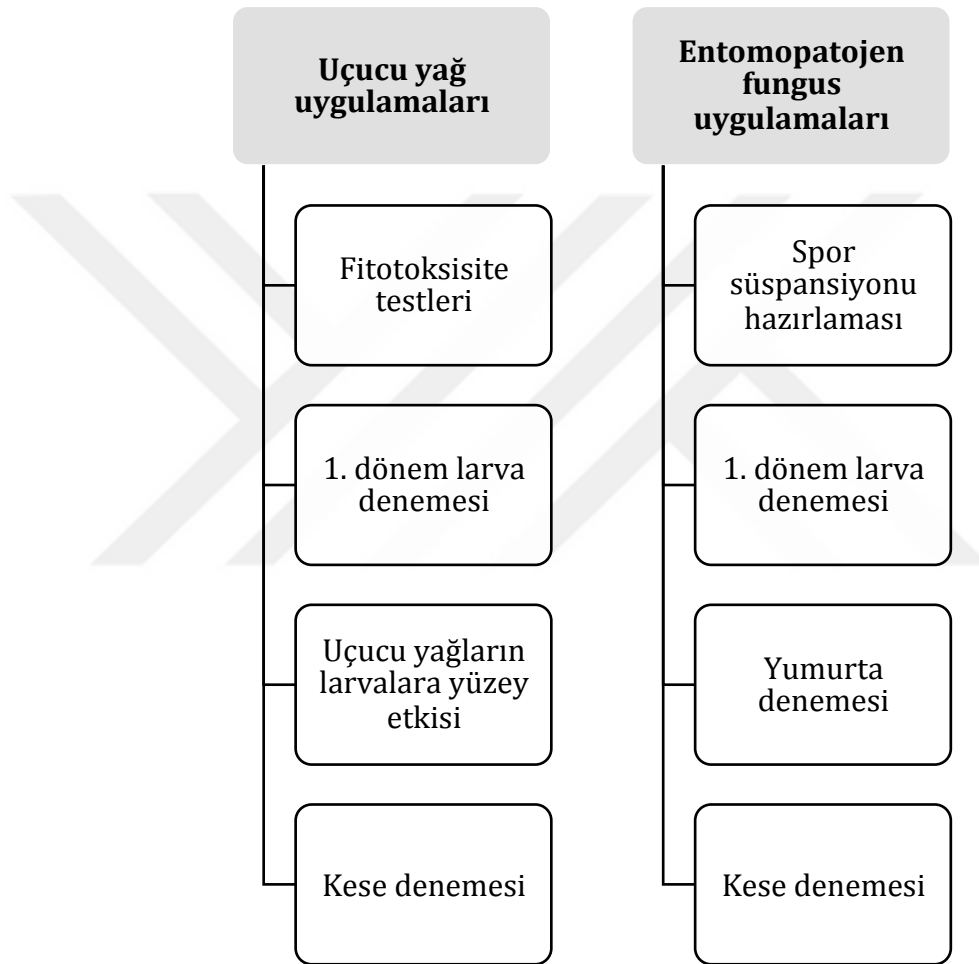
Çalışmada çam keseböceğinin yumurta koçanları, 1. dönem larvaları ve 3. dönem larva döneminin oluşturduğu keseler kullanılmıştır (Şekil 3.1). Entomopatojen funguslar İngiltere'nin Swansea Üniversitesi The Biocontrol and Natural Products (BANP) grubu tarafından temin edilen ve daha önceleri *Metarhizium anisopliae* olarak bilinen, ancak yeni yapılan çalışmalarda *Metarhizium brunneum* olarak değiştirilen V275 ve ARSEF 4556 izolatları kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Çalışmada kullanılan biberiye, okaliptüs ve zencefil uçucu yağları Isparta Botalife firmasından temin edilmiştir (Şekil 3.3. A). Ayrıca denemede kullanılan çam ağacı yaprakları ise Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Doğu Kampüsü Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü binası önünde bulunan çam ağaçlarından temin edilmiştir.



Şekil 3.1. Çam keseböceğinin yumurta koçanları (A); 1. dönem larvaları (B); 3. dönem larvaları (C); ağaç üzerinde oluşturdukları keseler (D).

Çizelge 3.1. Entomopatojen fungus izolatları ve orijinleri

Entomopatojen fungus izolatları	Konukçusu	Coğrafik orijini
<i>M. brunneum</i> (V275)	<i>Cydia pomonella</i> (Lepidoptera: Tortricidae)	Avusturya
<i>M. brunneum</i> (ARSEF 4556)	<i>Boophilus</i> spec. (Acari: Ixodidae)	Amerika



Şekil 3.2. Uçucu yağ ve entomopatojen fungus uygulamalarının şematik görüntüsü.

3.1. Çam Keseböceği Örneklerinin Alınması

Uygulama yapılan çam keseböceği yumurta koçanları, 1. dönem larvaları ve keseler Isparta Barla yolu üzerindeki kızılçam ormanından, Isparta Organize Sanayi Bölgesinden ve Isparta Süleyman Demirel Havalimanı yolundaki çam

ağaçlarından ve ayrıca Antalya kurşunlu şelalesi yolundaki hatıra ormanlarından toplanmıştır. Alınan örnekler ayrı kaplara konularak laboratuvara getirilmiştir.

3.2. Uçucu Yağlar

3.2.1. Uçucu yağların fitotoksisite testleri

Uçucu yağların fitotoksisite etkisi her uçucu yağın 3 ayrı konsantrasyonuna (%3, %1 ve %0.1) daldırılan çam ağacı yaprağı 7 gün boyunca gözlenmiştir. Kontrol grubu olarak sterile su kullanılmıştır ve 5 tekrardan oluşmuştur. Kontrol grubuna göre, uygulama yapılmış yapraklardaki herhangi bir fitotoksik işaret muhtemel fitotoksisite olarak kabul edilmiştir. Test edilen tüm uçucu yağların %3'lük konsantrasyonlarının fitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir.

3.2.2. Uçucu yağların 1. dönem larvalara etkinliklerinin belirlenmesi

Öncelikle steril ortamın sağlanabilmesi için denemede kullanılan cam Petri kapları, kurutma kağıtları ve saf su 121°C sıcaklıkta 15-20 dakika otoklav edilmiştir. Denemede kullanılmak üzere çam keseböceği birinci dönem larvaları seçilerek ayrı bir kap da yaklaşık bir saat aç bırakılmıştır. Ayrıca çam ağaçlarından yapraklar koparılmış ve üzerlerinde diğer saprofit fungus gelişimlerini önlemek amacıyla 2 dakika %1'lik sodyum hipoklorite, 1 dakika %70 lik etanole daldırılmış daha sonrasında ise 3 kez saf su ile yıkanarak steril edilmiştir. Sterilize edilmiş çam ağacı yaprakları, steril su ile hazırlanmış 100 ml her uçucu yağ konsantrasyonuna (%3, %1 ve %0.1) teker teker daldırılmıştır (Şekil 3.3. B). Uygulama yapılmış iki adet çam ağacı yaprağı Petri kapları (9cm x 1.5 cm) içerisine yerleştirilmiştir. Bu yapraklar ile beslenmeleri için on tane 1. dönem larva Petri kabının ortasına aktarılmıştır (Şekil 3.3. C). Steril su uygulaması yapılan çam ağacı yaprakları ise kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Tüm denemeler 25°C ±2 de, % 60 ±5 bağıl nemli laboratuvar koşullarında gerçekleştirilmiştir. Larva ölümleri 7 gün boyunca günlük olarak kontrol edilmiş ve ölü larvalar Petri kaplarından uzaklaştırılmıştır. Bu deneme 5 tekrardan

oluşmuştur ve farklı zamanlarda bir kez tekrar edilmiştir. İki deneme arasında ki ortalama değer hesaplanmış ve ortalama ölüm yüzdesi olarak rapor edilmiştir. Larva ölümleri Abbott formülüne göre düzenlenmiş (Abbott 1925) ve yüzde ölüm oranları hesaplanmıştır. Elde edilen veriler tek yönlü ANOVA testine tabi tutulmuş ve daha sonra gruplar arasındaki farklılık Tukey testi ile karşılaştırılmıştır. Veriler SPSS programının 17.0 yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir (SPSS Inc., Chicago, IL).



Şekil 3.3. Denemelerde kullanılan okaliptüs, zencefil ve biberiye uçucu yağları (A), çam yapraklarına uçucu yağların uygulanması (B) ve Petri kaplarına konulması (C).

3.2.3. Uçucu yağların larvalara yüzey etkisinin belirlenmesi

Öncelikle steril ortamın sağlanabilmesi için denemede kullanılan cam Petri kapları, kurutma kağıtları ve saf su 121°C sıcaklıkta 15-20 dakika otoklav edilmiştir. Denemede kullanılmak üzere çam keseböceğinin üçüncü dönem larvaları seçilerek ayrı bir kaptaki yaklaşık bir saat aç bırakılmıştır. Denemede kullanılan çam yapraklarında saprofit fungus gelişimlerini önlemek için %1 sodyum hipoklorit (2 dk), %70 etanol (1 dk) ve 3 defa saf su ile yıkanarak steril edilmiştir. Steril edilmiş yapraklar içinde kurutma kâğıdı olan Petri kaplarının

içine yerleştirilmiş ve üzerine beşer larva eklenmiştir. Biberiye, okaliptüs, zencefilin %1'lik konsantrasyonu püskürtme yöntemi ile larvaların üzerine 1 ml uygulanmıştır. Kontrol gurubunda steril saf su kullanılmıştır. Bu deneme beş tekerrürlü olarak kurulmuş ve yedi gün boyunca larvaların beslenmelerine, dışkılarına ve hareketlerine bakılmıştır.

3.2.4. Uçucu yağların çam keseböceği keselerindeki etkinliklerinin belirlenmesi

Uçucu yağların kese içinde bulunan larvalara etkisi laboratuvar ve arazi koşullarında belirlenmiştir. Laboratuvar koşullarında yapılan denemede uçucu yağların etkili ve fitotoksik etkisi bulunmayan %1'lik konsantrasyonu kullanılmıştır. Çam keseböceğinin üçüncü dönem larvalarının bulunduğu keseler 2016 yılının Ocak-Şubat ayları arasında toplanmıştır. Her bir uçucu yağın 10 ml %1'lik konsantrasyonu şırınga ile keselere enjekte edilmiştir (Şekil 3.4. A). Kontrol gurubunda steril saf su kullanılmıştır. Her bir uçucu yağ için beş kese ayrı plastik kutulara yerleştirilmiştir. Deneme iki farklı zamanda tekrar edilmiştir. Uygulama yapılmış keseler $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta $\% 60 \pm 5$ bağıl nem de saklanmış ve uygulamadan yedi gün sonra keselerdeki larva ölümleri kontrol edilmiştir. İki ölçümün arasındaki ortalama hesaplanarak larva ölüm yüzdesinin ortalaması alınmıştır.

Arazi denemesi, Isparta Barla yolu üzerindeki kızılçam ormanında yapılmıştır. Her bir uçucu yağ için ağaç üzerinde kolay erişilebilir 10 adet kese seçilmiş ve 10 ml %1'lik uçucu yağlar uygulanmıştır (Şekil 3.4. B). Kontrol grubu için steril su kullanılmıştır. Denemeden yedi gün sonra uygulama yapılmış keseler toplanıp laboratuvara getirilmiş ve ölüm oranlarına bakılmıştır.

Ölü çam keseböceği larva sayısı ölü larva yüzdesine dönüştürülmüştür. Elde edilen veriler tek yönlü ANOVA ya tabi tutulmuş ve Tukey çoklu karşılaştırma testi ile her uygulamanın karşılaştırılması ve analizi yapılmıştır. Veriler SPSS programının 17.0 yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir (SPSS Inc., Chicago, IL).



Şekil 3.4. Çam keseböceği 3. dönem larvalarının bulunduğu keselere uçucu yağ uygulaması. Laboratuvar (A) ve arazi (B) koşullarında.

3.3. Entomopatojen Fungus Etkinlik Denemeleri

Bu denemede öncelikle Petri kapları ve kurutma kâğıtları otoklav edilmiştir. Daha sonra çam ağacından koparılan yapraklarda diğer saprofit fungus gelişimini engellemek için yapraklar %1 sodyum hipoklorit (2 dk), %70 etanol (1 dk) ve 3 defa saf su ile yıkanarak steril edilmiştir. Birinci dönem larvaların yapraklara yönelimlerini sağlamak için başka bir yere alınıp yaklaşık 1 saat aç kalmaları sağlanmıştır.

3.3.1. Spor süspansiyonu hazırlaması

Entomopatojen fungus denemelerinde İngiltere'nin Swansea Üniversitesi, The Biocontrol and Natural Products (BANP) grubu tarafından temin edilen *Metarhizium brunneum* izolatlarının (V275 ve ARSEF 4556) toz halinde kitlesel olarak üretilmiş sporları ve aynı izolatların Patates Dekstroz Agar (PDA) (Merck) ortamlarına yetiştirilen fungus sporları kullanılmıştır. Bu sporlar 30 ml %0.3'lük Tween 80'li (Merck) steril su içeren falcon tüpüne eklenip vorteks ile karıştırılmıştır. Hazırlanan bu stok solüsyonundan 10^{-2} seyreltme yapıldıktan sonra Thoma lamı ile spor sayımı yapılmış ve konsantrasyonu belirlenmiştir. Ayrıca 1×10^7 konidi/ml⁻¹ olacak şekilde 100 ml spor solüsyonu hazırlanmıştır.

Her izolatin konidial canlılığı $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ de 24 saat boyunca PDA içerisinde çimlendirme yöntemiyle belirlenmiştir. Canlılık her izolat için %90-95 üzerinde bulunmuştur.

3.3.2. Entomopatojen fungus sporlarının larvalar üzerindeki etkinliklerinin belirlenmesi

Temiz çam yaprakları 10 ml 1×10^7 konidi solüsyon içerisine beş saniye daldırılarak içerisinde nemli kurutma kâğıdı bulunan Petri kaplarına (9 cm) iki adet olarak yerleştirilmiştir. On tane 1. dönem larva Petri kaplarının ortasına konulmuştur. Kontrol grubuna % 0.3 Tween 80 uygulanmıştır. Her deneme için beş tekerrür hazırlanmış ve denemeler farklı günlerde bir kere tekrar edilmiştir. Larva ölümleri on gün boyunca günlük olarak kontrol edilmiş ve toplanan her ölü larvanın yüzeyi % 2 sodyum hipoklorid, ardından % 70 etanol ve steril su ile temizlenmiştir. Ölen larvalar içerisinde nemli kurutma kâğıdı bulunan Petri kapları içerisine fungus gelişimini gözlemlemek için yerleştirilmiştir.

3.3.3. Entomopatojen fungusların yumurtalar üzerindeki etkinliklerinin belirlenmesi

Çam keseböceği dişileri yumurta bırakırken yumurta koçanlarının üzerini pullarla kaplarlar. Denemede kullanılan yumurta koçanları iki gruba ayrılmıştır. Birinci grupta yumurta koçanlarının pulları temizlenmiş ve diğer grupta ise pulları olduğu gibi bırakılmıştır (Şekil 3.5.). Bu denemede pullu ve pulsuz yumurta koçanlarının her ikisi içinde ayrı ayrı kontrol grupları kurulmuştur. İlk grup da yumurta koçanları hiçbir muamele görmeden direk Petri kaplarına alınmıştır. Diğer kontrol grubunda yumurta koçanları beş saniye % 0.3 Tween 80'li suya daldırılıp çıkarılmış ve Petri kaplarına konulmuştur. Hazırlanan fungus solüsyonlarına pullu ve pulsuz yumurta koçanları beş saniye daldırıldıktan sonra Petri kaplarına alınmış ve günlük kontrollerde fungus gelişimi, yumurtadan çıkan parazitoit sayısı, parazitoitlerde gelişen miselyum yoğunluğu, yumurtalardan çıkan larva sayısı ve enfekte larva sayısı incelenmiştir. Denemeler $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta ve % 60 ± 5 nem koşullarında

yürütülmüştür. Bu deneme farklı zamanlarda bir kere tekrar edilmiştir. İlk denemede Eylül sonu Ekim başında toplanan yumurtalar erken yumurta koçanları ve ikinci denemede Ekim sonunda toplanan yumurtalar ise geç yumurta koçanları olarak adlandırılmıştır. Her bir uygulama için 5 yumurta koçanı kullanılmıştır.



Şekil 3.5. Pullu (sol) ve pulsuz (sağ) çam keseböceği yumurta koçanları.

3.3.4. Entomopatojen fungusların çam keseböceği keselerindeki etkinliklerinin belirlenmesi

Laboratuvar koşullarında yapılan uygulamada her izolattan 10 ml hazırlanan spor süspansiyonları (1×10^7 konidi/ml⁻¹) şırınga ile keselerin içine enjekte edilmiştir. Kontrol keselerine 10 ml steril % 0.3 Tween 80 uygulanmıştır. Denemeler farklı zamanda bir kere tekrar edilmiştir. Ayrı plastik kutulara konulan keseler $25 \pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklıkta ve $\% 60 \pm 5$ nem koşullarında tutulmuştur. Kese içindeki larvaların ölüm oranları 10 gün sonra kontrol edilmiştir. İki ölçümün ortalaması ise ortalama ölüm zamanı olarak kontrol belirlenmiştir. Her bir deneme için beş kese kullanılmıştır.

Laboratuvar koşullarında yapılan uygulamalarda *Metarhizium brunneum* izolatlarının ikisi de aynı oranda enfeksiyona sebep olduğundan arazi koşullarında yapılan kese denemelerinde sadece V275 izolatı kullanılmıştır. Ağaçlar üzerinde kolay erişilebilir on adet kese içine *M. brunneum*'un (V275) 1×10^7 konidi/ml⁻¹ süspansiyonundan 10 ml şırınga ile enjeksiyon edilmiştir.

Kontrol grubu için ise aynı miktarda % 0.3 Tween 80 verilmiştir. Keseler denemeden 10 gün sonra toplanıp laboratuvara getirilerek incelenmiştir. Entomopatojen fungus enfeksiyonun belirtisi olan miselyum ve spor gelişimi gösteren larvalar fungus enfeksiyonu olarak kaydedilmiştir.

Entomopatojen fungus ile enfekte olmuş çam keseböceği larva sayısı yüzde olarak hesaplanmıştır. Veriler tek yönlü ANOVA' ya tabi tutulmuş ve daha sonra ise TUKEY çoklu karşılaştırma testi yöntemi uygulanmıştır. Veriler SPSS 17.0 yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir (SPSS Inc., Chicago, IL).



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Uçucu Yağların 1. Dönem Larvalara Etkisi

Çam keseböceği 1. dönem larvalarına üç bitkisel uçucu yağın (zencefil, biberiye, okaliptüs) farklı konsantrasyonlarının (% 3, 1 ve 0.1) toksisite etkisi Çizelge 4.1'de verilmiştir. Uçucu yağların toksisite etkisi doz ile doğru orantılıdır. Sonuçlara göre zencefilin % 3 ve % 1 konsantrasyonları, kontrol grubu ve diğer uçucu yağlar ile karşılaştırıldığında 3. ve 4. günlerde çok fazla toksik etki göstermiş ve 5. ve 6. günlerde larvalarda % 100 ölüm meydana getirmiştir. Okaliptüs (% 1 ve 0.1) ve biberiye (% 0.1) uygulamadan 3. ve 4. günden sonra % 20 den fazla ölüm meydana getirmezken, denemeden 7 gün sonra en yüksek dozda (% 3) sırasıyla % 70 ve % 87 ölüm meydana gelmiştir. Deneme süresince kontrol grubunda hiçbir ölüm gözlenmemiştir.

Denemeden bir gün sonra 1. dönem larvalar zencefilin tüm konsantrasyonlarından ve okaliptüs ve biberiyenin yüksek konsantrasyonlarından (% 3) kaçış davranışı sergilemişlerdir. Kontrol, okaliptüs ve biberiye gruplarının düşük konsantrasyonlarında larvalar beslenme aktivitesi göstermiş ve kurutma kâğıdı üzerine dışkı bırakmışlardır. Larvalarda ölmeden önce başı dik bir pozisyonda ve ağzından yeşil sıvı çıkışı gözlenmiştir.

4.2. Uçucu Yağların Larvalara Yüzey Etkisi

Çam keseböceği 3. dönem larvalarına üç bitkisel uçucu yağın (zencefil, biberiye, okaliptüs) % 1 konsantrasyonunun yüzeysel etkisi Çizelge 4.2'de verilmiştir. Sonuçlara göre, zencefilin %1'lik konsantrasyonu, kontrol grubu ve diğer uçucu yağlardan daha etkili bulunmuştur. Zencefil 3. günden itibaren etkisini göstermeye başlamış ve 6. ve 7. günlerde ise % 100 ölüm gözlenmiştir. Okaliptüs ve biberiyede 7. günde ölüm oranları oldukça düşük olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.1. Uçucu yağ uygulanan çam keseböceği 1. dönem larvalarında gözlemlenen yüzde ölüm oranları (\pm SH)

Uçucu yağlar	Doz (%)	Ölüm oranı (%)					
		Maruz kalma süresi (gün)					
		2. Gün	3. Gün	4.Gün	5. Gün	6. Gün	7. Gün
Zencefil	3	43 \pm 14 .6 a	93 \pm 3 a	95 \pm 2.7 a	100 \pm 0 a	100 \pm 0 a	100 \pm 0 a
	1	32 \pm 11 .7 a	84 \pm 5.2 a	86 \pm 5.6 a	98 \pm 2 ab	100 \pm 0 a	100 \pm 0 a
	0.1	3 \pm 3 b	30 \pm 5.9 bc	34.4 \pm 7. 2 bc	54 \pm 10.7 cd	62.8 \pm 9.2 b	73.7 \pm 8.5 abc
Okaliptüs	3	2 \pm 2 b	15 \pm 3.7 bcd	20.3 \pm 6. 0 bcd	48.1 \pm 10. 5 cde	64.2 \pm 7.6 b	70.7 \pm 8.2 abc
	1	0 \pm 0 b	13 \pm 3.9 bcd	13.2 \pm 4. 0 cd	23.2 \pm 6.6 def	40.3 \pm 9.2 bc	59 \pm 9.8 bcd
	0.1	0 \pm 0 b	7 \pm 5.9 cd	9 \pm 6.0 cd	15 \pm 6.0 ef	25.6 \pm 6.6 cd	36.3 \pm 7.0 d
Biberiye	3	2 \pm 2 b	36 \pm 9.3 b	42 \pm 8.5 b	64 \pm 10.0 bc	73.2 \pm 11. 3 ab	88.7 \pm 5.8 ab
	1	1 \pm 1 b	26 \pm 6.6 bcd	30 \pm 5.7 bc	49 \pm 7.8 cde	54.6 \pm 8.2 bc	70 \pm 9.1 abc
	0.1	0 \pm 0 b	15 \pm 7.9 bcd	19 \pm 8.1 bcd	36 \pm 11.2 cde	43.2 \pm 10. 7 bc	47.8 \pm 10. 5 cd
Kontrol	sdH ₂ O	0 \pm 0 b	0 \pm 0 d	0 \pm 0 d	0 \pm 0 f	0 \pm 0 d	0 \pm 0 e

*Her sütundaki aynı harfler istatistiki olarak benzer ($P>0.05$, Tukey testi), farklı harfler istatistiki olarak farklı olduklarını belirtmektedir ($P<0.05$, Tukey testi).

Çizelge 4.2. Uçucu yağların çam keseböceği 3. dönem larvalarına yüzey etkisi

Uçucu yağlar	Doz (%)	Ölüm oranı (%)*						
		1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün
Zencefil	1	0 a	0 a	53.3 b	80 b	93.3 b	100 b	100 b
Biberiye	1	0 a	0 a	0 a	3.3 a	3.3 a	16.7 a	16.7 a
Okaliptüs	1	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	13.3 a	13.3 a
Kontrol	H ₂ O	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a

* Her sütundaki aynı harfler istatistiki olarak benzer ($P>0.05$, Tukey testi), farklı harfler istatistiki olarak farklı olduklarını belirtmektedir ($P<0.05$, Tukey testi).

4.3. Uçucu Yağların Kese Denemesi

Laboratuvar koşullarında zencefilin, kontrol grubu ve diğer uçucu yağlar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklı olduğu ve yüksek ölüm oranına (% 71.2) sahip olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.3). Arazi koşullarında çam

keşeböceğinin 3. dönem larvalarından oluşan keşelere, zencefil, okalıptüs ve biberiyenin %1'lik konsantrasyonları uygulandıktan sonra kontrol grubu ile karşılaştırılmış ve etkinliklerinin yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.3). Ancak, arazi koşullarında tüm uçucu yağların etkisinin istatistiksel olarak farklı olmadığı belirlenmiştir. Sadece zencefil uçucu yağının hem laboratuvar hem de arazi denemelerinde istatistiksel olarak aynı olduğu gözlemlenmiştir, diğer uçucu yağlar laboratuvar koşullarında daha düşük ölüm oranlarına sebep olmuşlardır (Çizelge 4.3.).

Denemelerden bir kaç gün sonra laboratuvar koşullarında larvalar uçucu yağlar ile deneme yapılmış keşelerin dışında gözlemlenmiştir. Kontrol grubu olmasına rağmen, % 95.7 oranında canlı larva keşede dışında gözlenmiştir. Zencefil, okalıptüs ve biberiye denemelerinde keşede içinde sırasıyla % 60.3 (% 15.8 canlı - % 44.5 ölü), %56.6 (% 40.0 canlı - % 16.6 ölü) ve % 52 (% 28.0 canlı - %24.4 ölü) oranlarında larva ölümleri olduğu belirlenmiştir. Beslenme ve dışkılar plastik kutularda gözlemlenmiştir. Arazi koşullarında ise, uygulama yapılmış keşede içinde ve dışında larva hareketleri gözlenmemiştir. Ancak, keşelerdeki toplam larva sayısı karşılaştırıldığında laboratuvar ve arazi denemeleri arasındaki önemli derecede fark olduğu belirlenmiştir. Arazi uygulaması yapılan keşelerde daha az sayıda larva gözlenmiştir. Ayrıca, arazi keşede denemesinin yapıldığı ormandan deneme yapılan keşeler incelemek için toplanırken 10 tane hiç uygulama yapılmayan keşede laboratuvara getirilerek incelenmiştir. Deneme yapılmamış keşelerin içinde ki larva sayısı ve steril su uygulanmış kontrol grubu keşeleri arasında önemli derecede farklılıklar gözlemlenmiştir. Ayrıca gözlemlerimize göre, uçucu yağ denemesi yapılmış keşede içindeki ölü larvalar, kontrol keşelerindeki canlı larvalar ile karşılaştırıldığında oldukça küçük oldukları belirlenmiştir. Deneme yapılmış keşede içinde ki canlı larvaların isteksiz hareket ettikleri ve yeteri kadar aktif olmadıkları gözlenmiştir.

Çizelge 4.3. Arazi ve laboratuvar koşullarında uçucu yağ uygulanan 3. dönem çam keseböceği larvalarının oluşturduğu keselerde gözlemlenen yüzde ölüm oranları (\pm SH)

Denemeler	Keseler içindeki ortalama larva ölüm yüzdeleri ^{x,z}			
	Zencefil	Ökalyptus	Biberiye	Kontrol
Laboratuvar denemesi	71.2 \pm 8.5 cA	24.2 \pm 6.7 bA	30.0 \pm 4.4 bA	1.3 \pm 0.8 aA
Arazi denemesi	87.4 \pm 6.7 bA	86.7 \pm 4.6 bB	76.1 \pm 5.5 bB	2.3 \pm 0.9 aA

^x Her sıradaki aynı küçük harfler istatistiki olarak benzer (P > 0.05, Tukey testi),

^z Her sütundaki aynı büyük harfler istatistiki olarak aynı olduklarını belirtmektedir (P<0.05, Tukey testi).

4.4. Entomopatojen Fungus 1. Dönem Larva Denemesi

Test edilen *M. brunneum* izolatlarının (V275 ve ARSEF 4556) çam keseböceği 1. dönem larvalarına karşı patojenik olduğu ve uygulamadan 5 gün sonra ölüm oranının % 80'e ulaştığı belirlenmiştir (Çizelge 4.4). *Metarhizium brunneum* uygulanmasından 3-8 gün sonra elde edilen tüm ölümlerin entomopatojen funguslardan kaynaklandığı görülmüştür. Ölü larvalar üzerinde miselyum ve spor gelişimi gözlenmiştir. Her iki fungus izolatın etkisi uygulamadan sonraki günlerde istatistiki olarak aynı olduğu ve kontrol grubundan farklı olduğu belirlenmiştir.

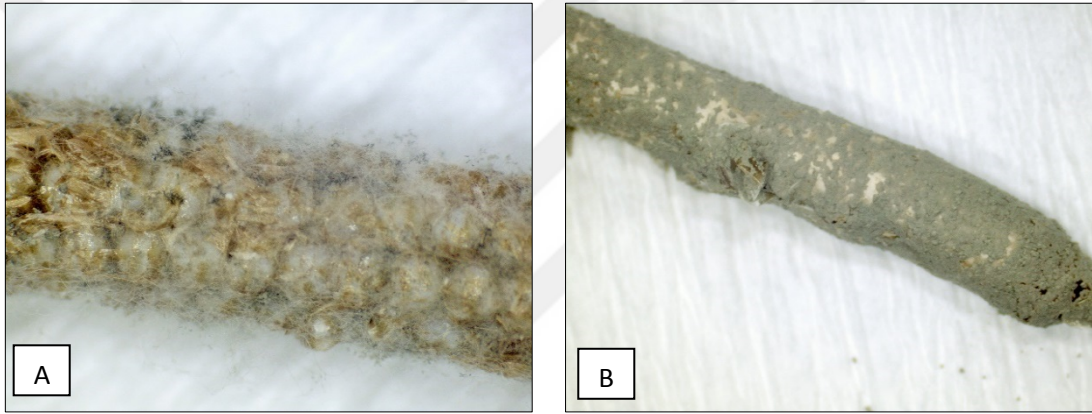
Çizelge 4.4. *Metarhizium brunneum* uygulamasından sonra çam keseböceği 1. dönem larvalarının ölüm yüzdeleri (% \pm SH). Ölüm verileri Abbott formülüne göre düzenlenmiştir. Farklı harfler ölümler arasındaki önemli derecede farklılıkları temsil eder

Entomopatojen fungus izolatları	Farklı inkübasyon periyodundan sonra ölüm oranı (% \pm SH)*			
	3. Gün	5. Gün	7. Gün	9. Gün
<i>M. brunneum</i> V275	36 \pm 12.8 ab	83 \pm 11.5 a	97 \pm 3.0 a	100 \pm 0 a
<i>M. brunneum</i> ARSEF 4556	45 \pm 15.1 a	82 \pm 12.0 a	100 \pm 0 a	100 \pm 0 a
Kontrol (%0,3 Tween 80)	0 \pm 0 b	0 \pm 0 b	0 \pm 0 b	0 \pm 0 b

*Her sütundaki aynı farklı harfler istatistiki olarak farklı olduklarını belirtmektedir (P<0.05, Tukey testi).

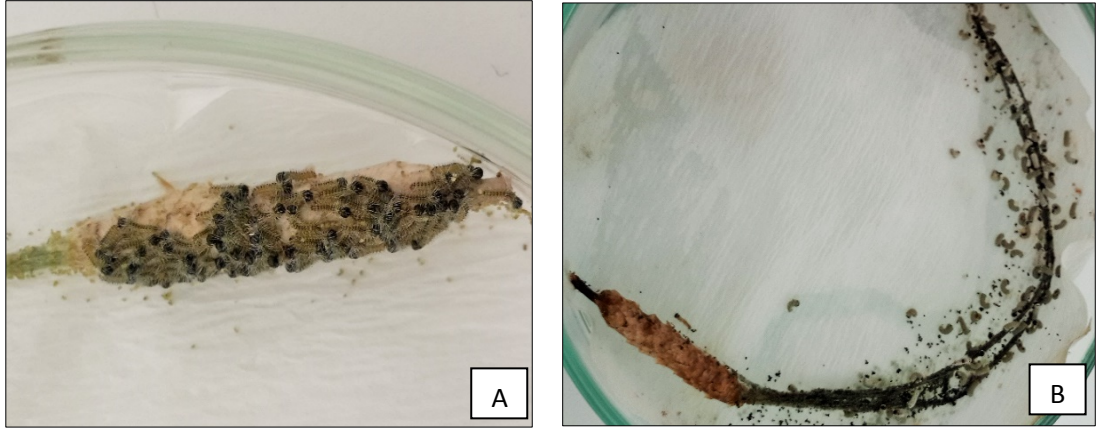
4.5. Entomopatojen Fungusların Yumurtalar Üzerindeki Etkinlikleri

Test edilen *M. brunneum* türlerinin (V275 ve ARSEF 4556) erken ve geç yumurtalara karşı etkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.5. ve 4.6.). Fungus uygulamasından 4-5 gün sonra bazı erken ve geç yumurta koçanları (pullu ve pulsuz yumurtalar) üzerinde saprofit ve entomopatojen fungus gelişimi gözlenmiştir (Şekil 4.1.). Özellikle, kontrol grubunda saprofit fungus gelişimi gösteren yumurta koçanlarında çok az veya hiç larva çıkışı gözlenmemiştir. Canlı olmayan ve saprofit funguslar ile kontamine olmuş yumurta koçanları analizlerin dışında tutulmuştur.



Şekil 4.1. Yumurta koçanları üzerinde saprofit (A) ve entomopatojen fungus (B) gelişimi.

Saprofit funguslar ile kontamine olmayan kontrol grubundaki erken yumurta koçanlarından (pullu ve pulsuz) denemeden 15(\pm 5) gün sonra larva çıkışı gözlenmiştir (Şekil 4.2. A). Bu larvalar 10 günden fazla süren gözlemler sonucunda hayatta kaldıkları belirlenmiştir. Entomopatojen fungus ile uygulama yapılmış yumurta koçanlarından bazılarında (sadece 6 tanesinde) yumurtadan larva çıkışı olduğu ve bu larvaların entomopatojen fungus ile kontaminasyonu sonucu ölüp miselyum gelişimi gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.2. B). Geç yumurta koçanlarında ise denemeden 5(\pm 3) gün sonra larva çıkışı gözlenmiştir. Fungus uygulaması yapılan yumurta koçanlarından çıkan larvalarda entomopatojen funguslardan kaynaklanan ölümler belirlenmiş ve % 100 mikoz gelişimi görülmüştür (Şekil 4.2. B). Kontrol gruplarında yumurtadan çıkan larvaların canlılığını sürdürdüğü gözlenmiştir (Çizelge 4.5 ve 4.6).



Şekil 4.2. (A) Kontrol grubu yumurta koçanlarında larva çıkışı, (B) entomopatojen fungus uygulaması yapılan yumurta koçanlarından çıkan larvalarda gözlenen entomopatojen fungus gelişimi.

Çizelge 4.5. Çam keseböceği erken yumurta koçanlarında ve 1. dönem larvalardaki entomopatojen fungus *M. brunneum* V275 ve ARSEF 4556 izolatlarının uygulanmasından 15(\pm 3) gün sonra belirlenen % ölüm oranları

Erken yumurta uygulamaları	Yumurta ölümleri (% \pm SH)	Larva çıkışları (% \pm SH)	Larva ölümleri (% \pm SH)
V275 (pullu)	96.7 \pm 3.1	3.3 \pm 3.1	100 \pm 0
V275 (pulsuz)	96.1 \pm 3.5	3.9 \pm 3.5	100 \pm 0
ARSEF 4556 (pullu)	97.8 \pm 2.2	2.2 \pm 2,2	100 \pm 0
ARSEF 4556 (pulsuz)	99.1 \pm 0.9	0.9 \pm 0.9	100 \pm 0
0.3 % Tween 80 (pullu)	83.0 \pm 5.0	17.0 \pm 5.0	0 \pm 0
0.3 % Tween 80 (pulsuz)	79.5 \pm 6.2	20.5 \pm 6.2	0 \pm 0
Uygulama yok (pullu)	81.6 \pm 6.1	18.4 \pm 6.1	0 \pm 0
Uygulama yok (pulsuz)	72.0 \pm 10.3	28.0 \pm 10.3	0 \pm 0

Çizelge 4.6. Çam keseböceği geç yumurta koçanlarında ve 1. dönem larvalardaki entomopatojen fungus *M. brunneum* V275 ve ARSEF 4556 izolatlarının uygulanmasından 5(±5) gün sonra belirlenen % ölüm oranları

Erken yumurta uygulamaları	Yumurta ölümleri (%±SH)	Larva çıkışları (%±SH)	Larva ölümleri (%±SH)
V275 (pullu)	86.6±13.4	13.4±13.4	100±0
V275 (pulsuz)	66.3±21.0	33.7±21.0	100±0
ARSEF4556 (pullu)	59.4±15.1	40.6±15.1	100±0
ARSEF4556 (pulsuz)	87.7±6.7	12.3±6.7	100±0
0.3 % Tween 80 (pullu)	59.4±15.1	40.6±15.1	0±0
0.3 % Tween 80 (pulsuz)	81.7±15.1	18.3±15.1	0±0
Uygulama yok (pullu)	76.0±14.9	24.0±14.9	0±0
Uygulama yok (pulsuz)	68.5±19.4	31.5±19.4	0±0

Yumurtalardan çıkan parazitoitler *Ooencyrtus pityocampae* Mercet (Hym., Encyrtidae) olarak Prof. Dr. Mustafa AVCI (SDÜ Orman Fakültesi, Orman Mühendisliği Bölümü) tarafından teşhis edilmiştir (Şekil 4.3. A). Yaklaşık 80 kontrol yumurta koçanından ve entomopatojen fungus uygulaması yapılan yumurta koçanlarından sırasıyla 66 ve 26 parazitoit çıkışı gözlenmiştir. Fungus denemesi yapılan yumurta koçanlarından çıkan tüm parazitoitler *M. brunneum* türlerine karşı duyarlılık göstermiştir (Şekil 4.3. B). Geç yumurta koçanları ile yapılan denemelerde sadece kontroldeki yumurta koçanlarından 6 parazitoit çıkışı gözlenmiş, diğer yumurta koçanlarından gözlenmemiştir.



Şekil 4.3. (A) Yumurtalardan çıkan parazitoit, *Ooencyrtus pityocampae* Mercet (Hym., Encyrtidae) (Fotoğraf Prof. Dr. Mustafa AVCI), (B) entomopatojen fungus ile enfekte olmuş *O. pityocampae*.

4.6. Entomopatojen Fungusların Çam Keseböceği Keselerindeki Etkinlikleri

Laboratuvar koşullarında *M. brunneum*'un iki izolatu ile muamele edilmiş keselerde fungustan kaynaklanan % 100 ölüm gözlenmiştir. Arazide sadece *M. brunneum*'un V275 izolatu uygulanmış ve % 87 oranında enfeksiyon elde edilmiştir (Çizelge 4.7). İçinde % 0.3 Tween 80 içeren kontrol denemelerinde ölüm oranı fungus uygulamalarındaki ölüm oranlarından istatistiki olarak farklı olduğu belirlenmiştir. Keseler içindeki larvalarda fungus enfeksiyonundan dolayı beyaz miselyum ve yeşil spor gelişimi gözlenmiştir (Şekil 4.4.). Entomopatojen fungus enfeksiyonun belirtisi olan miselyum ve spor gelişimi gösteren larvalar fungus enfeksiyonu olarak kaydedilmiştir. Entomopatojen fungus ile enfekte olmuş çam keseböceği larva sayısı yüzde olarak hesaplanmıştır. Veriler tek yönlü ANOVA'ya tabi tutulmuş ve daha sonra ise TUKEY çoklu karşılaştırma testi yöntemi uygulanmıştır. Veriler SPSS 17.0 yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir (SPSS Inc., Chicago, IL).



Şekil 4.4. Kese içinde entomopatojen fungus ile enfekte olmuş çam keseböceği larvaları

Çizelge 4.7. Çam keseböceği 3. dönem larvaların bulunduğu kese denemelerinde ölüm oranlarının yüzdeleri

Entomopatojen fungus izolatları	Ortalama % ölüm oranları (%± SH)*	
	Laboratuvar denemesi	Arazi denemesi
<i>M. brunneum</i> V275	100±0 a ^x A ^z	86.9±6.41 aA
<i>M. brunneum</i> ARSEF 4556	100±0 a	--
Kontrol (%0.3 Tween 80)	0.8±0.42 bB	3.68±1.61 bB

^x Her sıradaki aynı küçük harfler istatistiki olarak aynı

^z Her sütundaki aynı büyük harfler istatistiki olarak aynı



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Farklı bitki türlerinden elde edilen uçucu yağların çam keseböceği üzerindeki öldürücü etkisi birçok çalışma ile tespit edilmiştir (Kanat ve Alma,2003; Çetin vd., 2006; Kesdek vd., 2014). Ön çalışma olarak 2015 yılında yapılan denemede ardıç, sedir, kekik, zencefil, okaliptüs ve biberiye uçucu yağları larvalar üzerinde denenmiş ve en etkili olan zencefil, okaliptüs ve biberiye bu çalışmada detaylı olarak incelenmiştir. Zencefilin %3 ve %1'lik konsantrasyonlarının larvalar üzerinde öldürücü ve kaçırıcı etkisi olduğu gözlenmiştir. Fakat zencefilin %3'lük konsantrasyonu bitki yaprakları üzerinde toksik etki gösterdiği için arazi denemelerinde %1'lik konsantrasyonu kullanılmıştır. Diğer uçucu yağların (okaliptüs ve biberiye) %3'lük konsantrasyonları larvalar üzerine etkili olmasına rağmen fitotoksik etkileri gözlenmiştir. Düşük konsantrasyonlarda ise larva ölüm oranlarının oldukça az olduğu belirlenmiştir.

Bitki ekstratlarının çam keseböceğine etkileri arazi koşullarında ve kese içindeki larvalara karşı daha önce araştırılmamıştır. Yapılan bu çalışma bir ilk niteliğinde olup, uçucu yağlar arazi ve laboratuvar koşullarında denenmiştir ve arazi koşullarında daha etkili olduğu gözlenmiştir. Erken dönem larvalar genellikle gevşek bir kese meydana getirirler ve onu terk ederler, 3. dönem larvalar ise kalıcı kese oluştururlar (Halperin 1990). Çok hareketli olan çam keseböceği larvalarının ilginç beslenme davranışları vardır. Düşük sıcaklıklarda bile ağır hareket edebilirler ve beslenirler (Fitzgehald ve Blas, 2003). Douma-Petridou (1989) tarafından yapılan çalışmada larvalar beslenmek için terk ettikleri keseleri tekrar geriye bulamayabilirler. Larvalar keseleri meydana getirirlerken aynı ağaç üzerine birkaç iz bırakabilirler ve bunlar keseleri kaybetmelerine neden olur. Bizim çalışmamızda, laboratuvar koşullarında incelenen keselerden larvaların dışarıya çıktığı bununda uçucu yağların kovucu etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Arazi koşullarında kese içindeki larva denemelerinde larva sayısının az olduğu görülmüştür bunun nedeni ise, bazı larvalar keselerini terk etmiş ve diğer keselere gitmiş olabilme ihtimalleridir ya da uçucu yağ denemelerinden sonra risk altında oldukları için yeni keseler oluşturmuş olabildikleri düşünülmektedir.

Bu çalışmanın sonucu olarak uçucu yağların özellikle de zencefilin çam keseböceği larvaları üzerinde uzaklaştırıcı ve öldürücü etkisi olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, bu uçucu bitkisel yağlar çam kese böceklerine karşı alternatif potansiyel olarak kabul edilebilir ve kontrol amaçlı kullanılabilirler. Ancak, ormanlardaki ağaçlar üzerindeki hasarı önlemek için bu konu ile ilgili daha fazla araştırma gereklidir.

Birkaç entomopatojen fungus türünün *T. pityocampa* üzerindeki etkisi test edilmiş ve patojenik etkileri belirlenmiştir (Vargas-Osuna vd. 1994; Er vd., 2007; Sevim vd., 2010; Draganova vd., 2013). Bu çalışmada, *M. brunneum* izolatlarının çam keseböceği yumurtalarına, 1. dönem larvalarına ve 3. dönem larvalarına patojenik etkisi araştırılmıştır. Entomopatojen fungusun etkisinin kısa zamanda kontrollü koşullarda %100'e ulaştığı gözlenmiştir. Özellikle kese içinde larvaların hem toplu halde bulunması, hem de kesenin içindeki sıcaklık ve nem koşullarının fungusların gelişimine uygun olmasından dolayı kese içine fungus uygulaması önemlidir. Ayrıca kese içinde entomopatojen fungus sporlarına maruz kalan larvalar gece beslenmek için dışarıya çıktığında fungus sporlarının yayılmasına olanak sağlayabilirler. Bu da entomopatojen fungus ile kontrol yüzdesini arttırabilir.

Entomopatojen fungusların çam keseböceği yumurtalarına enfeksiyonu ile ilgili herhangi bir çalışma yoktur. Ayrıca, entomopatojen fungusların diğer böceklerin yumurta dönemlerine olan patojenite etkisini araştıran çalışmalar oldukça azdır. Bu çalışma ile *M. brunneum* 'un çam keseböceği yumurtalarına karşı oldukça etkili olduğu belirlenmiştir. Yumurta koçanlarının çoğunun fungus sporları ile kaplı olduğu ve erken yumurta koçanlarında larva çıkışı gözlenmemiştir. Fungus ile uygulama yapılan geç yumurta koçanlarında yumurtadan çıkış olmuş ama çıkış yapan larvaların entomopatojen funguslar ile enfekte oldukları görülmüştür. *Blissus antilus* (Leonard) (Hemiptera: Lygaeidae) yumurtalarına uygulanan entomopatojen funguslardan *M. anisopliae*'nin etkili olduğu Samuels vd. (2002), tarafından belirlenmiştir. Shi ve Feng' in 2004 yılında yaptığı çalışmada *B. bassiana*, *M. anisopliae* ve *Paecilomyces*

fumosoroseus'un birkaç izolasyonunun kırmızı örümcek akarı *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) yumurtalarına karşı öldürücü etkisi incelenmiş ve akar yumurtaları üzerinde *B. bassiana* ve *P. fumosoroseus*'un etkili olduğu görülmüştür. Lacey ve arkadaşları tarafından 1999 yılında yapılan çalışmada ise *P. fumosoroseus* 'un konidi ve blastosporlarının ovisidal etkisi *Bemisa argentifolii* (Bellow ve Perring) (Homoptera: Aleyrodidae)' ye karşı araştırılmış ve yüksek ölüm oranı gözlenmiştir. Yumurtaların duyarlılığını belirlemek için laboratuvar analizleri yürütülmüş, *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) 1., 3. ve 5. dönem nimflerine ve erginlerine karşı *B. bassiana*'nın bir izolatu denenmiştir. Fungus izolatu yumurtalar açılmadan önce yumurtaları öldürebildiği görülmüştür (Romana ve Fargues, 1992).

Fungus kontaminasyonları, kitle üretimleri sırasında ciddi problemlere neden olabilir. Bizim gözlemlerimize göre, saprofitik funguslar deney sırasında bazı yumurta koçanlarında kontaminasyona sebep olmuşlar ve larvaların yumurtadan çıkışlarında çeşitli problemlere yol açmışlardır.

T. pityocampa ve *T. wilkinson*'nin doğal düşmanları çeşitli çalışmalarda gözden geçirilmiştir. Başlıca yumurta parazitoidleri *Baryscapus servadeii* (Hymenoptera: Eulophidae) ve *Ooencyrtus pityocampae* (Hymenoptera: Encyrtidae) bulunmuştur (Mirchev vd., 2004; Battisti vd., 2015). Bir dizi patojenik organizmaların; sitoplazmik ve nükleer virüsler (Vago 1959; Ince vd., 2007) ve entomopatojen nematodların (Triggiani ve Tarasco 2002) çam keseböceği larvalarını etkilediği gözlenmiştir. Çam keseböceği larvaları ve pupaları sık sık entomopatojen fungus türleri tarafından kontamine oldukları ve bu funguslar içerisinde en yaygın olanının *B. bassiana* türü olduğu bilinmektedir (Sevim vd., 2010; Battisti vd., 2015).

Sonuç olarak, bu çalışma da çam keseböceğinin ağaçlar ve insanlar üzerindeki zararlı etkilerinin erken dönemlerde bastırılmasında *M. brunneum* izolatlarının iyi bir potansiyele sahip olduğu görülmüştür. Mikrobiyal kontrol ajanı olarak, entomopatojen funguslar sadece hedeflenen organizmayı öldürmeyi değil, aynı zamanda konukçu da yayılmayı ve çoğalmayı da isterler. Bizim çalışmamızda,

fungus sporları yumurta koçanlarında ve larva yüzeyinde gelişmiştir. Ek araştırmalar bu fungusların arazide ki etkinliklerini belirlemek için gereklidir. Ayrıca, orman ekosisteminde uygulama yöntemleri ve fungusun uzun vadeli etkileri de araştırılmalıdır. Sonuç olarak, test ettiğimiz fungus izolatları ileri ki arazi çalışmalarında çam keseböceği popülasyonunu bastırmak için mikrobiyal kontrol ajanları arasında aday olarak düşünebilir.



KAYNAKLAR

- Avcı, M., Sarı, R., Sarıkaya, O., 2011. *Thaumetopoea wilkinsoni*'nin farklı yükseltilerde uçuş zamanının feromon tuzaklarla belirlenmesi. Türkiye I. Orman Entomolojisi ve Patolojisi Sempozyumu, 23-25 Kasım, 334s, Antalya.
- Battisti, A., Avcı, M., Avtzis, D.N., Jamaa, M.L.B., Berardi, L., Berretima, W., Branco, M., Chakali, G., El Fels, M.A.E.A., Frérot, B. and Hódar, J.A., 2015. Natural history of the processionary moths (*Thaumetopoea* spp.): new insights in relation to climate change. In *Processionary Moths and Climate Change: An Update* (pp. 15-79). Springer Netherlands.
- Bellows, T. S., Perring, T. M., Gill, R. J., Headrick, D. H., 1994. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 87(2), 195-206.
- Breuer, M., Devkota, B., Douma-Petridou, E., Koutsaftikis, A., & Schmidt, G. H., 1989. Studies on the exposition and temperature of nests of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) in Greece. *Journal of Applied Entomology*, 107(1-5), 370-375.
- Cebeci, H. H., Oymen, R. T., Acer, S., 2010. Control of pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* with *Bacillus thuringiensis* in Antalya, Turkey. *Journal of Environmental Biology*, 31(3), 357-361.
- Çanakçıoğlu, H., Mol, T., 1998. Orman Entomolojisi. Zararlı ve Yararlı Böcekler, I.Ü Orman Fakültesi Yayınları, 975-404-487-2, İstanbul.
- Çetin, H., Erler, F., Yanıkoğlu, A., 2006. Toxicity of essential oils extracted from *Origanum onites* L. and *Citrus aurantium* L. against the pine processionary moth, *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams. *Folia biologica*, 54(3-4), 153-157.
- Dayıoğlu K., 2008. Bazı Bitki (*Melia azederach* L., *Sytrax officinalis* L., *Quercus* ssp.) tohumlarından elde edilen ekstraktların çam keseböceği, *Thaumetopoea pityocampa* (Schiff.), larvalarına karşı kullanılması. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 37s, Kahramanmaraş.
- Devkota, B. and Schmidt, G.H., 1990, Larval development of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) from Greece as influenced by different host plants under laboratory conditions, *Journal of Applied Entomology*, 109(4), 321-330.
- Draganova, S., Takov, D., Pilarska, D., Doychev, D., Mirchev, P., Georgiev G., 2013. Fungal Pathogens on Some Lepidopteran Forest Pests in Bulgaria. *Acta zool. bulg.*, 65 (2), 179-186.

- Er, M. K., Tunaz, H., Gökçe, A., 2007. Pathogenicity of entomopathogenic fungi to *Thaumetopoea pityocampa* (Schiff.) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) larvae in laboratory conditions. Journal of pest science, 80(4), 235-239.
- FAO, 2009. Global review of forest pests and diseases. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Forestry Department, 222p. ISBN 978-92-5-106208-1 Rome (Italy).
- Fitzgerald T. D., and Blas X. P. I., 2003. Mid-Winter Foraging of Colonies of the Pine Processionary Caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* Schiff (Thaumetopoeidae). Journal Of The Lepidopterists' Society. 57(3), 161-167.
- Halperin , I., 1990. Life history of *Thaumetopoea* spp. (Lep., Thaumetopoeidae) in Israel. Journal of Applied. Entomology. 110,1-6.
- Hódar, J. A., Castro, J., Zamora, R., 2003. Pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* as a new threat for relict Mediterranean Scots pine forests under climatic warming, Biological Conservation, 110,123-129.
- Ince, I. A., Demir I., Demirbağ, Z., Nalcacıoğlu R., 2007. A cytoplasmic polyhedrosis virus isolated from the pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa*. J Microbiol Biotechnol. 17, 632-637.
- İpekdal, K. 2012. Çam keseböceği, *Thaumetopoea pityocampa* (Dennis & Schiffermüller, 1775) ve *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams, 1924 (Lepidoptera: Notodontidae), türlerinde ayrılma ve filocoğrafya. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 176s. Ankara.
- Kanat, M., Alma, M. H. 2004. Insecticidal effects of essential oils from various plants against larvae of pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae). Pest Management Science, 60, 173-177.
- Kanat, M., 2002. Çam keseböceği'ne karşı biyolojik mücadelede *Calosoma sycophanta* L.' nin kullanımı, ülkemiz ormanlarında çam keseböceği sorunu ve çözüm önerileri sempozyumu, 24-25 Nisan, Sempozyum Bildiri Kitabı, 93-101, Kahramanmaraş.
- Kesdek, M., Kordali, S., Çoban, K., Usanmaz, A., Ercisli, S., 2014. Larvicidal effect of some plant extracts on the pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiffermüller) in laboratory conditions. Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus, 13(5), 145-162.
- Lacey, L. A., Kirk, A. A., Millar, L., Mercadier, G., and Vidal, C. 1999. Ovicidal and larvicidal activity of conidia and blastospores of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Bemisia*

argentifolii (Homoptera: Aleyrodidae) with a description of a bioassay system allowing prolonged survival of control insects. *Biocontrol Science and Technology*. 9, 9-18.

Mirchev, P., Schmidt, G. H., Tsankov, G., Avci, M., 2004. Egg parasitoids of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) and their impact in SW Turkey. *Journal of Applied Entomology*, 128(8), 533-542.

OGM, 2003. Ege Bölgesi ağaçlandırma alanlarında çam keseböceği (*Thaumetopoea pityocampa* (Den.&Schiff)) yumurta parazitoidlerinin belirlenmesi. Erişim Tarihi: 10.12.2015, http://85.97.199.177/yayinlar/Teknik_Bulten/tb22/tb22.pdf

OGM, 2014. Türkiye orman varlığı. Erişim Tarihi: 10.10.2015 <http://www.ogm.gov.tr/ekutuphane/Yayinlar/T%C3%BCrkiye%20Orman%20Varl%C4%B1%C4%9F%C4%B1.pdf>

Onaran, M. A., Katı, M., 2010. Çam keseböceği (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff) ile biyolojik mücadele. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 12(2), 21-27.

Özçankaya, İ. M., Can, P., 2004. Research on improvement of possibilities of mechanical and biological control of pine processionary caterpillar (*Thaumetopoea pityocampa* (Den. and Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae)) in young Turkish red pine plantations in Muğla. *Ege Forestry Research Institute Technical Bulletin*, 26, 84 s.

Romaña, C. A., Fargues, J. F., 1992. Relative susceptibility of different stages of *Rhodnius Prolixus* to the entomopathogenic Hyphomycete *Beauveria Bassiana*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87(3), 363-368.

Samuels, R. I., Coracini, D. L. A., dos Santos, C. M., & Gava, C. A. T., 2002. Infection of *Blissus antillus* (Hemiptera: Lygaeidae) eggs by the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Biological control*, 23(3), 269-273.

Sevim, A., Demir, I., Demirbağ, Z., 2010. Molecular characterization and virulence of *Beauveria* spp. from the pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae). *Mycopathologia*, 170(4), 269-277.

Shi, W. B., & Feng, M. G. 2004. Lethal effect of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* on the eggs of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) with a description of a mite egg bioassay system. *Biological Control*, 30(2), 165-173.

Şahin, H., 2006. Çam kese tırtılı (*Thaumetopoea pityocampa* (Den&Schiff)) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae)'na karşı farklı entomopatojen fungus

izolatlarının etkinliklerinin araştırılması. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 23s, Kahramanmaraş.

- Tiberi, R., Niccoli, A., Curini, M., Epifano, F., Marcotullio, M.C., Rosati, O., 1999. The role of the monoterpene composition in *Pinus* spp. needles, in host selection by the pine processionary caterpillar, *Thaumetopoea pityocampa*, *Phytoparasitica*, 27, 263-272.
- Triggiani, O., Tarasco, E. 2002. Efficacy and persistence of entomopathogenic nematodes in controlling larval populations of *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera, Thaumetopoeidae). *Biocontrol Science and Technology*, 12, 747-752.
- Tunç, I., Berger, B. M., Erler, F., Dağlı, F., 2000. Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 36(2), 161-168.
- Vago, C. 1959. Sur le mode d'infection de la virose intestinale de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. *Entomophaga*, 4, 311-314.
- Vargas-Osuna E., Munoz Ledesma J., Aldebis H. K., Santiago-Alvarez C., 1994. Pathogens and parasitoids for the control of *Thaumetopoea pityocampa* (D. y Schiff) (Lep. Notodontidae). *Bol Sanid Veg, Plagas*, 20,511-515.
- Yılmaz, S., Karabörklü, S., Azizoglu, U., Ayvaz, A., Akbulut, M., Yıldız, M., 2013. Toxicity of native *Bacillus thuringiensis* isolates on the larval stages of pine processionary moth *Thaumetopoea wilkinsoni* at different temperatures. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 37, 163-172.

ÖZGEÇMİŞ

Adı, Soyadı : Tuğçe AYDIN
Doğum Yeri ve Yılı : Manisa, 1992
Medeni Hali : Bekâr
Yabancı Dili : İngilizce
E posta : tuceaydn4535@gmail.com



EĞİTİM DURUMU

Lise : Kırkağaç Hacı İsmail Dereköy Anadolu Lisesi
Lisans : SDÜ, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

MESLEKİ DENEYİMİ

-

YAYINLARI

Güven, Ö., Karaca, İ., Aydın, T., Baydar, R., Akdaş, A., Butt, T. M. 2015. Pine processionary moth pupae are susceptible to the entomopathogenic fungus *Metarhiziumanisopliae*. International Symposium, Biopesticides – Innovative Technologies and strategies for pest control. Swansea University. UK. 7-9 September 2015 (Poster Sunum).

Güven, Ö., Karaca, İ., Aydın, T., Baydar, R., Akdaş, A., Butt, T. M. 2015. Pine processionary moth pupae are susceptible to the entomopathogenic fungus *Metarhiziumanisopliae*. 5th Entomopathogens and Microbial Control Congress. Ankara/Turkey. 9-11 September 2015. (Sözlü sunum) ISBN 978-605-9175-15-9