

***BACILLUS THURINGIENSIS* KURSTAKI'NIN *THAUMETOPOEA*
PITYOCAMPA (LEPIDOPTERA: THAUMETOPOEIDAE)
LARVALARININ MALPIGHI TÜPÜ HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

126018
AYŞE  G TC 

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)
(BİYOLOJİ)

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

T.C. YÜKSEK  CRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Haziran 2002
ANKARA

Ayşe ÖĞÜTCÜ tarafından hazırlanan *BACILLUS THURINGIENSIS KURSTAKI*'NİN *THAUMETOPOEA PITYOCAMPA* (LEPIDOPTERA: THAUMETOPOEIDAE) LARVALARININ MALPIGHI TÜPÜ HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ adlı bu tezin Yüksek Lisans Tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Z. Suludere

Prof. Dr. Zekiye SULUDERE
Tez Yöneticisi

Bu çalışma, jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Zekiye Suludere *Z. Suludere*

Üye: Doç. Dr. Yusuf Kalender *Y. Kalender*

Üye: Yrd. Doç. Dr. Selami Candan *S. Candan*

Üye:

Üye:

Bu tez Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygundur.

[Signature]

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	vi
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE METOT.....	24
2.1. Deney Hayvanlarının Laboratuvar Ortamında Muhafazası ve Beslenmesi	24
2.2 Bakterilerin Hazırlanması.....	25
2.3. Bakterilerin Larvalara Uygulanışı.....	25
2.4. Dokuların Elektron Mikroskobu İçin Hazırlanması.....	26
3. GENEL BİLGİLER	27
3.1. Çam Kese Tırtılı (<i>Thaumetopoea pityocampa</i>) Dennis & Schiff. (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) Larvalarının Biyolojisi.....	27
3.2. Böceklerde Boşaltım Sistemi.....	29
4. BULGULAR.....	31
4.1. <i>T. pityocampa</i> Larvalarında Malpighi Tüplerinin İnce Yapısı	31
4.2. <i>B. thuringiensis kurstaki</i> Muamelesinden Sonra <i>T. pityocampa</i> Larvalarının Malpighi Tüpü Hücrelerinde Görülen Ultrastrüktürel Değişiklikler	33
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	46
KAYNAKLAR.....	50
ÖZGEÇMİŞ.....	59

**BACILLUS THURINGIENSIS KURSTAKPİNİN THAUMETOPOEA
PITYOCAMPA (LEPIDOPTERA: THAUMETOPOEIDAE) LARVALARININ
MALPIGHI TÜPÜ HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Ayşe ÖĞÜTCÜ

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Haziran 2002**

ÖZET

Bu çalışmada, bir mikrobiyal insektisit olan *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera:Thaumetopoeidae) larvalarının Malpighi tüpü hücreleri üzerine etkisi elektron mikroskobu ile incelenmiştir. 3×10^8 bakteri/ml 4. evre larvaların besinleri üzerine püskürtülmüştür. Muameleden 1, 3, 6, 12, 24, 48, 60 saat ve 4 gün sonra *T. pityocampa* larvalarının Malpighi tüpü hücreleri kontrol grubu larvaların Malpighi tüpü hücreleriyle karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Muameleden 1 ve 3 saat sonra Malpighi tüpü hücrelerinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Muameleden 6 saat sonra Malpighi tüpü hücrelerinin mikrovilluslarında şişme, 12 saat sonra mitokondrilerinde şişme gözlenmiştir. Bakteri muamelesinden 24 saat sonra Malpighi tüpü hücrelerinin mitokondrilerinde şişme ve kristalarında kırılmalar, bazal zar katlanmalarında erimeler, nükleoplazmada çözümler meydana gelmiştir. Muameleden 48 ve 60 saat sonra Malpighi tüpü hücrelerinin mikrovilluslarında kısılma, sitoplazmalarında vakuoller tespit edilmiştir. Bakteri muamelesinden 4 gün sonra Malpighi tüpü hücrelerinde otofajik vakuollerin sayısında artış ve mitokondrilerde dejenerasyon gözlenmiştir. Yine bu safhada hücrelerin

mikrovilluslarında mitokondrilerin kaybolduğu ve sitoplazmada çok sayıda vakuollerin meydana geldiği tespit edilmiştir. Bakteri muamelesinden yaklaşık 5 gün sonra larvaların çoğunda ölüm gözlenmiştir.

Bilim Kodu : 405.01.06

Anahtar kelimeler : *Thaumetopoea pityocampa*, Malpighi tüpleri, Mikrobiyal insektisitler, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, Elektron mikroskobu

Sayfa Adedi :59

Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Zekiye SULUDERE



**EFFECTS OF *BACILLUS THURINGIENSIS KURSTAKI* ON THE CELLS OF
MALPIGHIAN TUBULE OF THE *THAUMETOPOEA PITYOCAMPA*
(LEPIDOPTERA: THAUMETOPOEIDAE) LARVAE**

M. Sc. Thesis

Ayşe ÖĞÜTCÜ

**GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

June 2002

ABSTRACT

In this study, the effects of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, a microbial insecticide, on Malpighian tubule cells of *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) larvae was studied under electron microscope. Fourth instar larvae foods are sprayed with 3×10^8 bacteria/ml. 1, 3, 6, 12, 24, 48, 60 hr and 4 days after bacterial treatment, Malpighian tubule cells of *T. pityocampa* larvae were studied under transmission electron microscope as compared with that of control group. 1, and 3 hr after bacterial treatment, no differences was detected in the structure of Malpighi tubule cells when compared to control group. Swelling in microvilli of Malpighi tubule cells and swelling in mitochondria were noticed at 6 and 12 hr after treatment, respectively. Melting in nucleoplasm and basal membrane infolding, and swelling in mitochondria of Malpighi tubule cells and breakage in their cristae were considerably noticable 24 hr after bacterial treatment. Microvillus of Malpighi tubule cells was found to be shorten and vacuoles in the cytoplasm were found to be formed at 48 and 60 hr after bacterial treatment. Degeneration in mitochondria and an increase in the number of autophagic vacuoles in the

mitochondria in microvilli of the cells and formation of numerous vacuoles in the cytoplasm were detected. Approximately 5 days after treatment, most of the larvae were found to be death.

Science Code :405. 01. 06

Key Words :*Thaumetopoea pityocampa*, Malpighian tubules, Microbial insecticides, *Bacillus thuringiensis kurstaki*, Ultrastructure, Electron microscope

Page Number :59

Adviser :Prof. Dr. Zekiye SULUDERE



TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım sırasında büyük ilgi ve desteğini gördüğüm, bilgi ve görüşlerinden yararlandığım tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. Zekiye SULUDERE'ye içtenlikle teşekkür ederim.

Ayrıca araőtırmalarım sırasında her zaman destek olan ve değerli fikir ve görüşlerinden yararlandığım değerli hocalarım Doç. Dr. Yusuf KALENDER ve Yrd. Doç. Dr. Selami CANDAN'a, tırtılların toplanmasında ve bize ulaőtırılmasında yardımcı olan Doç.Dr. Mehmet KANAT'a (Sütçü İmam Üniversitesi), aynı zamanda laboratuvar çalışmalarımda yardımcı olan Araç. Gör. Meltem UZUNHİSARCIKLI ve Araç. Gör. Fatma AÇIKGÖZ'e teşekkür ederim.

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. <i>T. pityocampa</i> larvalarının yetiştirilmesinde kullanılan tel kafesler.	24
Şekil 2.2. Dördüncü evre <i>T. pityocampa</i> larvaları.	25
Şekil 3. 1. <i>T. pityocampa</i> larvalarının çamlarda meydana getirdiği keseler.	28
Şekil 3.2. <i>T. pityocampa</i> larvalarında orta bağırsak üzerinde uzanan Malpighi tüplerinin ışık mikroskopunda görünüşü.	30
Şekil 3.3. <i>T. pityocampa</i> larvalarının Malpighi tüplerinin ışık mikroskopunda görünüşü.	30
Şekil 4.1. Kontrol grubu <i>T. pityocampa</i> larvalarının Malpighi tüplerinin enine kesitinde esas Malpighi tüpü hücresinin genel görünüşü.	31
Şekil 4.2. Kontrol grubu <i>T. pityocampa</i> larvalarının Malpighi tüplerinin enine kesitinde esas Malpighi tüpü hücresinin apikal bölgesi	32
Şekil 4.3. Kontrol grubu <i>T. pityocampa</i> larvalarının Malpighi tüplerinin enine kesitinde esas Malpighi tüpü hücresinin bazal bölgesi	32
Şekil 4.4. Kontrol grubu <i>T. pityocampa</i> larvalarının Malpighi tüplerinin enine kesitinde satellit hücre ve esas Malpighi hücresinin görünüşü	33
Şekil 4.5. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>Bacillus thuringiensis kurstaki</i> (<i>B.t.k.</i>) verildikten 1 saat sonra Malpighi tüpü hücresi	34
Şekil 4.6. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 3 saat sonra Malpighi tüpü hücresinde hafif şişme	34
Şekil 4.7. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 6 saat sonra Malpighi tüpü hücresinde gözlenen hafif şişme.....	35
Şekil 4.8. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 6 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin mikrovilluslarında şişme.....	35
Şekil 4.9. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 12 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin mitokondrilerinde şişme ve kristallerinde kırılma.....	36
Şekil 4.10. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 12 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin mikrovilluslarında şişme.	37
Şekil 4.11. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 24 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin mitokondrilerinde şişme bazal sitoplazmasında erime ve bazal zar katlanmalarında kaybolma.	38

Şekil 4.12. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 24 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin çekirdek plazmasında erime mitokondrilerde şişme ve kristalarda kırılma.....	38
Şekil 4.13. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 24 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin mikrovilluslarında ve mitokondrilerinde şişme.....	39
Şekil 4.14. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 48 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin sitoplazmasında vakuoller mikrovilluslarında kısalma ve içlerindeki mitokondrilerde azalma.	40
Şekil 4.15. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 48 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin mitokondrilerinde şişme ve kristalarında kırılma.....	40
Şekil 4.16. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 60 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin mitokondrilerinde şişme ve bunların meydana getirdiği vakuoller	41
Şekil 4.17. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 60 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin sitoplazmasındaki vakuoller ve çekirdek plazmasında erimeler	42
Şekil 4.18. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 4 gün sonra Malpighi tüpü hücrelerinin sitoplazmasındaki otofajik vakuoller.....	43
Şekil 4.19. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 4 gün sonra Malpighi tüpü hücresinin sitoplazmasında bulunan mitokondrilerde şişme ve kristalarında kırılma.....	43
Şekil 4.20. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 4 gün sonra Malpighi tüpü hücresinin sitoplazmasında halkasal dizilmiş granüllü endoplazmik retikulumlar ve bazı bölgelerindeki erimeler.....	44
Şekil 4.21. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 4 gün sonra Malpighi tüpü hücrelerinin mikrovilluslarında düzensizleşme, mitokondrilerinde vakuolleşme	44
Şekil 4.22. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 4 gün sonra Malpighi tüpü hücresinde aşırı şişme, mikrovilluslarında kısalma ve kaybolma, sitoplazmada büyük çaplı vakuoller.....	45
Şekil 4.23. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 4 gün sonra Malpighi tüplerinde bulunan satellit hücresinin bazal zar katlanmalarında düzensizleşme ve genişleme.....	45

1. GİRİŞ

Orman ekosistemi yeryüzünün en önemli ekosistemlerinden biridir. Erozyon, sel, yangın gibi doğal afetlerle kaybolan ormanların yerine yenisini koymak çok uzun yıllar almakta ve çok büyük maliyet gerektirmektedir. Bu sebeple orman varlığının çok ciddi bir şekilde korunması ve gerekli tedbirlerin alınması gerekmektedir.

Ormanlar için tehlike arz eden biyotik faktörlerden biri de zararlı böceklerdir. Bu böcekler özellikle larval dönemde orman ağaçlarının yapraklarını yiyerek ağaçların kurumasına sebep olmaktadır.

Zararlı böceklerin olumsuz etkileri aynı zamanda tarım alanlarında da görülmektedir. Geçmişte bir tarım ülkesi olan Türkiye son yıllarda sanayi toplumu olma yolunda önemli adımlar atmıştır ve bu arada tarım ikinci plana itilmiştir. Böylece bugün ülkemiz bir çok tarım ürününü yurt dışından ithal eder duruma gelmiştir. Bunun en önemli nedenlerinden biri azalmakta olan tarım alanlarındaki verimi artıramamaktır. Tarım alanlarından elde edilen ürünün miktarını arttırmak için iyi bir tohum ve iyi bir toprağa gerek olduğu kadar ürüne zarar veren canlılarla mücadele etmek de gereklidir.

Böcekler birçok hastalık etmenlerini taşımak suretiyle (vektörler) insan ve hayvan sağlığı açısından tehdit oluşturmaktadır. Vektörler tarafından taşınan hastalıkların başında sıtma, tifüs, sarı humma, beyin iltihabı gibi hastalıklar gelir. Bu hastalıkları taşıyan böceklerin çoğu buldukları ortamlara adapte olabilmektedirler. Özellikle karasinek ve sivrisinek gibi bazı Dipter türleri bataklık, sazlık, göl ve deniz kenarlarında oldukça fazla görülmekte ve bu bölgelerde sağlık açısından tehlike oluşturmaktadır.

Modern ziraatta söz konusu zararlı canlıları kontrol etmek için geniş ölçüde kimyasal maddelerden yapılmış olan ve pestisit adı verilen kimyasal insektisitler kullanılmaktadır. Kimyasal insektisitler kullanılmaları ile gerek halk sağlığı gerekse orman varlığının ve tarım ürünlerinin korunması bakımından fayda sağlamaktadır.

Diğer bir yönden kimyasal mücadelede kullanılan insektisitler hedef canlılar dışındaki canlıları da etkilemektedir. Örneğin çiçekler arasındaki tozlaşma mekanizmasında rol alan faydalı böceklerin, bal arılarının ve kuşların ölümüne neden olabilmektedirler. Doğrudan ya da dolaylı olarak besin zinciri vasıtasıyla insanlara kadar ulaşarak zehirlenmelere sebebiyet verebilmektedirler. Geniş alanlarda uygulanan kimyasal insektisitler uygulandıkları bölgelerde toprağı kirlettikleri gibi yağışlarla yıkanarak yeraltı ve yerüstü su kaynaklarına taşınmakta, balık türlerini ve diğer su ürünlerini etkilemektedirler. Ayrıca kullanıldıkları alanlardaki bitkilerin çimlenme vejetasyonları ve üremesi üzerinde de olumsuz etkilere neden olmaktadır.

Kimyasal insektisitlere karşı belirli bir süre sonra zararlıların bağışıklık sisteminde direnç oluşmaktadır. Sivrisineklere karşı yapılan kimyasal mücadele sonunda *Culex tarsalis* organofosforlu insektisitlere karşı direnç göstermiştir (Apperson and Georghiou, 1975). Aynı şekilde *Culex* türlerine karşı yapılan kimyasal mücadele sonunda klorluhidrokarbonlar, sentetik pretroidler ve karbamatlı insektisitlere karşı direnç olduğu açıklanmıştır (Shrivastava et al., 1970; Priester and Georghiou, 1978; Salama et al., 1984).

Özellikle zirai mücadelede kullanılan pestisitler memeliler dolayısıyla insanlar için de toksik etkilere neden olmaktadır.

Zeren ve ark. (1998), yaptıkları bir çalışmada İçel ilindeki tarımsal alanda çalışan kişilerin kan plazmalarında kolinesteraz aktivite değişimini araştırmışlardır. Örnekler sera ve bahçe tarımı ile bizzat uğraşanlar, zirai ilaç satan kişiler, bunları tüketenler ve tüm gün serada çalışanlardan oluşturulmuştur. Sonuçta pestisite maruz kalan kişilerin plazmalarındaki kolinesteraz düzeylerinde %24.71 oranında düşüş tespit edilmiştir.

Suwalsky ve ark. (1999), yaptıkları bir çalışmada heksaklorobenzenli pestisitlerin insan eritrosit membranında neden olduğu değişiklikleri incelenmişlerdir. Heksaklorobenzen lipofilik karakterdedir ve yaşayan organizmalarla etkileşimi sonucu lipit yönünden zengin olan hücre zarlarını hedef almaktadır. Araştırmacıların

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile yaptıkları çalışmalarda heksaklorobenzene maruz kalan insanların eritrositlerinin normal bikonkav disk şeklini kaybettiği ve kadeh şeklini aldığını görülmüştür.

Çeşitli organofosforlu pestisitlerin mutajenik etkileri farklı test sistemlerindeki başarılı çalışmalar sonucu rapor edilmiştir (Garry et al., 1990; Nurzhanova et al., 1994). Araştırmacılar ziraat işçileri üzerine yapılan epidemiyolojik çalışmalarla lösemi (Ciconne et al., 1993; Faustini et al., 1993), mesane kanseri (Viel and Challier, 1995), Hodgk'in olmayan lenfoma (Sbrana and Musio; 1995), renal hücre kanseri (Schlehofer et al., 1995), beyin tümörleri (Heineman et al., 1995), mide ve deri kanserleri (Faustini et al., 1993) gibi kanserlerin tekrarlanma oranlarının daha yüksek olduğunu açıklamışlardır. Çeşitli çalışmalar yüksek ve daha aşağı organizmalara organofosforlu pestisitlerin karsinojenik etkilerini göstermiştir (Millikan et al., 1995; Sbrana and Musio, 1995).

Bonamonte ve ark. (2001), organofosforlu insektisitlerden chlorpyrifos metil, fenthion, methidation ve dinitrocresolün kontakt dermatite sebep olduğunu açıklamışlardır. Son yıllarda önlem alınmadan, koruyucu elbise ve eldiven giymeden sık sık pestisitleri kullanan tarım işçilerinin ellerinde, kollarında ve yüzlerinde lezyonların oluştuğu tespit edilmiştir

Bu sebeplerden dolayı bahsi geçen zararlılara karşı kimyasal insektisitlerin yerini alabilecek alternatif mücadele yöntemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Günümüzde kimyasal mücadelenin yerini alabilecek yöntemlerden biri de biyolojik mücadeledir. Biyolojik mücadelede kullanılan ajanlar yalnızca hedef canlıya yöneliktir. Kimyasal insektisitler gibi ortamda birikip toksisite oluşturmazlar. Bir çoğu insanda patojen olmadığı için ve herşeyden önce çevreyi kirletmediği için tercih edilmektedir. Biyolojik mücadelede zararlı canlılara karşı mikrobiyal insektisitler, parazitler ya da predatörler kullanılabilir.

Biyolojik mücadelede en çok kullanılan metodlardan biri de mikrobiyal insektisitlerdir. Mikrobiyal insektisitler içinde en çok kullanılan grup ise *Bacillus*

cinsi bakterilerdir. Mikrobiyal insektisitler üretimlerinin kolay ve sürekli olması, sadece hedef canlıya yönelik olması, zararlının kontrolünde güvenilir olması, endosporlarının çevrede birikmemesi ve böylece çevre kirliliğine sebep olmaması bakımından tercih edilmektedir (Smith, 1973; Anonymous, 1984).

Biyolojik mücadelede bakterilerin yanısıra virüsler ve nematodlar da kullanılmaktadır. Araştırmacılar tarım ve orman zararlılarına ve hastalık taşıyıcı vektörlere karşı entomopatojen nematodların etkilerini incelemişler ve zararlılara karşı bazı nematod türlerinin de kontrol ajanı olarak kullanılabileceğini açıklamışlardır (Tomalak et al., 1989). Tomalak ve ark. (1989), bir nematod türü olan *Aphelenchoides* sp.'nin, kabuk böceği (*Pityokteines sparsus*) (Coleoptera: Scolytidae) larva ve erginlerinin Malpighi tüpçükleri üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Yalnızca bir ya da birkaç nematod bulunduğu zaman dokularda kısmen etki görülürken, ekstrem durumlarda epitelin tamamıyla bozulduğu görülmüştür. Sonuçta *Aphelenchoides* sp.'nin kabuk böceklerinde doğru parazit olduğunu ve konukçunun dokularında ciddi patolojik değişikliklere ve ölüme sebebiyet verebileceğini açıklamışlardır.

Entomopatojen virüslerin biyolojik kontrol ajanı olarak tarım ve orman zararlılarına ve vektörlere karşı etkileri araştırılmıştır. Watanabe ve Kobayashi (1970), Gronülozis virüsü ile enfekte olan beyaz ağ kurdu (*Hyphantria cunea*) larvalarının yağ dokusu hücrelerinde çekirdek hipertrofisi ve mitotik hücrelerde çoğalma meydana geldiğini gözlemişlerdir.

Federici ve Lowe (1972), *Aedes trisatius* larvalarında Baculovirusun patolojisini çalışmışlardır. Baculovirusun çekum ve orta bağırsak epitelinde enfeksiyona sebep olduğunu açıklamışlardır.

Hunter ve ark. (1973), Nükleer Polyhderosis Virüsü (NPV) ile muamele edilen *Tineola bisselliella* larvalarının orta bağırsak epitelinde, Malpighi tüpçüklerinde, trake, yağ dokusu, ventral sinir kordunun gangliyonlarında ve hipodermisinde enfeksiyon oluşturduğunu bildirmişlerdir. Sonuçta bu zararlılara karşı virüslerin de

kullanılabileceği açıklanmıştır (Federici and Stern, 1990; Bong and Sikorowski, 1991). Federici ve Stern (1990), entomopatojen virüslerle yaptıkları bir çalışmada *Harrisina brillans* (Lepidoptera: Zygaenidae)'ın larva ve erginlerine virüsleri vermişler ve larva ve erginlerin orta bağırsaklarındaki etkiyi incelemişlerdir. Araştırmacılar hücrelerin hipertrofiye uğradıklarını göstermişler ve orta bağırsak epitel hücrelerinin mikrovilluslarında, bazal zarlarında, çekirdeklerinde ayrıca goblet hücrelerinde hasarların meydana geldiğini ve bağırsak lümeninde çok sayıda granülün bulunduğunu ifade etmişlerdir.

Bong ve Sikorowski (1991), mısır başak kurdu (*Helicoverpa zea*) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae), larva orta bağırsağı üzerine polyhedrosis virüsünün (CPV) histopatolojik etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak orta bağırsağın silindirik epitel hücrelerinde muameleden 1-2 gün sonra, goblet hücrelerinde ise enfeksiyondan 5 gün sonra virüslerin varlığı geçirmeli elektron mikroskobu (TEM) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Virüs enfeksiyonu sonucu mitokondrilerde, mikrovilluslarda ve granüllü endoplazmik retikulumlarda hasarlar meydana geldiği, enfekte olmuş çoğu hücrenin çekirdeğinin belirsizleştiği açıklanmıştır.

Tarım ve orman alanlarında zarara sebep olan ayrıca çeşitli hastalıkları taşıyarak sağlık açısından da tehdit oluşturan zararlılara karşı, entomopatojen virüslerin, bakteriyel ajanlar içinde önemli yeri olan *Bacillus* grubu bakterilerle kombinasyonları kullanılmıştır.

Ülkemizde yapılan bir araştırmada yeşil kurt (*Heliothis armigera*) Hbn. (Lepidoptera: Noctuidae) larvalarına karşı *Heliothis Nükleer Polyhedroz Virüsü* ve *B. thuringiensis* etkisi incelenmiştir. Buna göre araştırmacılar yalnızca *Heliothis NPV* verilmiş *H. armigera* larvalarında 8. günde ölüm meydana geldiğini gözlemişlerdir. *B. thuringiensis* verilmiş larvalarda ise 42. günde %100 ölüm, *Heliothis NPV* ve *B. thuringiensis* kombinasyonunun verildiği larvalarda ise 17. günde %100 ölüm elde etmişlerdir. Aynı zamanda araştırmacılar enfeksiyonun ileri dönemlerinde ve özellikle

ölümden bir gün önce larvaların boylarında kayda değer ölçüde kısalma olduğunu ifade etmişlerdir (Erkin ve Ayvaz, 1986).

Yaman ve ark. (1999), *Balaninus nucum* (Coleoptera: Curculionidae) ve altın kışkı kelebek (*Euproctis chrysorrhoea*) (Lepidoptera: Lymantriidae) 'a karşı daha etkili ve güvenli bir pestisit bulmak için bu zararlılara karşı *Autographa californica Nuclear Polyhedrosis Virus (AcNPV)*, *Lymantra dispar Nuclear Polyhedrosis Virus (LdNPV)* ve *Harry Dumagae*'den izole edilen toksin (*HD-1*) ve *B. thuringiensis*'in *tenebrionis* suşları (*BTS-1*)'i kullanmışlardır. Sonuç olarak *B. nucum* larvalarına karşı özellikle *BTS-1*'in biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilirliğini ve *E. chrysorrhoea* larvalarına karşı kontrol ajanı olarak *HD-1*'in kullanılabilirliğini ifade etmişlerdir.

Entomopatojen virüslerin biyolojik mücadelede kullanılmasıyla başarılı sonuçlar elde edilmiş olmasına rağmen bu virüslerin doğal koşullarda, ileriki yıllarda kontrol altına alınmasının zor olabileceği düşünülerek aynı zamanda üretimlerinin de daha zor ve masraflı olmasından dolayı bu ajanların biyolojik mücadelede kullanımı kısıtlanmıştır. Bu sebeplerden dolayı entomopatojen bakteriler mücadele için tercih edilmektedir

MacGown ve Sikorowski (1980), yaptıkları bir araştırmada *Anthonomus grandis grandis* (Curculionidae)'in *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus* sp. ile kontaminasyonu ve irridasyonu ile enfekte olmuş dokularda birkaç gün içinde bozulma görülmüş ve *A. grandis grandis*'in orta bağırsağında meydana gelen hasarın erken ölümlere sebep olduğu açıklanmıştır.

Biyolojik mücadelede kullanılan entomopatojen bakterilerin önemli bölümünü toprak bakterileri oluşturmaktadır. *Bacillus* grubu bakteriler bu grup içinde önemli bir yer tutmaktadır. Bu ajanlar özellikle Lepidoptera, Diptera ve Coleoptera takımlarına ait türleri hedef almaktadır (Burges, 1982; Aronson et al.,1986). Bu nedenle *Bacillus moritai*, *B. popilliae* ve *B. thuringiensis*'in değişik suşları preparat haline getirilip satılmaktadır. *B. moritai*'nin toksik maddesi piyasada Robirusu, *B. popilliae*'nin

toksik maddesi ise piyasada Doom ve Japidemic ticari ismi ile bilinmektedir. *B. thuringiensis* bakterisi iki tür toksik madde içermektedir. Birinci toksik madde Beta (β) eksotoksin olup ticari ismi Biotoxksbacillin, Eksotoksin ve Toxobakterindir. İkinci toksin ise endotoksin olup bu da yaklaşık 15 isimle piyasada bulunmaktadır. Bunlardan bazıları Agritol, Bactospeine, Bakthane, Dipel ve Thuricidae'dir (Kalender ve ark., 1999). β eksotoksin bazı memeliler için az da olsa patojenik etki gösterdiği için tercih edilmemektedir. Hatta bazı ülkelerde kullanımı yasaklanmıştır (Quinlan and Lisansky, 1983; Beegle and Yamamoto, 1992). Günümüzde insektisit olarak *B. thuringiensis*'in iki alt türü çok fazla kullanılmaktadır. *B. thuringiensis israelensis* özellikle sivrisineklere karşı, *B. thuringiensis kurstaki* ise lepidopterlere karşı toksik etki göstermektedir (Lacey, 1985; Kalender ve Kalender, 1997). Son zamanlarda yapılan çalışmalarla *B. thuringiensis tenebrionis*'in de koleopterlere etkili olduğu tespit edilmiştir (Beegle and Yamamoto, 1992). Bunlardan başka *B. thuringiensis*'in böcek mücadelesinde kullanılan birçok alttürü vardır. Bunlardan *aziawai*, *alesti*, *canadensis*, *dakota*, *galleria*, *entomocidus*, *japonensis*, *kenyae*, *morrisoni*, *moritai*, *popilliae*, *tenebrionis*, *thompsoni* sayılabilir (Kalender ve ark., 1999). *B. thuringiensis*, ilk olarak 1915'te hastalıklı un güvesi (*Ephestia kuhniella*) larvalarından Berliner tarafından izole edilmiş ve araştırmacı yaptığı deneyler sonucunda *B. thuringiensis*'in larva midesinde enfeksiyon meydana getirdiğini ve bağırsak bölgesinde geliştiğini göstermiştir (Steinhaus, 1967).

Entomopatojen bakterilerin doğada uygulanmaları sırasında bakteriyel ajanların endosporlarının rüzgar, yağmur gibi fiziksel ve biyotik faktörlerle çok geniş sahalara yayılarak kontrol altına alınmasının güç olabileceği ve bunların insanlara kadar ulaşabileceği ihtimali düşünülerek bu ajanların memeliler üzerine etkileri hakkında çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Shaddock ve ark. (1980), fare, sıçan ve tavşanlara intraserebral, intraoküler ve intraperitoneal yollarla *B. sphaericus* ss-II-I, 1409 ve 1593 suşlarını yüksek dozlarda uygulamışlar ve deney hayvanlarında herhangi bir lezyon meydana gelmediğini ve deney süresince ölüm gözlenmediğini rapor etmişlerdir.

De Barjac ve ark. (1987), dişi farelere çeşitli yollarla *B. sphaericus* 2362, H-5a, 5b suşlarını uygulamış ve tüm akut toksisite testlerinde farelerin davranışlarının değişmediğini ve vücut ağırlığı, karaciğer, böbrek, dalak, kalp, akciğerler ve adrenal bezlerin ortalama ağırlığının kontrol grubu ile aynı olduğunu ve otopsi sonuçlarının normal olduğunu bildirmiştir.

Boşgelmez ve ark. (1989)'nın yaptıkları çalışmada lkemizden İçel topraklarından elde edilen *Bacillus sphaericus* 3302109 izolatı fare ve kobaylara subkutan, intraperitoneal, intravenöz, perkutan, inhalasyon, göz irritasyonu ve oral yol olmak üzere çeşitli yollarla verilmiş ve herbir inokulasyonda 2×10^8 bakteri/ml stok solusyonu kullanılmıştır. Nekroskopi işlemleri yapıldıktan sonra hayvanların karaciğer, dalak, beyin, böbrek, adrenal bez ve mideleri alınarak tartılmış ve kontrol grubu hayvanları ile kıyaslanmıştır. Sonuçta enfekte olmuş hayvanların davranışlarının, beslenmelerinin, vücut ve organların ağırlığının normal olduğu görölmüştür ve söz konusu bakterilerin memeliler için emniyetli olduğu açıklanmıştır. Yine aynı laboratuvar çalışmaları esnasında bakterilerin fare böbrek dokusu ve karaciğer dokusuna etkisi incelenmiş ve sonuçta ve herhangi bir histopatolojik etkiye rastlanmadığı bildirilmiştir (Kalender 1996a; Bozkurt, 1990).

Kalender (1996a), *Mus musculus* böbrek dokusuna *B. thuringiensis* var. *israelensis*'in histolojik etkisini araştırmıştır. Bakterileri farelere subkutan, intraperitoneal, oral, perkutan, inhalasyon, intravenöz ve göz irritasyonu olmak üzere yedi farklı yoldan uygulamış ve her bir inokulasyonda yaklaşık 2×10^8 bakteri/ml kullanmıştır. Kontrol gruplarına ise aynı şekilde distile su verilmiştir. Erkek ve dişi fareler bakteri uygulamasından 1-3 ay sonra kesilerek böbrek dokuları alınıp, histolojik preparasyon işlemlerinden sonra daimi preparat haline getirilmiş ve ışık mikroskobunda incelenmiştir. Kontrol grubu farelerle mukayeseli olarak incelenen böbrek dokularında herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmadığı açıklanmıştır.

Mikrobiyal insektisitler içinde önemli bir yeri olan *Bacillus* grubu bakterilerin gerek tarım ve orman zararlılarına, gerekse hastalık taşıyıcı vektörlere karşı etkisini araştıran pek çok çalışma yapılmıştır.

Sutter ve Raun (1967), *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* parasporal kristalleri ile beslenen mısır güvesi (*Ostrinia nubilalis*) larvalarında meydana gelen değişiklikleri incelemişlerdir. Larvaların orta bağırsak epitel hücrelerinin lümen içine atıldığı ve bazal membran açıklıklarına vejetatif bakterilerin hücum ettiği, kristallerin bağırsak paralizine sebep olduğu, orta bağırsak epitelinin düzensizleştiği belirtilmiştir. Hemolenf ile bağırsak içerikleri karıştığı zaman larvaların öldüğü ifade edilmiştir. Orta bağırsak epitelinde görülen genel vakuolleşmenin goblet hücrelerinin mikrovilluslarında oluşan bozulmadan kaynaklandığı, hastalıklı epitelde lipit şekilli inklüzyonlar ve endoplazmik retikulum olmadığı, orta bağırsağın hastalıklı epitel hücrelerinde globüler sitoplazmanın görülmüş olduğu ve larvaların tüm larval devrelerde tepki verdiği açıklanmıştır.

Fast ve Donaghue (1971), *B. thuringiensis* δ -endotoksin ile muamele edilen ipek böceği (*Bombyx mori*) larvalarında, muameleden 1 dakika sonra δ -endotoksinin hızlı bir şekilde glukoz yükselmesini teşvik ettiğini, aminoasitlerin ve karbonat iyonlarının benzer şekilde teşvik edilmediğini ve muameleden sonra 10-20 dakika arasında bağırsak epitelinde genel metabolik bozulma meydana geldiğini gözlemişlerdir.

Skatulla (1971), *B. thuringiensis* eksotoksin içerikleri ile muamele edilen *Bupalus piniarius* (L) (Lepidoptera: Geometridae) larvalarında muameleden 20 gün sonra %100 oranında ölüm gözlemlemiştir. Ekzotoksin 2 gün içinde ölen larvaların turgorunda bir azalmaya sebep olmuştur. Herhangi bir teratolojik etki görülmemiştir. Toksinin uygulanmasında sonra pupal ağırlıkta azalma meydana gelmiştir. Çalışmalar sırasında *Bupalus* larvalarının *B. thuringiensis*'e olan hassasiyetlerini etkileyen faktörlerin yaş, direnç, populasyonun lokalitesi, fizyolojik yapı ve gelişim evresi olduğu açıklanmıştır. *Bupalus* larvalarının bağırsakları içinde *Bacillus* sporlarının multiplikasyonu ve germinasyonu görülmemiştir.

Lüthy (1973), büyük lahana kelebeği (*Pieris brassicae*) larvalarının orta bağırsakları üzerinde *B. thuringiensis* δ -endotoksininin sebep olduğu histolojik değişiklikleri gözlemiştir. İlk olarak endotoksin içeren bağırsak sıvısı dışardan uygulanmış ve ilk etkiler 5 dakika içinde görülmüştür ve bağırsak dokusunda yıkım olduğu tespit

edilmiştir. İkinci denemede endotoksinli bağırsak sıvısı bağırsak dokusuna iç köşeden uygulanmıştır ve 10-20 dakika sonra silindirik epitel hücrelerinde hızlı bir genişlemenin olduğu, küre şeklinde kabarcıklar olduğu ve 40 dakika sonra tüm dokunun bozulduğu açıklanmıştır.

Ali ve ark. (1973), büyük balmum güvesi (*Galleria mellonella*) larvalarına oral yoldan uygulanan *B. thuringiensis* (Thuricide-HP)'in larvaların orta bağırsağı üzerine olan histopatolojik etkilerini çalışmışlardır. 3. evre larvaların LC₅₀ doz ile 24 saat muamelesinden sonra epitel hücrelerinde bazal membrandan ayrılma ve uzama olduğu, 48 saat sonra ise orta bağırsakta bozulma, aşınma olduğu ve bazal membrandan tamamen ayrıldığı not edilmiştir, LC₉₀ doz ile muamelede orta bağırsaktaki etki daha hızlı ve açık bir şekilde görülmüştür. Epitel hücrelerinde uzamanın, bazal membrandan ayrılmanın arttığı ve epitel hücrelerinin lümen içine çözüldüğü ve bu sebepten bağırsak lümeninin büyük oranda atılan epitel hücreleri ile dolu olduğu bildirilmiştir. 5. evre larvaların bakterinin LC₅₀ konsantrasyonu ile muamelesinden 24 saat sonra bazı epitel hücrelerinin uzadığı, bazal membrandan ayrıldığı ve bağırsak lümeni içine atıldığı gözlenmiş, 48 saat sonra epitel hücrelerinin hepsinin tamamen ayrılmış olduğu ve lümenin tamamen epitel hücreleri ile dolu olduğu görülmüştür.

Wasti ve ark. (1973), yaptıkları bir çalışmada iki sinek türü, *Orthellia caesarion* ve *Phormia regina*'ya karşı *B. thuringiensis* β-eksotoksinini 2.5-100 ppm'e kadar çeşitli dozlarda uygulamışlar ve *O. caesarion* için LD₅₀ 8.65 ppm ve *P. regina* için ise 22.9 ppm olarak tespit edilmiştir. Aynı zamanda bazı pupal deformasyonlar da kaydedilmiştir.

Atwa ve Abdel-Rahman (1974), *B. thuringiensis* ile oral yoldan muamele edilen lahana kelebeği (*Pieris rapae*) larvalarının vücut organları ve organ sistemlerindeki farklı dokularda meydana gelen histopatolojik değişiklikleri incelemişlerdir. Orta bağırsak, yağ doku, Malpighi tüpleri, kas doku, sinir doku, ve kan hücrelerindeki semptomlar açıkça görülmüştür. Enfeksiyondan 12 saat sonra orta bağırsak epitel hücrelerinde düzensizlik, 18 saat sonra epitel hücrelerinde membrandan ayrılma ve

bozulma açığa çıkmıştır. Epitelyumun bozulduğu bölgede maruz kalmış bağırsak kaslarının yakınında kan hücrelerinin birikmiş olduğu, enfeksiyonunun ilerlemesiyle epitel tabakalarında ayrılma meydana geldiği ve orta bağırsak duvarındaki hasarın artmış olduğu belirlenmiştir. Bağırsak kaslarının dejenere olduğu ve epitelden ayrıldığı tespit edilmiştir. Ölümden hemen önce tüm bu dokularda bozulma ve ayrılmanın meydana geldiği, enfekte olmuş larvaların yağ dokularındaki hücrelerin birinin diğerinden ayrıldığı, stoplazmanın azaldığı hücre membranlarının düzgün şeklinin kaybolduğu, şerit şekilli yapıların görüldüğü ve ölümden önce yağ dokusunun da bir parça düzensizleştiği ifade edilmiştir. Bakteriyel enfeksiyonlu larvaların Malpighi tüpçüklerinde malformasyonlar görülmüştür. Tübül hücreleri bozulmuş ve çekirdekleri dejenere olmuştur. Ayrıca sitoplazmanın uzadığına da dikkat çekilmiştir. Aynı şekilde çeşitli kan hücrelerinde, kas hücrelerinde ve sinir hücrelerinde de düzensizlik ve hasar görüldüğü belirtilmiştir.

Travers ve ark. (1976), *B. thuringiensis* var. *kurstaki* δ -endotoksininin *Bombyx mori*'nin orta bağırsak epitelinden izole edilen mitokondriler üzerine etkisini incelemişler ve toksinin faaliyetinin ATP üretiminde düşüşe sebep olduğunu bunun sonucu olarakta metabolik dengenin bozulduğunu açıklamışlardır.

Lynch ve ark.(1977), Avrupa buğday delicilerinin (*Ostrinia nubilalis*) (Lepidoptera: Pyralidae) kontrolünde en etkili formülasyonu belirlemek için *B. thuringiensis* Berliner (Thuricidae)'in granüler %5.6, %11.25 ve %22.5'lik konsantrasyonlarını karşılaştırmışlardır. %22.5 konsantrasyonun %11.25 konsantrasyondan kontrol için daha etkili olduğunu ve Thuricidae ve Dipel'in sprey ve granüler formülasyonları arasından granüler formülasyonun, *O. nubilalis* için daha etkili olduğunu açıklamışlardır.

B. thuringiensis var. *israelensis* spor ve kristalleri hassas bir böcek tarafından yendiği zaman ağız parçaları ve bağırsak etkisiz hale gelmekte ve bağırsak epitel dokusu tahrip olmaktadır. Zararlı ise verilen doza göre birkaç saat veya en geç 3 hafta içinde ölmektedir. Bu mikrobiyal böcek ilacı bir besine karıştırılıp böcek tarafından yendiği

zaman yalnızca zararlıyı etkilediği ve ters bir faaliyet göstermediği de araştırmacılar tarafından kaydedilmiştir (Anonymous, 1979; De Barjac, 1979).

Garcia ve Dersrochers (1979), *Aedes sierensis* Ludlow ve *A. dorsalis* Meigen'e çeşitli dozlarda *B. thuringiensis* var. *israelensis* uygulamışlar ve 1×10^5 bakteri/mililitre doz uygulandığında %100 larva ölümü elde etmişlerdir.

Endo ve Nishiitsuji (1980), *Bombyx mori* larvalarına *B. thuringiensis* δ -endotoksinini uyguladıktan sonra orta bağırsakta bulunan silindirik epitel hücreleri ve goblet hücrelerinin ince yapısında meydana gelen değişiklikleri ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu ile incelemişlerdir. Araştırmacılar epitel ve goblet hücrelerinde şişmenin yanında zamana bağlı olarak çekirdek, granüllü endoplazmik retikulum ve mitokondrilerin şiştiğini, mikrovilluslarda kopmaların meydana geldiğini ve bazal zar katlanmalarının tamamen bozulduğunu, sitoplazmanın ise yoğunluğunu kaybettiğini tespit etmişlerdir.

Endo ve Nishiitsutsuji (1981), benzer bir çalışmalarında lahana kelebeği (*Pieris rapae*), meşe kelebeği (*Lymantria dispar*) ve incir güvesi (*Ephestia cautella*) larvalarına *B. thuringiensis* δ -endotoksinini enjekte ettikten sonra orta bağırsak epitelinin ince yapısını incelemişlerdir. *P.rapae* larvalarında bakteri enjeksiyonundan sonra zamana bağlı olarak orta bağırsak epitel hücrelerinde şişme, goblet hücrelerinin bazal zar katlanmalarında hasar, mikrovilluslarda, mitokondrilerde, endoplazmik retikulumlarda şişme tespit etmişlerdir ve sonuç olarak *L. dispar* ve *E. Cautella*'nın goblet hücrelerinin bozulduğunu belirtmişlerdir.

Lebrun ve Vlayen (1981), *Culex pipiens* ve *Anopheles stephensi* larvaları üzerinde test edilen *B. thuringiensis israelensis*'in (H-14) dikkate değer toksisite gösterdiğini gözlemlemişler ve bazı dipter türleri için spesifik kontrol ajanı olarak düşünülebileceğini ve bu bakterinin diğer organizmaları etkilemediğini ifade etmişlerdir.

Mück ve ark. (1981), *B. thuringiensis* var. *kurstaki*'nin *Apanteles glomeratus*, *Pimpla turionellae* (Hymenoptera) üzerine yan etkisini laboratuvar koşullarında test etmişlerdir. Dipel 10^7 , 10^8 , 10^9 spor/mililitre konsantrasyonlarında oral olarak uygulanmıştır. *A. glomeratus*'un 2 hafta içinde ölüm oranı özellikle son iki konsantrasyonda önemli derecede (%39 ve %100) artmıştır. 10^7 konsantrasyonda ölüm oranı 14 gün sonra %6, 18 gün sonra %43 olarak belirlenmiştir. *P. turionellae* *A. glomeratus*'a göre daha az etkilenmiştir. $10^7/10^8/10^9$ spor/ml dozlarının 18 gün uygulanmasından sonra ölüm oranı sırasıyla 13, 18, 26 olarak tespit edilmiştir. Dipel'in 10^9 spor/ml oranında muamelesinden sonra orta bağırsak epitelyumunda hasara sebep olmuştur.

Klowden ve ark. (1983), yaptıkları bir çalışmada *B. thuringiensis* var. *israelensis* parasporal kristallerini ergin *Aedes aegypti* dişilerinin orta bağırsaklarına enjekte etmişler ve bakterinin parasporal kristalleri tarafından zararlının öldürüldüğü gözlemişlerdir.

Lahkim-Tsrör ve ark. (1983), sivrisineklere *B. thuringiensis* uyguladıktan sonra sindirim sistemini incelemişler ve yüksek konsantrasyonlarda 6 dakika gibi kısa bir süre içinde, düşük konsantrasyonlarda ise 24 saat sonunda hücrelerin şiştiğini ve sonuçta ölüm meydana geldiğini göstermişlerdir.

De Lello ve ark. (1984), *B. thuringiensis*'in tütün zararlısı olan *Manduca sexta* larvalarının orta bağırsağında neden olduğu histopatolojik değişiklikleri incelemişlerdir. Orta bağırsaktaki epitel ve goblet hücrelerinin aşırı derecede şiştiğini ve çeşitli histopatolojik etkilere sebep olduğunu rapor etmişlerdir.

Salama ve ark. (1984), yaprak kurdu (*Spodoptera littoralis*) (Lepidoptera: Noctuidae) üzerine kimyasal insektisitler ve *B. thuringiensis*'in kombinasyonunun etkisini incelemişler ve *S. littoralis*'in kontrol edilmesi için *B. thuringiensis* ile pretroitlerin kombinasyonunun güvenli ve etkili bir araç olabileceğini önermişlerdir.

Bağcı ve Kence (1985), yaptıkları bir çalışmada *B. thuringiensis* var. *kurstaki* ve *B. thuringiensis* var. *israelensis*'ten üretilen δ -endotoksin ile *B. thuringiensis*'in varyetelerinden *kenyae*, *tolworthi*, *darmstadiensis*, *morrisoni* ve *thuringiensis*'ten elde edilen β eksotoksini 4 farklı karasinek türünde denenmiş ve β eksotoksininin konsantrasyonu arttıkça ölüm oranının arttığı kaydedilmiştir. En etkili varyetenin *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* olduğu ve bir kimyasal insektisit olan malathiona dirençli karasinek türlerinin β -eksotoksine çok duyarlı olduğu bildirilmiştir. *B. thuringiensis* var. *israelensis* tarafından üretilen δ -endotoksininin karasineklere etkili olduğu *B. thuringiensis* var. *kurstaki* toksininin ise etkilemediği gösterilmiştir.

Spies ve Spence (1985), *Manduca sexta* güvelerinin orta bağırsakları üzerine *B. thuringiensis* kristal endotoksinlerinin sublethal dozdaki etkisini incelemişlerdir. Evvela silindirik epitel hücreleri ve goblet hücrelerinde şişmenin meydana geldiğini, goblet ve silindirik hücrelerin mikrovilluslarında sayıca azalma ve kısalma görüldüğünü, hücrelerin membranından kopmalar olduğunu, ilerleyen evrelerde silindirik epitel hücrelerinin sitoplazmasında vakuolleşmeler olduğunu ve akut fazı takiben orta bağırsak dokusunun iyileştiğini ifade etmişlerdir.

Singh ve ark. (1986a), *B. thuringiensis* var. *israelensis* ile muamele edilen *Aedes aegypti* larvalarının orta bağırsağını incelemişlerdir. Bakteriyi yiyen larvalarda ilk 1 saat içinde beslenmenin kesildiğini, 2. saatte hareketlerin azaldığını, 4. saatte larvaların iyice ağırlaştığını ve 6. saatte vücudun genelini paralize olduğunu belirtmişlerdir. Yine muameleden 6 saat sonra peritrofik membranda kopmalar ve bazal laminada kırılma sonucu hemosol ve bağırsak lümeni arasında açılan kanallar gözlenmiştir. Araştırmacılar beslenmenin kesilmesiyle birlikte orta bağırsak epitel hücrelerinde şişme, organellerde hasar, mikrovilluslarda bozulmalar olduğunu, sitoplazmada boşluklar oluştuğunu, bağırsağın boyuna ve enine kaslarında hasarlar meydana geldiğini gözlemlemişlerdir.

Singh ve ark. (1986b), yaptıkları başka bir çalışmada da *B. thuringiensis* var. *israelensis*'in *A. aegypti* larvaları üzerine etkisini incelemişlerdir. Bakteri ile muamele edilen larvaların iskelet kası hücrelerinde şişmeler, plazma membranlarında

ve mitokondrilerinde hasar meydana gelmiştir. Zamanla hasar kas hücrelerindeki A ve I bandına yayılmış aynı zamanda miyoepidermal hücrelerde bozulmuştur. Zehirin ilerlemesiyle oluşan tembellik ve genel vücut paralizi ile iskelet kas sistemindeki lezyonların görünümü ve yoğunluğunun uyumlu olduğu ve bununla birlikte yavaş yavaş sindirim sistemlerinin de bozulduğu ortaya çıkmıştır.

Singh ve ark. (1986c)'nin yaptıkları diğer bir çalışmada ise *B. thuringiensis israelensis* δ -endotoksinin karasinek (*Musca domestica*) larvalarının sinir-kas sistemi üzerine etkisi incelenmiştir ve *B. thuringiensis israelensis* muamelesinden 5 dakika sonra mitokondrilerin hasar gördüğünü, 30 dakika sonra sinir-kas sisteminin oldukça tahrip olduğunu, zehirin ilerlemesiyle sayısı ve büyüklüğü artan vakuollerin oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Sinir-kas sistemindeki komponentlerin, sinir uçları, kas ve epidermal hücrelerin toksik etkiye daha çok duyarlı olduğunu ifade etmişlerdir.

Matur ve Ceber (1988), *B. thuringiensis* H-14'ü larvasidal ajan olarak laboratuvar şartlarında *Anopheles sacharavi* ve *Culex pipiens* uygulamışlardır ve her iki tür için ölüm oranlarını belirtmişlerdir

Mathavan ve ark. (1989), *B. thuringiensis israelensis*'in spor preparatı ile beslenen ipek böceği larvalarının orta bağırsak epitelindeki histopatolojik değişiklikleri incelemişlerdir. Toksinin peritrofik membranı ve epitel hücrelerini etkilediğini göstermişlerdir. Işık mikroskobu ve elektron mikroskobu ile epitel hücrelerinde hipertrofi, sitoplazma ve çekirdekte vakuolleşmeler, mikrovilluslarda bozulma, plazma membranında hasar, çekirdekte nekroz, sitoplazmik organellerde düzensizlikler olduğunu açıklamışlardır.

B. thuringiensis larva midesine girdikten 24 saat sonra etkili olmakta ve alınan bakterinin miktarına bağlı olarak ölümler meydana gelmektedir. Laboratuvar çalışmalarında *B. thuringiensis* ile enfekte olmuş pamuk çizgili yaprak kurdu (*Spodoptera exigua*) larvalarının hareketinde uyuşukluk, dokunulduğunda verilen tepkilerde azalma, iştahsızlık ve aynı zamanda hastalıklı larvaların ölüme doğru

renklerinde koyulaşma, küçülme ve vücutlarında bir yumuşama görülmüştür (Kornoşor ve Oyartı, 1989).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada araştırmacılar Denizli, Muğla, İskenderun ve İçel illerinden alınan su ve toprak örneklerinden elde ettikleri *B. thuringiensis*, *B. thuringiensis* var. *israelensis* ve *B. sphaericus* izolatlarını kullanmışlardır. Hedef canlı olarak mısır sivri sineği (*A. aegypti*) (L), *Anopheles sachovari* Fauri, *Culex tritaenirhynchus* Griles, *Musca domestica* L.'ya karşı uygulamışlardır. İzolatları hedef canlılara oral yoldan 15, 30, 40 mg/lt'lik dozlarda vermişler ve %70-100 arasında ölüm elde etmişlerdir (Çakmakçı vd., 1988).

Singh ve Gill (1988), *Culex quinquefasciatus* larvalarını *B. sphaericus* ile muamele etmişlerdir. Beslenmenin 4 saat sonra kesildiğini ve 36 saat sonra genel vücut paralizinin görüldüğünü ifade etmişlerdir. Araştırmacılar orta bağırsakta, merkezi sinir sisteminde (MSS), iskelet kaslarında çeşitli histopatolojik lezyonlar gözlemlemişlerdir. İlk olarak orta bağırsağın hücresel hasara uğradığını M.S.S. ve iskelet kaslarının zayıfladığını, daha sonra epitel hücrelerinin stoplazmalarında lizozomların sayı ve büyüklük bakımından arttığını ve 36 saatte epitel hücrelerinin tamamen bozulduğunu bu safhada sinir dokuda hasara uğramış mitokondriler ve lamelli cisimcikler bulunduğu ve iskelet kaslarında bozulmuş miyofibriller ve şişmiş mitokondriler içerdiğini açıklamışlardır. Ayrıca iskelet kasları arasında yapısal bağ olarak iş gören miyoepidermal hücrelerde ve kutikulda hasar olduğunu belirtmişlerdir.

Suludere ve ark. (1992), Türkiye'nin çeşitli yörelerinden topladıkları 6 *Bacillus sphaericus* ve 50 *B. thuringiensis* suşunun spor ve parasporal kristallerini elektron mikroskop metotları ile incelemişler ve insektisidal aktivite yoluyla kıyaslama yapmışlardır. *B. sphaericus* suşlarında parasporal kristaller bulunamamış, *B. thuringiensis* suşlarında bipramidal kristal, kübik kristal veya yuvarlak amorf yapılar birarada veya ayrı ayrı bulunmuş yada hiç bulunamamıştır. *B. sphaericus*'un tüm suşları mısır sivri sineği (*Aedes aegypti*) larvalarına toksik etki göstermiş, fakat un güvesi (*Ephestia kuehniella*) larvalarını etkilememiştir. Aksine *B. thuringiensis*'in

bazı suşları *A. aegypti* ve *E. kuehniella* larvalarını öldürmüştür, bazı suşlar ise *A. aegypti* ve *E. kuehniella*, her iki türün larvalarına da etkili olmamıştır.

Kalender (1995), *B. thuringiensis* var. *kurstaki*'nin toprak kurdu (*Agrotis segetum*) (Lep.: Noctuidae) larvalarının sindirim sisteminin ileum bölgesine etkisini incelemiştir. Mililitrede 1.85×10^5 bakteri bulunan solusyondan, 4. evre larvaların hemosölüne 5 mikrolitre enjekte etmiş ve bakteri muamelesinden 12, 24 ve 48 saat sonra larvaların ileum bölgesini çıkararak TEM'de kontrol grubu ile kıyaslamıştır. Uygulamadan 12 saat sonra bazı epitel hücrelerinin nükleoplazmasında erimelerin meydana geldiğini, 24 saat sonra, epitel ve kas hücrelerinin mitokondrilerinde şişme ve sitoplazmalarında erimelerin görüldüğünü ifade etmiştir. Muameleden 48 saat sonra ise epitel hücrelerindeki sitoplazmik erimelerin büyüdüğünü ve kas hücrelerinin çekirdeklerinde şişmelerin olduğunu tespit etmiştir.

Kalender (1996b), *B. thuringiensis* *kurstaki*'nin toprak kurdu (*Agrotis segetum*) (Lep.: Noctuidae) larvalarının Malpighi tüplerindeki ürik asit metabolizmasındaki etkisini histokimyasal olarak incelemiştir. Mililitrede 1.85×10^5 bakteri bulunan solusyondan, 4. evre larvaların hemosölüne 5 mikrolitre enjekte etmiş ve muameleden 1, 3, 6, 12, 18, 24, 36 ve 48 saat sonra larvaların Malpighi tüplerini çıkartarak ışık mikroskobu ile kontrol grubu larvaların Malpighi tüpleri ile mukayese etmiştir. Muameleli larvaların Malpighi tüplerinde bulunan ürik asit miktarının yavaş yavaş azaldığını ve muameleden yaklaşık 44-50 saat sonra ölüm gözlemlendiğini belirtmiştir.

Kalender (1997), Bir mikrobiyal insektisit olan *B. thuringiensis*'in lahana kelebeği (*Pieris rapae*) (Lep.: Pieridae) larvalarının Malpighi tüpü hücrelerine etkisini incelemiştir. *B. thuringiensis* sporları larvalara besinlerine katılarak, yani oral yoldan uygulanmıştır. Uygulamanın 24. saatinde Malpighi tüplerinin proksimal ve distal bölgesinde bulunan hücrelerin sitoplazmasının eridiği, bazal katlanmaların kırıldığı, ayrıca mikrovilluslar ve mitokondrilerinde eridiği ve şiştiği bildirilmiştir. Muameleden 28-34 saat sonra larvalarda ölümün görüldüğü açıklanmıştır.

Yiallourous ve ark. (1999), *Psectroladius psilopterus* ve *Chrinomus thumni thumni*'nin 3. ve 4. evre larvalarına *B. thuringiensis israelensis*'in etkilerini incelemiştir. *B. thuringiensis israelensis*'in yüksek konsantrasyonlarına maruz bırakılan larvaların orta bağırsak hücrelerindeki mitokondrilerde şişme, bazal katlanma ve hücrelerarası alanlarda genişleme, golgi kompleksinde bozulma, granüllü endoplazmik retikulumda ortak merkezli düzenlenme, lizozomlarda sayıca fazlalaşma ve miyelin oluşumlarında artma görülmüştür.

Ülkemizde kestane üretiminde yaklaşık olarak %25-30 hasara neden olan kestane kurdu (*Curculio elephas*)'nun 3. evre larvalarına karşı bakteriyel izolatların insektisidal aktivitesi incelenmiş ve sonuç olarak *Bacillus lentimorbus* ile *C. elephas* üzerine en yüksek insektisidal etki görülmüştür ve izolatların kalıntılarının etkilerinin *Pseudomonas fluorescens* ile %0.2 ve *E. coli* ile %0 olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak *B. lentimorbus* ve *P. floescens* *C. elephas*'ın doğal düşmanları olarak belirlenmiş ve özellikle *B. lentimorbus*'un biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilceği açıklanmıştır (Yaman vd., 1999).

Yaman ve Demirbağ (2000), benzer bir başka çalışmalarında da büyük lahana kelebeği (*Pieris brassicae*) L. (Lepidoptera: Pieridae)'nin kontrolünde 4'ü sporsuz formda, 1'i sporlu formda 5 bakteri türü, *Xanthomonas campestris*, *Micrococcus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* ve *B. sphaericus* kullanmışlardır. *X. campestris* en düşük insektisidal aktiviteyi gösterirken, *Micrococcus* sp. 'nin %51, *P. aeruginosa*'nın %67, *E. coli*'nin %20, *B. sphaericus*'un %34 insektisidal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir ve *B. sphaericus*'un insektisidal aktivitesi yeterli bulunmuştur.

Shao ve ark. (2000), yaptıkları bir çalışmada *B. thuringiensis kurstaki* HD-1 δ -endotoksinin *Bombyx mori* orta bağırsağıdaki silindirik hücrelerdeki ATP-az'a bağlı Mg^{+2} aktivitesi üzerine etkisini incelemiştir. Sitokimyasal lokalizasyonda Mg^{+2} ATP-az aktivitesini silindirik hücrelerin fırça kenar yüzeyinde ve peritrofik membranda gözlemişlerdir. Toksinin yüksek dozlarının orta bağırsağa uygulanması sonucu ciddi sitopatolojik değişikliklerin meydana geldiği belirtilmiştir.

Bazı araştışıcılar zararlı böceklere karşı kimyasal insektisitler ile *B. thuringiensis*'in kombinasyonlarını uygulamışlardır. Creighton ve McFadden (1975), *Trichoplusia ni* (Hübner), *Pieris rapae* (L.) ve *Plutella xylostella* (L.) lahana tırtıllarına karşı çeşitli kimyasal ve *B. thuringiensis* formulasyonlarını sprey ile uygulamışlardır ve emülsiyon konsantre formulasyonunun znmş toz halindeki formulasyona göre lahana zararlılarının populasyonlarında daha büyük bir azalmaya vesile olduğunu belirtmişlerdir. *B. thuringiensis* spreynin kprtlmesinin bitki korumayı artırmadığı ve bitkide yaralanmalara sebep olduğunu ayrıca *B. thuringiensis* toz formulasyonunun *B. thuringiensis* sıvı formülünden daha etkili olduğunu ifade etmişlerdir ve hiğbir formülasyonun *B. thuringiensis* var. *alesti* (Berliner) kadar bitki hasarını azaltmada etkili olmadığını rapor etmişlerdir.

Deneylerimizde kullandığımız *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) dünyada özellikle Güney Avrupa, Kuzey Afrika ve Akdeniz bölgesinde ve ülkemizde ise daha çok Akdeniz, Ege ve Marmara Bölgeleri başta olmak üzere Karadeniz Bölgesi kıyı kesiminde İç Anadolu'da yayılış gösterir ve başta Kızılcm olmak üzere değişik am türlerinin önemi gittikçe artan zararlılarından biridir. Ayrıca *T. pityocampa* larvalarının ağaçlar üzerindeki zararlarının yanı sıra, bu larvaların tüberkülleri üzerinde taşınan kılların insan ve hayvan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri de görülmektedir (Demirsoy, 1990). Bu yakıcı kıllarda bulunan "thaumetopoein" proteini insanlarda dermatit, göz lezyonları ve solunum yolu rahatsızlıklarına sebep olmaktadır. Bu nedenle birçok araştışıcının dikkatini çekmiş ve buna karşı kimyasal ve biyolojik insektisitleri uygulamışlardır. Ülkemiz genelinde büyük oranda bu zararlıya karşı mekanik mücadele yoluna gidilmiş ve tırtıl keseleri toplatılarak imha edilmiştir. Mekanik mücadele sırasında dal ve sürgünlerin kesilmesi sebebiyle büyük artım kayıpları meydana gelmekte ve bu çalışmalar esnasında keselerin az da olsa küçük bir oranı ormanda kalmakta ve ertesini yıl mekanik mücadelenin yeniden yapılmasını ve her yıl tekrarlanmasını gerektirmektedir, aynı zamanda zararlının imhası sırasında bu zararlının doğal düşmanları da yok olmaktadır.

Çamkese böceğine karşı kimyasal mücadele yoluna gidildiğinde ise kimyasal insektisitlerin geniş alanlarda uygulanacağı, belli bir süre sonra çevre kirliliği meydana getireceği, besin zincirine bağlı olarak insanlara kadar ulaşabileceği, zararlının yanı sıra yararlı böcekleri ve diğer canlıları da olumsuz yönde etkileyebileceği ve zararlının kimyasal insektisitlere karşı direnç kazanabileceği düşünülerek kimyasal mücadele yöntemlerini kullanmanın sakıncalı olduğu anlaşılmaktadır. Kimyasal ve mekanik mücadele yöntemlerinin bu dezavantajlarından dolayı biyolojik mücadele zararlı ile savaşta alternatif bir metot olmuştur.

Lamy ve ark. (1986), yaptıkları bir çalışmada çeşitli elektroforetik ve immünoelektroforetik tekniklerle ayrılabilir çözünebilir protein içeren tüylerden tahriş edici kısmı ekstrakt etmişlerdir. Bu proteinlerin bazıları aynı zamanda hemolenfte ve kutikulda da bulunmuştur. 28000 molekül ağırlığında bir proteinin tüye özel olduğu ve domuz derisinde reaksiyona sebep olduğu ifade edilmiştir. 13000 ve 15000 molekül ağırlığında iki alt birimden oluşan protein "*thaumetopoein*" olarak adlandırılmıştır.

Werno ve ark. (1993)'nin *Thaumetopoea* larvalarına tekrarlanarak maruz kalan 21 çam ormanı işçisini ele alarak yaptıkları bir çalışmada bu 21 işçiden 4'ünde bu tırtılların tüylerinde bulunan "*thaumetopoein*"e spesifik IgE'ye rastlamışlardır. Özellikle bu 4 işçinin 3'ünde thaumetopoeine yönlendirilmiş IgE'lerin önemli seviyelerde olduğu açıklanmıştır. Araştırmacılar özellikle *T. pityocampa*'nın thaumetopoea yakıcı tüylerinin havadaki önemli böcek allerjenleri arasında sayılabileceğini açıklamışlardır.

Breuder ve ark. (1990), *Melia azedarach* L. bitkisinin meyvesinin methalonik ekstraktının *T. pityocampa*'nın tüm larval dönemlerine etkisini laboratuvar koşullarında incelemişlerdir. Tırtılların melia ekstraktının farklı konsantrasyonları ile (%0.1 ve %10) ıslatılan *Pinus mugo*'nun ince sürgünleriyle beslemişlerdir. Ekstraktın artan konsantrasyonları ile beslenen tırtıllarda beslenmenin kesildiğini ve hayvanların ağırlıklarını kayb ettiklerini gözlemlemişlerdir. Melia ekstraktının %1'lik

dozu %100 ölüm oranında etkili olduğu görülmüştür. Melia ekstraktı ile muamele edilen genç larvalarda olgunlara göre daha kısa sürede daha yüksek ölüm oranı elde edildiği kaydedilmiştir.

Battisti ve ark. (1998), yaptıkları bir çalışmada *T. pityocampa*'ya karşı *B. thuringiensis kurstaki* kullanılması ile ilgili görüşler bildirilmişlerdir. *T.pityocampa*'ya karşı uygulanan *B. thuringiensis kurstaki* ile %20-%85 arasında ölüm oranı elde edilmiştir. Aradaki bu fark ise hem uygulama dozunda hem de *T.pityocampa*'nın bazı popülasyonlarındaki parametrelerdeki çeşitliliğe bağlanmıştır.

Rauseli ve ark. (1999), *B. thuringiensis* Cry IB, Cry IC, Cry IE toksinleri ve temel *B. thuringiensis* biyoinsektisitlerinin *T. pityocampa* larvalarındaki toksisitesini araştırmışlardır. Cry IB, *T. pityocampa* larvalarına toksik iken Cry IC ve Cry IE'nin toksik olmadığını, aktif toksinlerin özellikle fırça kenar membrana bağlandığını ve orta bağırsak epitel hücrelerinde sitotoksik etki gösterdiğini ifade etmişler ve fırça kenar membranda bozulma, sitoplazmada vakuolleşme, hücrelerde ayrılma ve şişme gözlemlemişlerdir. Cry IE ve Cry IC ile muamele edilen larvaların orta bağırsak epitelinde sitolojik değişiklik gözlemlenmemiştir.

Yapılan çalışmalardan da anlaşılacağı gibi mikrobiyal insektisitlerin ve diğer mücadele yöntemlerinin gerek tarım ve orman zararlılarına, gerekse hastalık taşıyıcı vektörlere karşı etkisini araştıran pek çok çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların bir çoğu hayvanların sindirim sistemi üzerine etkisini konu almaktadır. Aynı zamanda zararlıların morfolojik yapılarına, kas dokuları üzerine olan etkileri ve memeliler üzerindeki güvenilirlikleri de çalışılmıştır.

Mikrobiyal insektisitlerin böcek boşaltım sistemi üzerine etkisini inceleyen çalışmalar da yapılmıştır.

Azmy ve ark. (1982), yaprak kurdu (*Spodoptera littoralis*) larvaları üzerine *B. thuringiensis*'i uygulamışlar ve larvaların ventral sinir kordonu ve kaslarında,

Malpighi tüpçüklerinde, orta bağırsak dokularında histopatolojik etkiye neden olduğunu ve vücut ağırlığının tahrip olduğunu bildirmişlerdir.

Reisner ve ark. (1989)'nın yaptığı bir çalışmada seken kelebek (*Calpododes ethlius*) larvasından izole edilen Malpighi tüplerinde ürün transportu ve hücre ince yapısı üzerine *B. thuringiensis kurstaki* HD-73 δ -endotoksinin etkisi belirlenmiştir. 63 kDa ve 134 kDa endotoksine serozal ve mukozal maruziyeti takiben sarı bölge ve ileuma ait pleksus-rektal bölgede çeşitli sitolojik değişiklikler gözlenmiştir. Mukozal ve serozal maruziyet sonucu sitoplazmik alan genişliğinde artma, bazal katlanma alanlarında genişleme, düzensizlik, bazal katlanmalarda parçalanma, mikrovilluslarda düzensizlik, parçalanma, mikrovilluslardaki mitokondrilerde küçülme ve yuvarlaklaşma, sitoplazmik alanlarda devam eden genişleme, apikal ve bazal membranların her ikisinde de parçalanma granüllü endoplazmik retikulum ve mitokondrilerde şişme ve lümen içine sitoplazmik materyalin sızdığı gözlenmiştir.

Ryerse ve ark. (1990), tütün kapsül kurdu (*Heliothis virescens*) larvalarına uygulanan *B. thuringiensis kurstaki* 63 kDa δ endotoksinin orta bağırsak ve Malpighi tüpçüklerinin apikal plazma zarlarına bağlandığını immünofloresan ışık mikroskopuyla göstermişlerdir.

Kalender (1995), yaptığı bir çalışmada toprak kurdu (*Agrotis segetum*)'un 4. evre larvalarının hemosolüne enjeksiyonla *B. thuringiensis var. kurstaki*'yi uygulamış ve 1.85×10^8 dozda bakteri muamelesinden 1, 3, 6, 12, 18, 36 ve 48 saat sonra *A.segetum* larvalarının Malpighi tüplerinde bulunan hücrelerdeki değişiklikler ve bakteri muamelesinin ürik asit metabolizmasına etkisini gözlemiştir. Bakteri muamelesinden 1 ve 3 saat sonra Malpighi tüpü hücrelerinde fazla bir hasar gözlememiştir. Muameleden 6-12 saat sonra Malpighi tüpü hücrelerinin sitoplazmalarında erimeler, bazı mitokondrilerde şişmeler ve erimelerin meydana geldiğini bildirmiştir. Muameleden 18 saat sonra bazı epitel hücrelerinin çekirdek plazmasında erimeler, 24 saat sonra sitoplazmik erimelerin çaplarında büyüme, mikrovilluslarda şişme ve kopmalar gözlemiştir. Muameleden 36-48 saat sonra Malpighi tüplerinde bulunan tüm hücrelerdeki organellerin eridiğini, bazal zarın

bozulduğunu, çekirdekdeki kromatinlerin eridiğini ve mikrovillusların normal yapısını kaybettiğini belirtmiştir. *B. thuringiensis* var. *kurstaki* muamelesinden sonra larvalarda ürik asit metabolizmasının bozulduğu ve muameleden 48 saat sonra Malpighi tüplerinin lümeninde bulunan ürik asitin son derece azaldığı tespit edilmiştir.

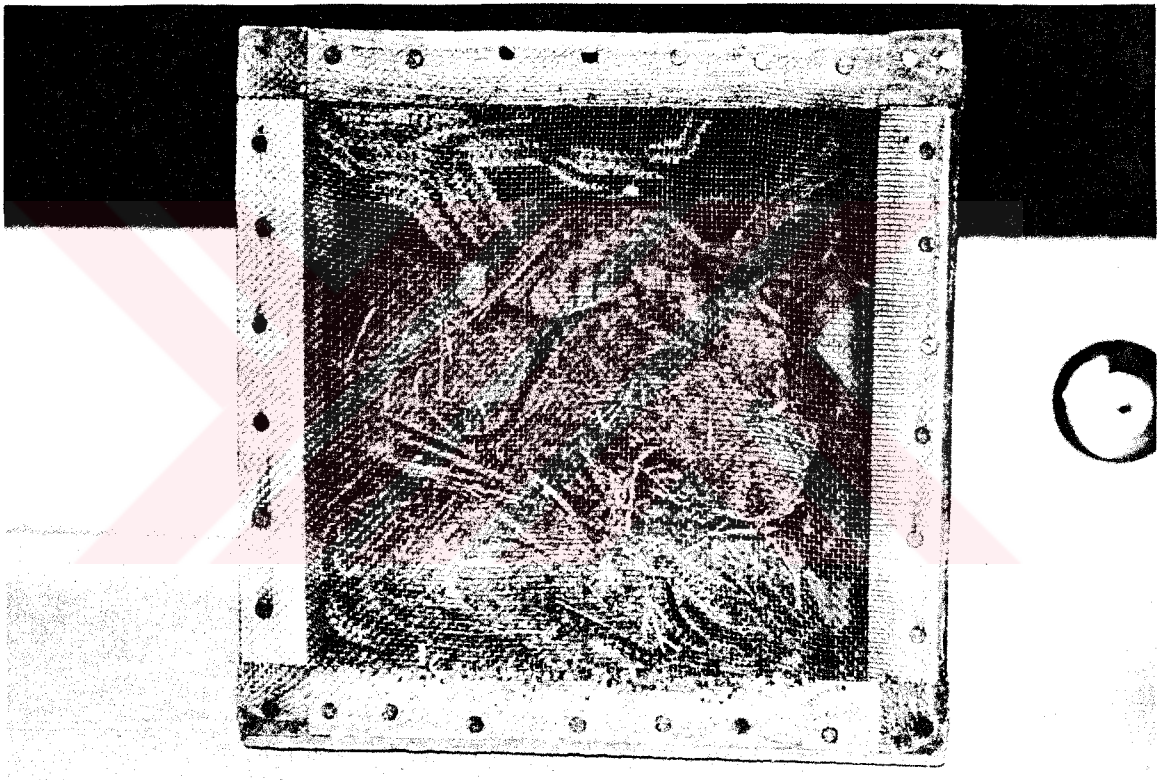
Bu çalışmada bir orman zararlısı olan *T. pityocampa* larvalarının Malpighi tüpü hücreleri üzerine *B. thuringiensis kurstaki*'nin etkisi geçirmeli elektron mikroskobu ile incelenmiştir.



2. MATERYAL VE METOT

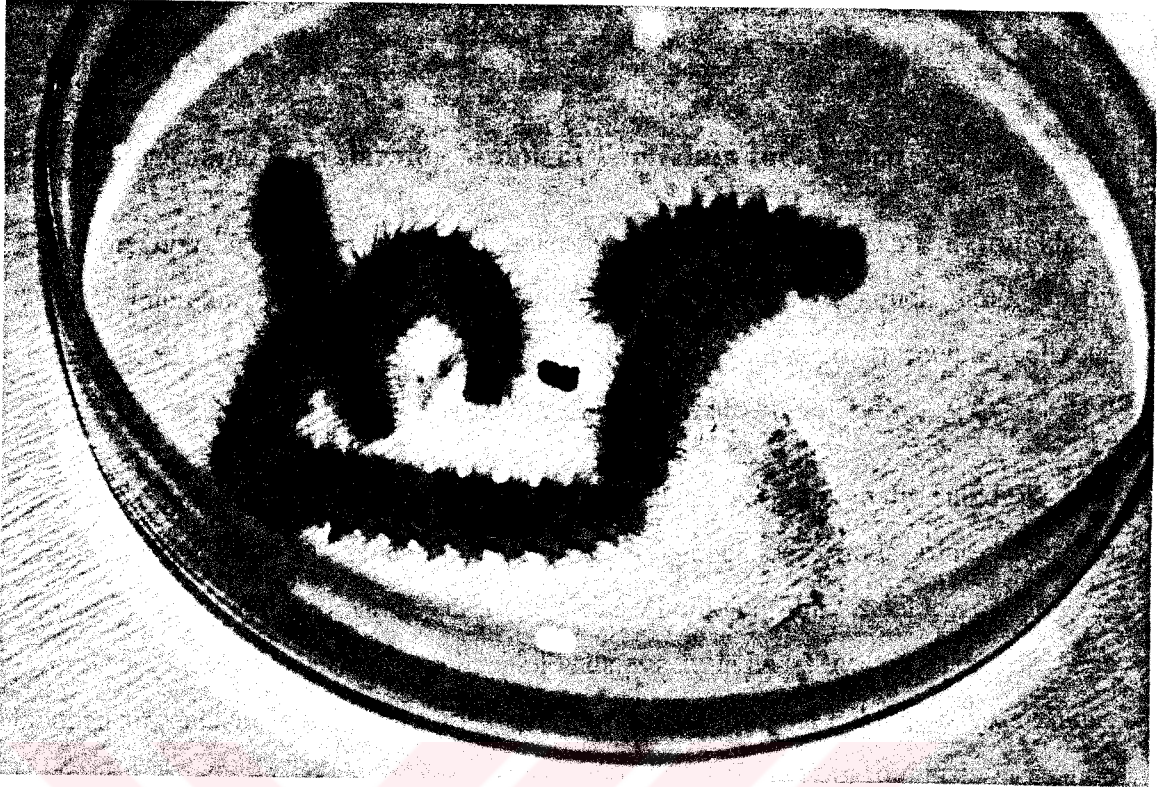
2.1. Deney Hayvanlarının Laboratuvar Ortamında Muhafazası ve Beslenmesi

Bu çalışmada kullanılan *T. pityocampa* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) larvaları Kahramanmaraş'tan toplanmış ve Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji A.B.D.'da teşhis edilmiştir. *T. pityocampa* larvaları laboratuvarda ağzı tülbent ile kapatılmış tel kafeslerde tutulmuştur (Şekil 2.1) ve her gün taze, yıkanmış *Pinus nigra* yaprakları ile beslenmiştir.



Şekil 2.1. *T. pityocampa* larvalarının yetiştirilmesinde kullanılan tel kafesler.

T. pityocampa larvaları, oda sıcaklığında %60-70 nem oranında ve 12/12 fotoperiyot uygulanan şartlarda yetiştirilmiştir. Deneylede 4. evre *T. pityocampa* larvaları kullanılmıştır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Dördüncü evre *T. pityocampa* larvaları.

2.2 Bakterilerin Hazırlanması

Deneylede kullanılan *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* ticari preparatı Mycogen Corporation, USA tarafından imal edilip Hektaş Ticari T.A.Ş. tarafından ithal edilmektedir. Ticari markası MPV Bioinsecticide'dir. Hazır olarak temin edilen preparatta miligramda 10000 adet canlı bakteri bulunmaktadır. Deneylede 3×10^8 bakteri/mililitre kullanılmıştır.

2.3. Bakterilerin Larvalara Uygulanışı

Çamkeseböceği (*T. pityocampa*) larvaları gece aktif oldukları için deneylede gece başlanmıştır. Deneylede başlamadan 48 saat önce larvaların beslenmesine son verilmiştir.

T. pityocampa'nın 4. evre larvalarına bakteriler suda çözülmüş olarak hazırlanan solusyondan besinlerine püskürtülerek verilmiştir. Kontrol grubu larvalar ise taze ve temiz *Pinus nigra* yaprakları verilmiştir.

Bakteri verildikten itibaren 1, 3, 6, 12, 24, 48, 60. saatlerde ve 4. günde diseksiyon mikroskobu altında larvalardan Malpighi tüpçükleri çıkartılmıştır. Deneylein her bir safhası için 3'er larva kullanılmıştır ve her bir deney 3'er kez tekrarlanarak yapılmıştır.

2.4. Dokuların Elektron Mikroskobu İçin Hazırlanması

Elektron mikroskobunda inceleme yapmak için larvalar parafinli petri kaplarında diseksiyon mikroskobu altında disekte edilmiş ve Malpighi tüpçükleri çıkartılmıştır. Diseksiyon sırasında sodyum fosfat (pH: 7.2) tamponu kullanılmıştır. Çıkartılan Malpighi tüpçükleri sodyum fosfat tamponunda (pH: 7.2) hazırlanmış %3'lük glutaraldehitte 3 saat bekletilerek ön fiksasyonu yapılmıştır. Tespitten sonra dokular pH: 7.2 olan sodyum fosfat tamponu ile yarım saat ara ile 3 kez değiştirme yapılarak toplam 1,5 saat yıkanmıştır. Daha sonra dokular sodyum-fosfat tamponu (pH: 7.2) ile hazırlanmış %1'lik OsO₄ içinde 1,5 saat bekletilerek son fiksasyonu yapılmıştır. Dokular yine sodyum-fosfat tamponu ile 3 kez değiştirme yapılarak toplam 1,5 saat yıkanmıştır. Daha sonra dokular yükselen alkol serilerinden geçirilerek suyu alındıktan sonra araldit gömme ortamında bloklanmıştır. Bu bloklardan Reichert OM U3 ultramikrotomunda cam bıçaklarla ince kesitler alındıktan sonra suda hazırlanmış %2'lik uranil asetat ve kurşun sitrat boyası ile boyanmıştır. İnce kesitler Jeol 100 CXII Elektron mikroskobunun TEM kısmında 80 kv'de incelenmiş ve Agfa Scientia EM filmine resimleri çekilmiştir.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. ÇamKese Tırtılı (*Thaumetopoea pityocampa*) Denis & Schiff. (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) Larvalarının Biyolojisi

Çamkese tırtılı, yurdumuzda daha çok Akdeniz, Ege ve Marmara bölgeleri başta olmak üzere Karadeniz bölgesi sahil kesiminde ve Orta Anadolu'da, ülkemiz dışında Güney Avrupa, Kuzey Afrika ve Akdeniz Bölgelerinde yayılış gösteren bir türdür. Çamkese böceğinin başta kızıl çam (*Pinus brutia*) olmak üzere kara çam (*P. nigra*), sarı çam (*P. silvestris*), *P. maritima*, halep çamı (*P. halepensis*), fıstık çamı (*P. pinea*), sedir (*Cedrus libani*) ve bazen ardıç (*Juniperus excelsa*)'larda da tahribatına rastlanmaktadır. Bu böcekler esas olarak zararı tırtıl döneminde yaparlar. Tırtıllar ömürleri boyunca ağaçların iğne yapraklarını yerler. Besin kalmadığı zaman yapraklı orman ağaçlarında da zarar meydana getirmektedirler.

Çamkese böceği, *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiff.) Lepidoptera takımının Makrolepidoptera alt takımının bir üyesi olan Thaumetopoeidae familyasına ait bir zararlıdır. Thaumetopoeidae familyası üyeleri "kese tırtılları" olarak bilinirler. Tırtıllar toplu olarak ördükleri ağ içerisinde yaşarlar (Şekil 3.1). Ergin bir çamkese böceğinin gerilmiş ön kanatları arasındaki açıklık erkekte 30, dişide 35-40 mm'dir. Erkekte kahverengi-gri, dişide kül rengi olan ön kanatların üzerinde erkekte daha belirgin olarak görülebilen üç adet enine çizgi bulunmaktadır. Arka kanatlar beyaz renklidir ve birer tane gri renkte leke taşır. Dişilerin vücutlarının sonunda yumurtalarını örttüğü iyi bir şekilde gruplanmış pullar vardır. Yumurtalar, iki iğne yaprak bir araya getirilerek, yanyana helezon şeklinde bırakılır. Mısır koçanı görünümünü veren yumurta kümesine "yumurta koçanı" adı verilmektedir. Yumurtaların üzeri dişinin abdomeni sonunda bulunan pullarla kiremitvari kapatılır. Bir koçanda ortalama 270 civarında yumurta bulunur. Yumurtadan çıkan ilk tırtıllar 1.5 mm'dir, olgun tırtıllar ise 35-40 mm'dir. Tırtılların sırtı açık kahverengi, yan tarafları sarımsı esmer, karın tarafı ise sarımsı kahverengidir, vücutları bol kıllıdır. Yumurtadan çıkan ilk tırtıllar yumurta koçanını örten pullar arasından sıyrılarak üzerinde bulunduğu iğne yaprağın hemen dip kısmında veya bunun yakınında

toplanırlar etraflarındaki iğne yaprakları kemirmeye başlarlar. Burada oldukça ince ağlardan yuva örmeye başlarlar. Tırtıllar biraz büyüyünce yakında bulunan ikinci bir sürgüne giderek orada da bir yuva hazırlar ve iğne yaprakları daha kuvvetli bir şekilde kemirirler. Daha sonra zarar yine gruplar halinde yeni yapraklara geçiş ve ağ örüş şeklinde devam eder. Her bir yuva öncekinden daha yukarı yapılmaktadır. Tırtıllar yer ve yuva değiştirme işini 1-3 defa tekrarladıktan sonra büyük kış yuvalarını yaparlar. Kışlık yuvalar daha çok dalların uç ve çatal yerlerine yapılmaktadır. Kışı ılık geçiren bölgelerde zarar yıl boyunca devam etmektedir. Bir ağaçtan diğerine sürüler halinde geçmektedirler. Bir kese içerisindeki larva sayısı yaklaşık 200 kadardır. Tırtılların yapmış olduğu keseler, tırtılların saklanması, gündüz vakti güneş ışınlarının bir bölümünün yansıtılmasını ve soğuk havalarda sıcaklığın korunmasını sağlamaktadır. Tırtıllar krizalit dönemini geçirmek üzere toprağa girerler. Krizalit dönemi yaklaşık 4 aydır. Bu 4 ayın sonunda ergin halde topraktan çıkmaktadırlar. Doğal şartlarda yılda bir jenerasyonları görülür (Pekel, 1999).



Şekil 3. 1. *T. pityocampa* larvalarının çamlarda meydana getirdiği keseler

3.2. Böceklerde Boşaltım Sistemi

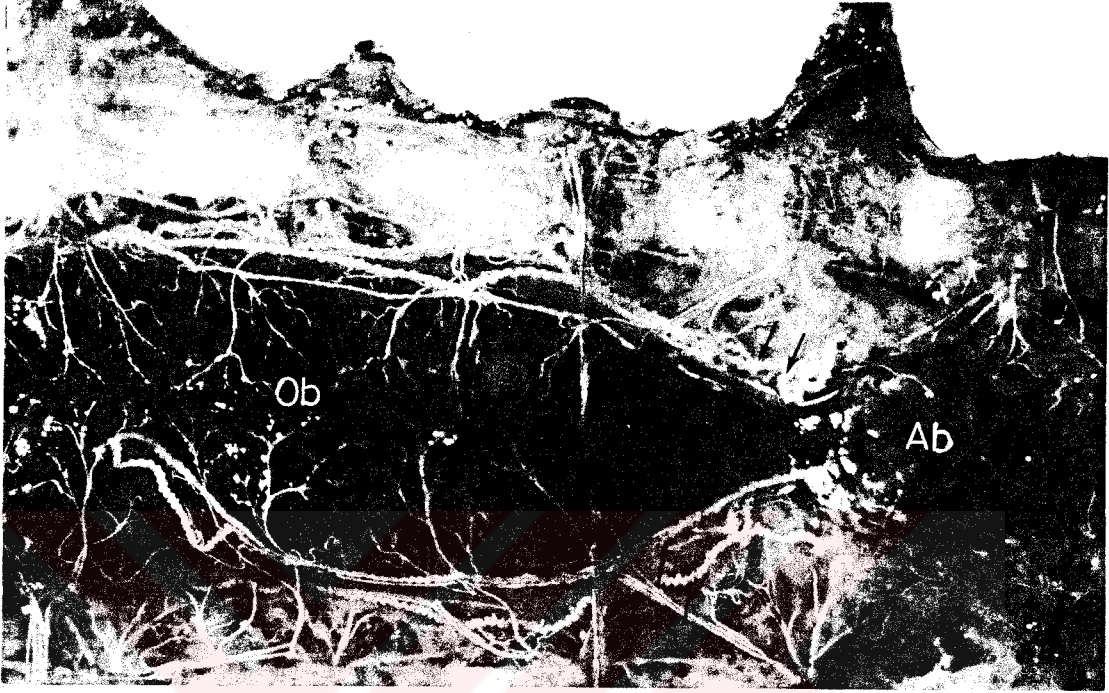
Organizmaların normal metabolik faaliyetleri sonucunda vücut için toksik olan birtakım azotlu maddeler meydana gelir. Boşaltım maddeleri farklı beslenme ve farklı metabolizma faaliyetleri sonucu farklı olur. Genellikle üre, ürik asit ve amonyak esas boşaltım maddelerini teşkil ederler ve çeşitli şekillerde olabilen boşaltım organları aracılığıyla vücuttan atılırlar.

Boşaltım organları hem metabolizma artıklarını vücuttan uzaklaştırır aynı zamanda da vücuttaki fazla suyu ve bazı iyonları da vücut dışına atarak, bireyin su ve elektrolit dengesini düzenler yani ozmoregülasyon yapar. Organizmalarda, iç çevrenin bileşiminde su başlıca madde olup, anorganik tuzlar ve diğer maddeler su içinde organizmanın yaşamına uygun bir dengede bulunurlar. Organizma ancak uygun bir iç çevrenin devamı sayesinde yaşamını sürdürebilir. Bu sebeple organizmada fazla suyun ve metabolizma artıklarının vücuttan uzaklaştırılması gerekir.

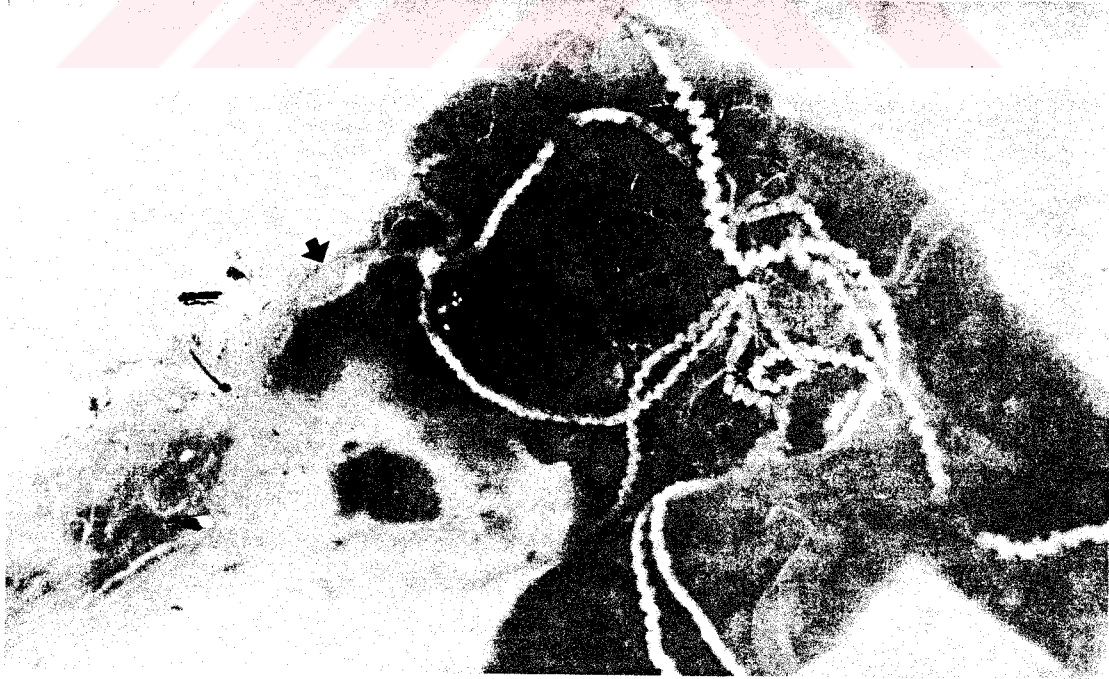
Böceklerde Malpighi tüpleri boşaltım sistemini meydana getirmektedir. Böceklerin Malpighi tüpleri sindirim kanalının bir takım çıkıntılarıdır (3. 2). Bunlar hemosolde uzanan ince, uzun bir ucu kapalı borulardır. Orta ve arka bağırsağın birleştiği pilorik boğumun hemen önünden sindirim kanalına açılırlar. Malpighi tüpleri içinde trakeoller bulunan, bağ dokusundan oluşmuş bir kılıf üzerine yerleşmiş tek tabakalı yassı epitelden meydana gelmiştir. Tüplerin etrafı peristaltik hareketi sağlayan kas fibrilleri ile çevrilmiştir. Malpighi tüpleri farklı böcek grupları arasında farklılıklar gösterir. Lepidopter larvalarında Malpighi tüpleri genel olarak 2 bölgeye ayrılır. Tüp sayısı türden türe farklılık gösterebilir. *T. pityocampa*'da Malpighi tüpleri orta bağırsak ile arka bağırsak arasında ampulla veya vesica urinaria adı verilen şişkin bir yapı ile bağırsağa bağlanır (Şekil 3.3).

Malpighi tüpleri ampulladan hemen sonra 3 kola ayrılır. Her bir tüp orta bağırsağa doğru uzanır ve orta bağırsağın ortasına yakın bir bölgeden geri dönerek rektuma kadar uzanır ve her bir tüp boncuk dizisi şeklinde bir yapı göstermektedir (Şekil 3.2). Malpighi tüplerinin bağırsak üzerinde uzanan kısmına proksimal, rektum bölgesinde

serbest olarak uzanan bölgesine ise distal bölge denir. Malpighi tüplerinin distal bölgesi su ve iyonların hemolenften lümene geçmesinde, proksimal bölge ise su ve iyonların lümeden hemolenfe geri absorpsiyonunda görev yapar (Noyan, 1989).



Şekil 3.2. *T. pityocampa* larvalarında orta bağırsak (midgut) üzerinde uzanan Malpighi tüplerinin (→) ışık mikroskopunda görünüşü



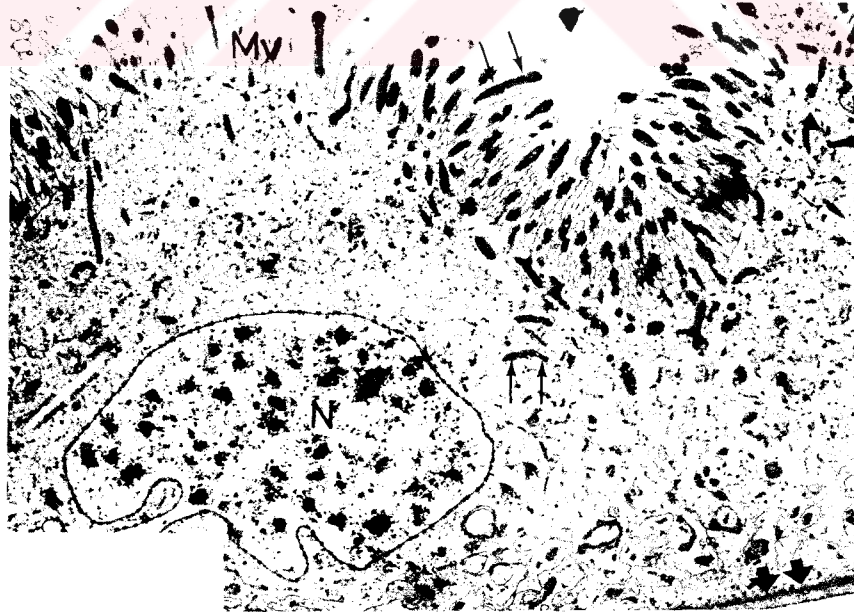
Şekil 3.3. *T. pityocampa* larvalarında Malpighi tüplerinin(→) bağırsağa bağlandığı ampulla bölgesi (➡)

4. BULGULAR

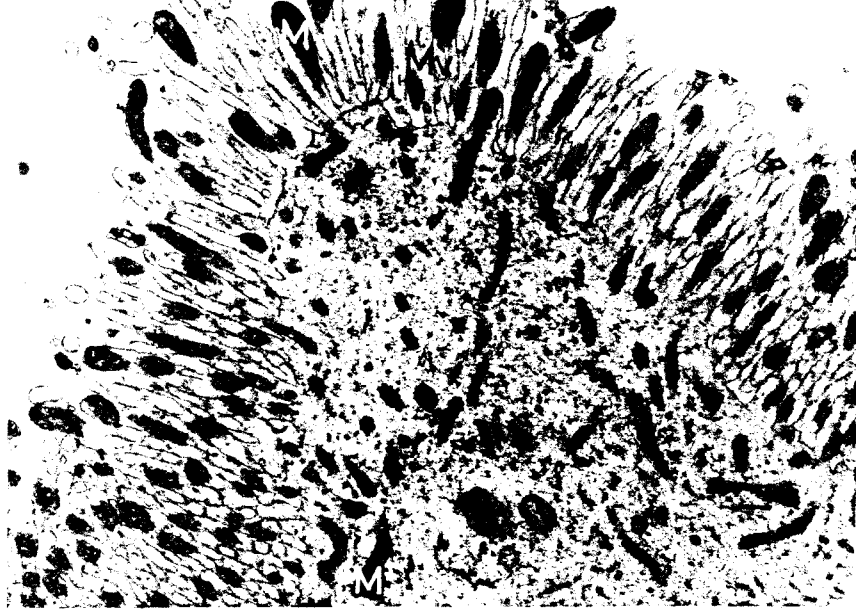
4.1. *T. pityocampa* Larvalarında Malpighi Tüplerinin İnce Yapısı

T. pityocampa larvalarının Malpighi tüplerinin enine kesitlerinde, lümen etrafında 5-8 kadar hücrenin bulunduğu gözlenmiştir. Malpighi tüplerinde genel olarak iki tip epitel hücresi bulunmaktadır. Bunlar esas Malpighi hücreleri (principle cell) ve yardımcı hücreler (yassı hücreler, stellate cell) yani satellit hücreleridir.

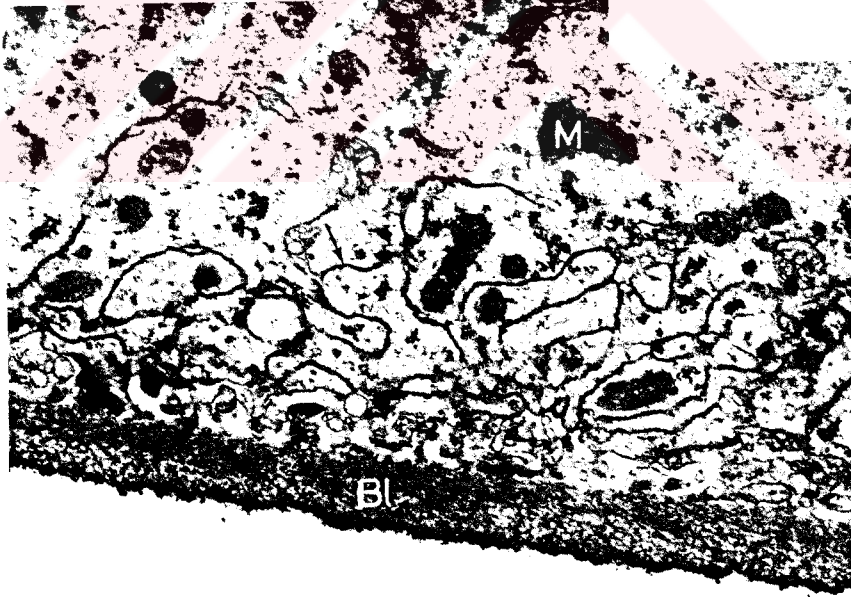
Esas Malpighi tüpü hücreleri ürün metabolizmasında sorumlu, hafif silindirik-yassı hücrelerdir (Şekil 4.1). Hücrelerin çekirdekleri genellikle ortada olup, hücrenin şekline uygundur. Kromatin çekirdek içine homojen bir şekilde dağılmıştır. Hücrelerin sitoplazmaları organel bakımından zengindir. Mitokondriler en fazla bulunan organellerdir. Özellikle apikal sitoplazma mitokondri bakımından zengindir. Hücrelerin apikal yüzeyinde uzun mikrovilluslar vardır. Mikrovillusların içinde mitokondriler bulunmaktadır (Şekil 4.2). Hücreler hemolenfle temas eden bir bazal lamina üzerine oturmuştur. Bazal laminada granülsü ve telsi bölgeler iyi ayırt edilmektedir. Hücrelerin bazal zar katlanmaları iyi gelişmiştir. Bazal zar katlanmalarının arasında mitokondrilere rastlanmaktadır (Şekil 4.3).



Şekil 4.1. Kontrol grubu *T. pityocampa* larvalarının Malpighi tüplerinin enine kesitinde esas Malpighi tüpü hücresinin genel görünüşü Mv: Mikrovillus N: Nukleus ▴: Bazal lamina →: Mitokondri X5000



Şekil 4.2. Kontrol grubu *T. pityocampa* larvalarının Malpighi tüplerinin enine kesitinde esas Malpighi tüpü hücresinin apikal bölgesi Mv: Mikrovillus M: Mitokondri X10000



Şekil 4.3. Kontrol grubu *T. pityocampa* larvalarının Malpighi tüplerinin enine kesitinde esas Malpighi tüpü hücresinin bazal bölgesi Bl: Bazal lamina →: Bazal zar katlanmaları M: Mitokondri X17750

Malpighi tüplerinde bulunan satellit hücreler esas Malpighi hücrelerinin aralarında bulunurlar. Bu hücreler organel bakımından esas Malpighi hücrelerine nazaran daha fakirdir. Bu hücrelerin mikrovillusları daha kısa ve içlerinde mitokondri bulunmamaktadır. Ancak sitoplazmada en fazla bulunan organel mitokondrilerdir. Bazal zar katlanmaları iyi gelişmiştir. Bu hücreler esas Malpighi hücrelerine nazaran daha yassı hücrelerdir (Şekil 4.4).

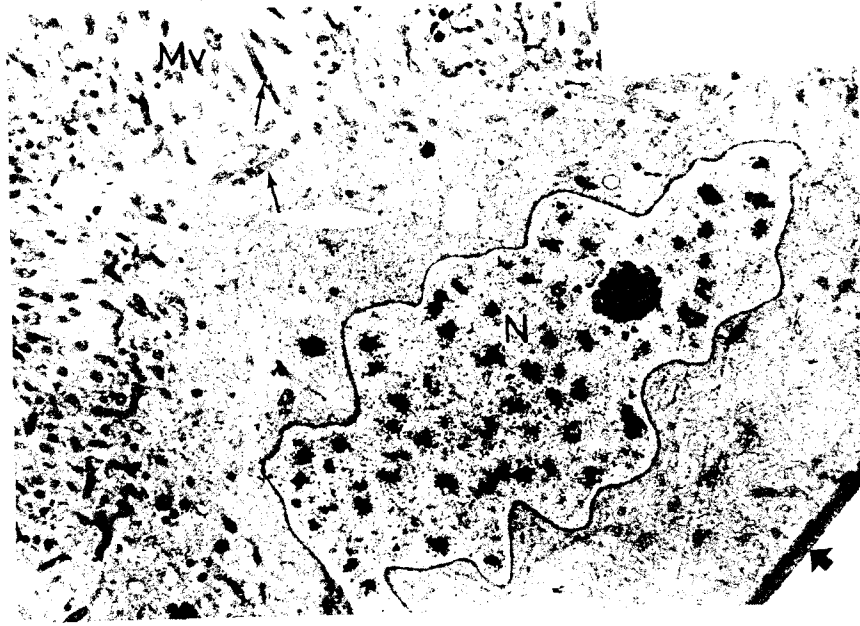


Şekil 4.4. Kontrol grubu *T. pityocampa* larvalarının Malpighi tüplerinin enine kesitinde satellit hücre ve esas Malpighi hücrelerinin görünüşü S: Satellit hücre Mv: Mikrovilluslar →: Mitokondri ⬛: Lateral zar X10000

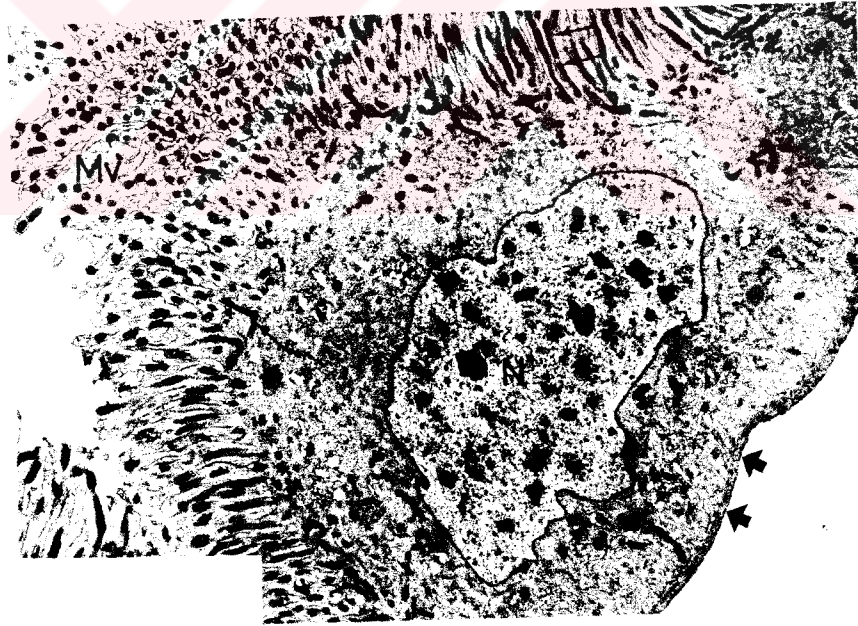
4.2. *B. thuringiensis kurstaki* Muamelesinden Sonra *T. pityocampa* Larvalarının Malpighi Tüpü Hücrelerinde Görülen Ultrastrüktürel Değişiklikler

B. thuringiensis kurstaki muamelesinden 1 saat sonra Malpighi tüpü hücrelerinde kontrol grubuna göre bir değişiklik gözlenmemiştir. Hücrelerin çekirdekleri, mikrovillusları ve sitoplazmik organelleri normal bir yapı göstermektedir (Şekil 4.5).

B. thuringiensis kurstaki muamelesinden 3 saat sonra Malpighi tüpü hücrelerinde çok az bir şişme tespit edilmiştir. Çekirdekte ve organelerde bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.6).

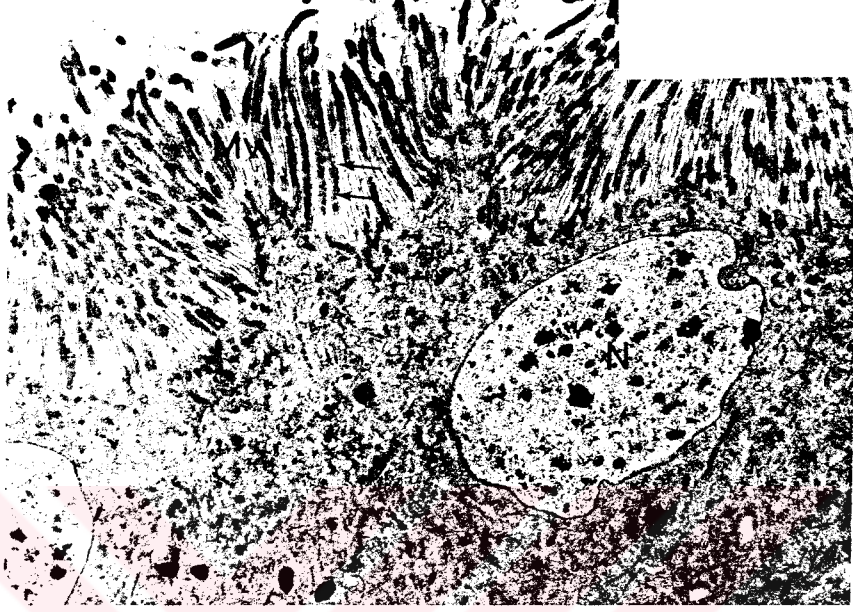


Şekil 4.5. *T. pityocampa* larvalarına *Bacillus thuringiensis kurstaki* (*B.t.k.*) verildikten 1 saat sonra Malpighi tüpü hücresi Mv: Mikrovillus →: Mitokondri N: Nukleus ➡: Bazal lamina X5000

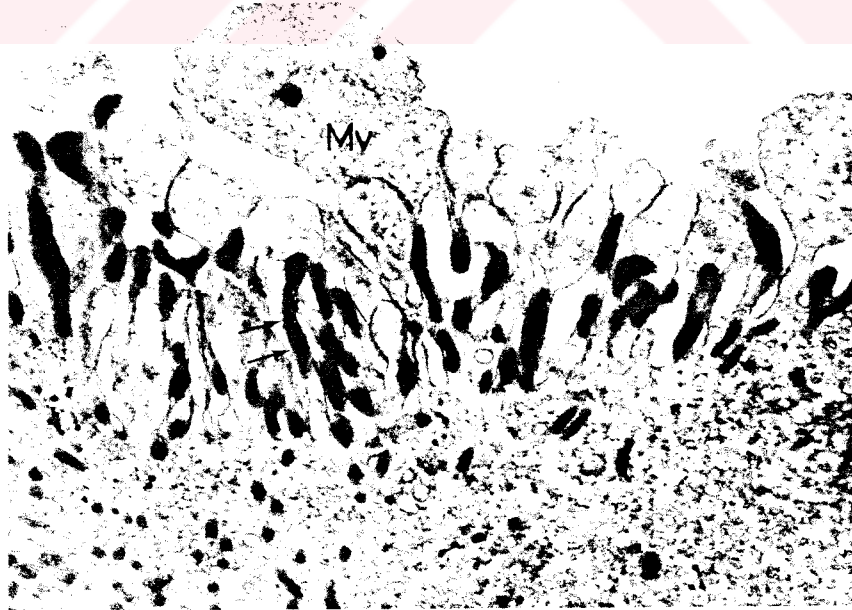


Şekil 4.6. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 3 saat sonra Malpighi tüpü hücresinde hafif şişme Mv: Mikrovillus →: Mitokondri N: Nukleus ➡: Bazal lamina X5000

Muameleden 6 saat sonra bazı Malpighi tüpü hücrelerinde şişme meydana gelmiştir (Şekil 4.7). Bazı hücrelerin mikrovilluslarında da şişmeler tespit edilmiştir (Şekil 4.8).

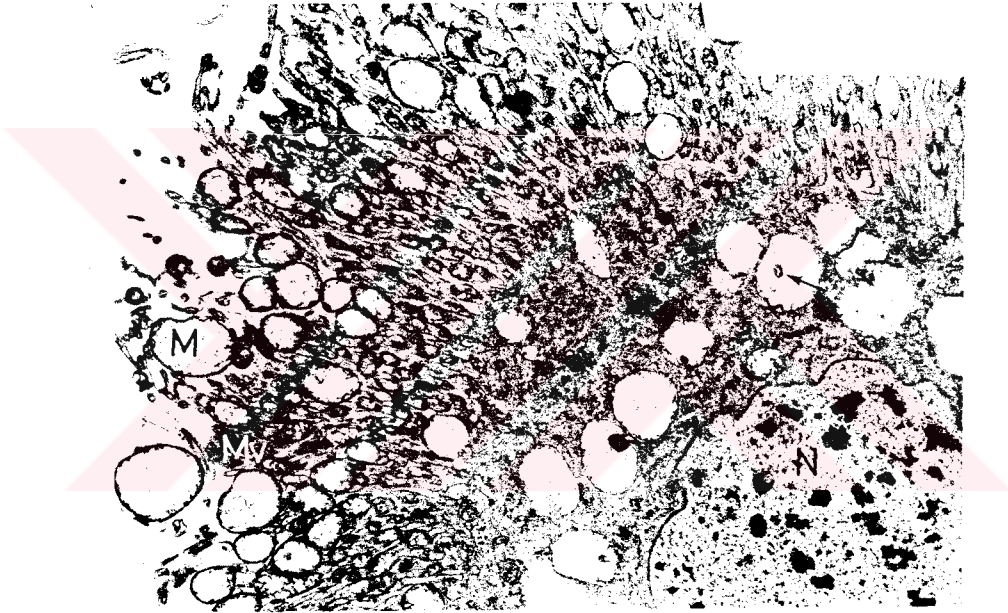


Şekil 4.7. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 6 saat sonra Malpighi tüpü hücresinde gözlenen hafif şişme Mv: Mikrovilluslar N: Nukleus →: Mitokondri X5000

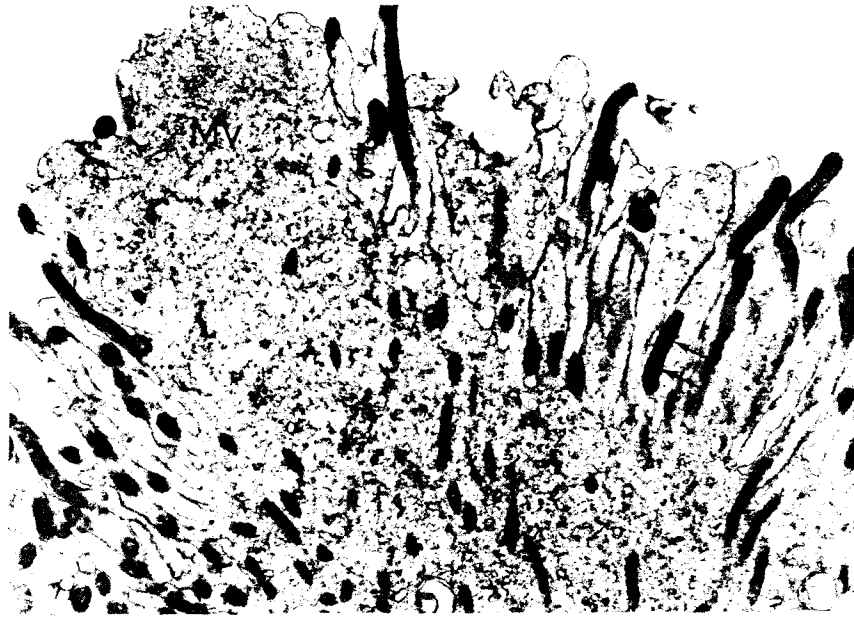


Şekil 4.8. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 6 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin mikrovilluslarında şişme (Mv) →: Mitokondri X10000

Bakteri muamelesinden 12 saat sonra *T. pityocampa* larvalarının Malpighi tüpü hücrelerinde ciddi patolojik değişiklikler tespit edilmiştir. Bazı epitel hücrelerinin mitokondrilerinde şişmeler ve erimeler meydana gelmiştir. Mikrovilluslar içindeki mitokondrilerde de aynı şekilde şişmeler gözlenmiştir. Mitokondrilerin matriksi elektron yoğunluğunu kaybetmiştir. Aynı zamanda şişmeden dolayı özellikle mikrovilluslar içinde bulunan ve uzun bir yapı gösteren mitokondriler yuvarlak bir şekil almıştır (Şekil 4.9). Bazı epitel hücrelerinde ise mikrovillusların düzensiz bir yapı gösterdiği tespit edilmiştir. Bu epitel hücrelerinin mitokondrilerinde patolojik bir durum gözlenmemiştir (Şekil 4.10).

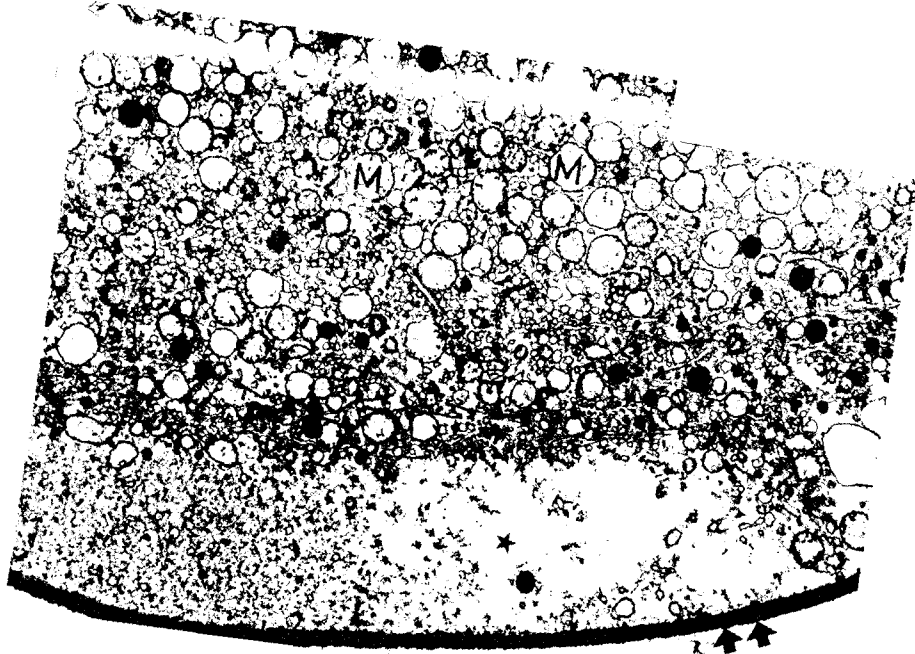


Şekil 4.9. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 12 saat sonra Malpighi tüpü hücrelerinin mitokondrilerinde şişme (M) ve kristalarında kırılma (→) Mv: Mikrovillus N: Nukleus X6750

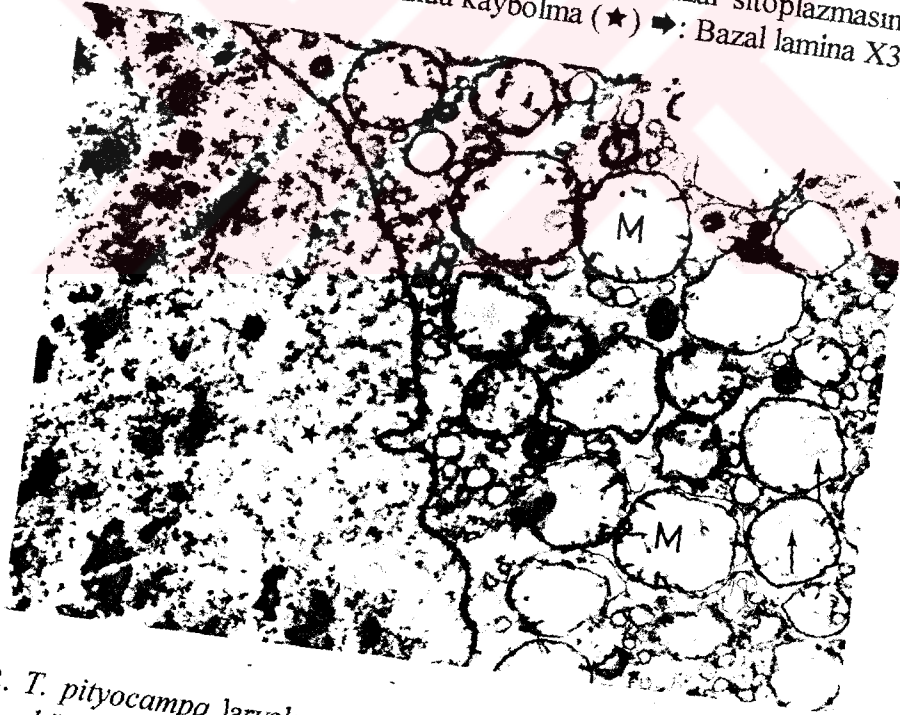


Şekil 4.10. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 12 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin mikrovilluslarında (Mv) şişme →: Mitokondri X10000

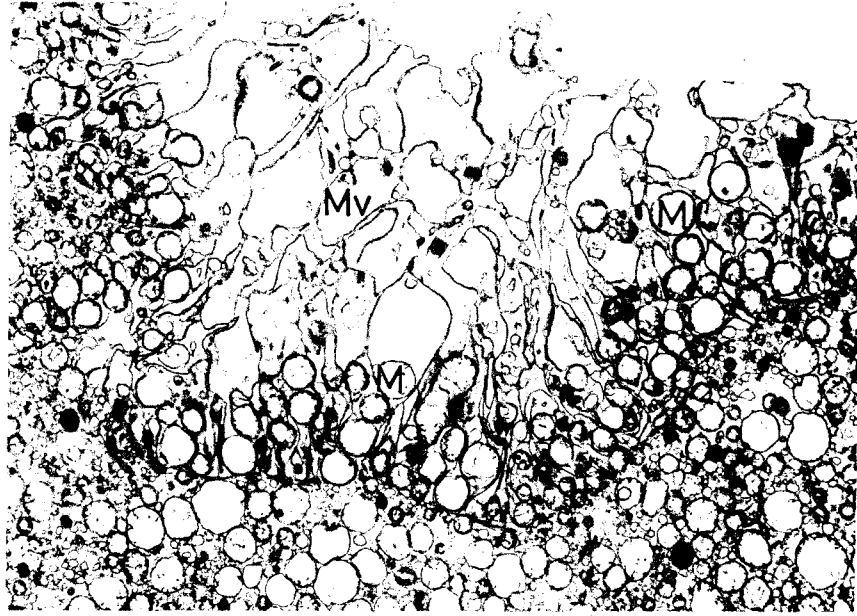
Muameleden 24 saat sonra Malpighi tüpü hücrelerinde kontrol grubuna göre çok ciddi ultrastrüktürel değişiklikler tespit edilmiştir. Sitoplazmadaki mitokondrilerin tamamen şiştiği, kristalarının kaybolduğu ve matriksin elektron-yoğun yapısını kaybettiği gözlenmiştir. Özellikle bazal sitoplazma eriyerek organeller ve bazal zar katlanmaları tamamen kaybolmuştur. Bazal laminanın yapısında bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.11). Bu safhada çekirdek plazmasında da kısmi erimelerin olduğu tespit edilmiştir. Küçük büyültmelerde sitoplazma içinde yoğun olarak görülen küçük vesiküllerin yüksek büyültmelerde şişmiş endoplazmik retikulum kesecikleri olduğu anlaşılmıştır. Yine yüksek büyültmelerde mitokondri kristalarının şiştiği ve koptuğu gözlenmiştir (Şekil 4.12). Hücrelerin apikal yüzeyinde bulunan mikrovillusların da şiştiği, düzensiz bir yapı gösterdiği tespit edilmiştir. Mikrovillusların içindeki mitokondrilerin de sitoplazmadaki mitokondriler gibi şiştiği ve kristalarının koptuğu gözlenmiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.11. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 24 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin mitokondrilerde şişme (M), bazal sitoplazmasında erime ve bazal zar katlanmalarında kaybolma (★) →: Bazal lamina X3750

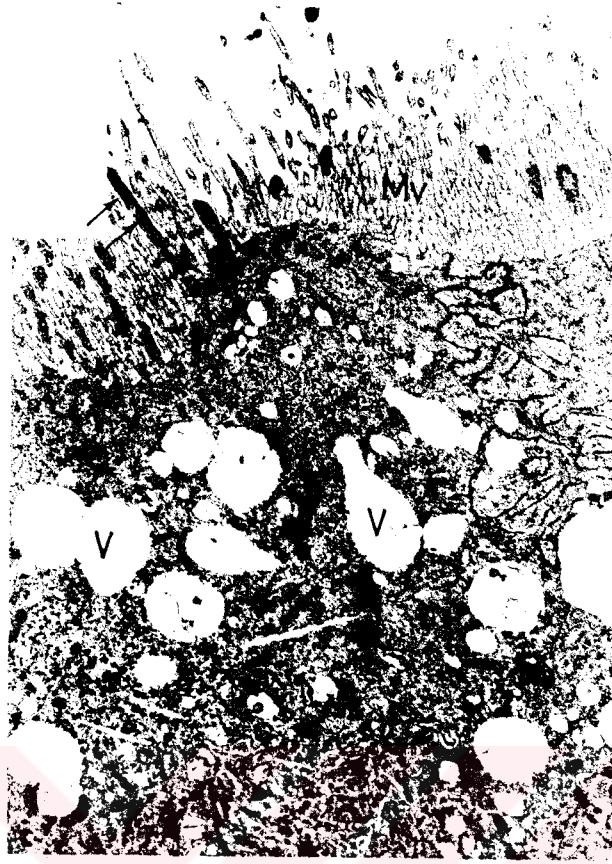


Şekil 4.12. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 24 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin çekirdek plazmasında erime (★) mitokondrilerde (M) şişme ve kristalarda kırılma (→) X10000

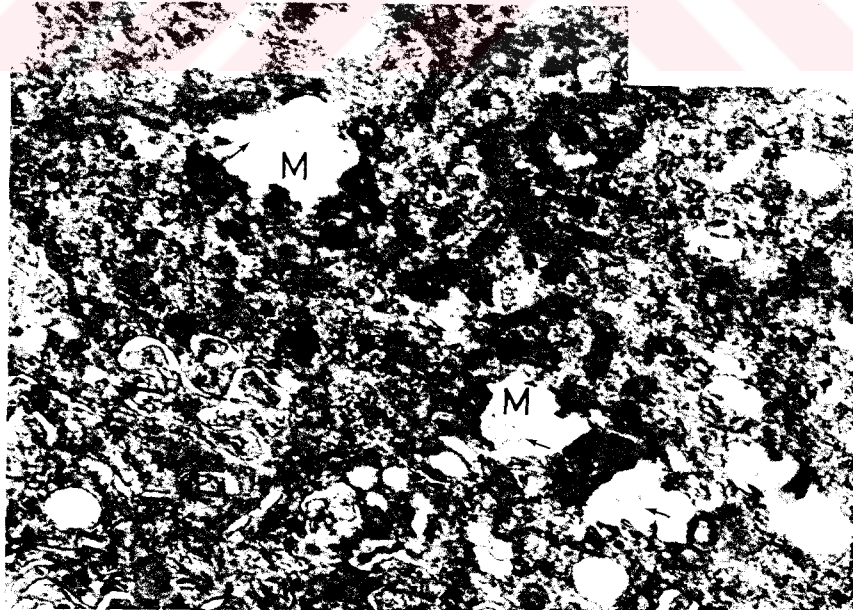


Şekil 4.13. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 24 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin mikrovilluslarında (Mv) ve mitokondrilerinde (M) şişme X3750

Bakteri muamelesinden 48 saat sonra Malpighi tüpü hücrelerinin sitoplazmasında çok sayıda vakuoller gözlemlendi. Mikrovillusların boylarının kısaldığı ve içlerindeki mitokondrilerin azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.14). Epitel hücrelerinin sitoplazmasındaki mitokondrilerin de şiştiği ve eridiği, kristallarının da koptuğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.15).

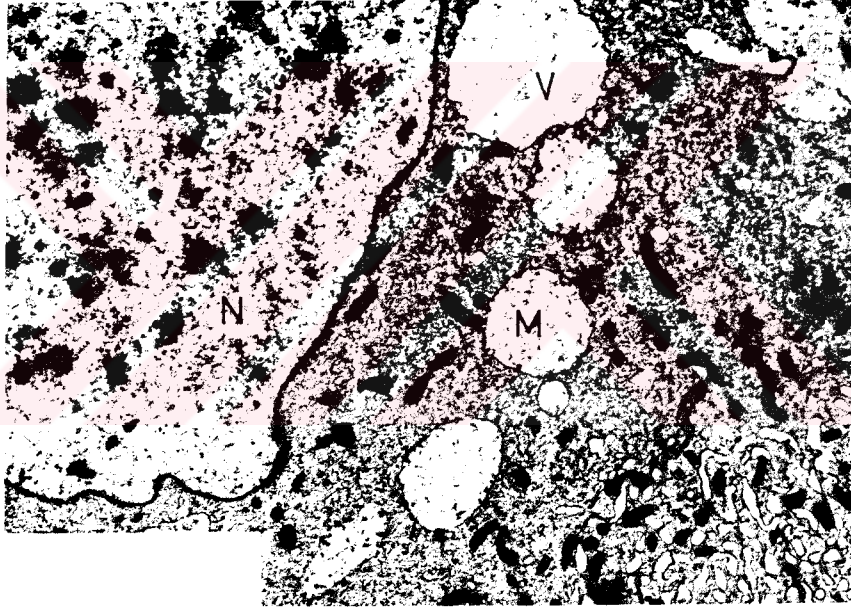


Şekil 4.14. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 48 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin sitoplazmasında vakuoller (V), mikrovilluslarında (Mv) kısıalma ve içlerindeki mitokondrilerde (→) azalma X7250

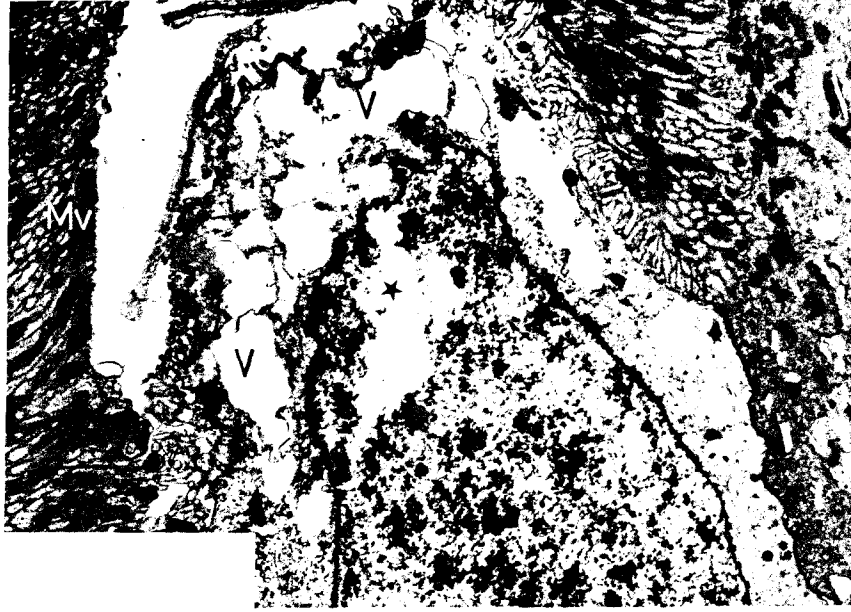


Şekil 4.15. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 48 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin mitokondrilerinde (M) şişme ve kristalarında kırılma (→) X17750

Larvalara bakteri verilmesinden 60 saat sonra epitel hücrelerindeki vakuollerin çapında bir artış olmuştur. Bu vakuollerin mitokondrilerin şişmesi ve erimesi sonucu meydana geldiği tahmin edilmektedir. Çünkü vakuollerin içinde krista benzeri yapıların olduğu gözlenmektedir. Sitoplazma içindeki bazı mitokondrilerin elektron-yoğun yapılarını korudukları, ancak kontrol grubu hücrelerin mitokondrilerine nazaran bir küçülmenin olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.16). Bu safhada bazı hücrelerin sitoplazmasındaki vakuoller birleşerek hücre içinde büyük vakuollerin meydana gelmesine sebep olmuştur. Hücrelerin apikal yüzeyinde bulunan mikrovillusların düzensizleştiği ve boylarının kısaldığı gözlenmiştir. Bu hücrelerin çekirdek plazmasında da kısmi erimeler meydana gelmiştir (Şekil 4.17).

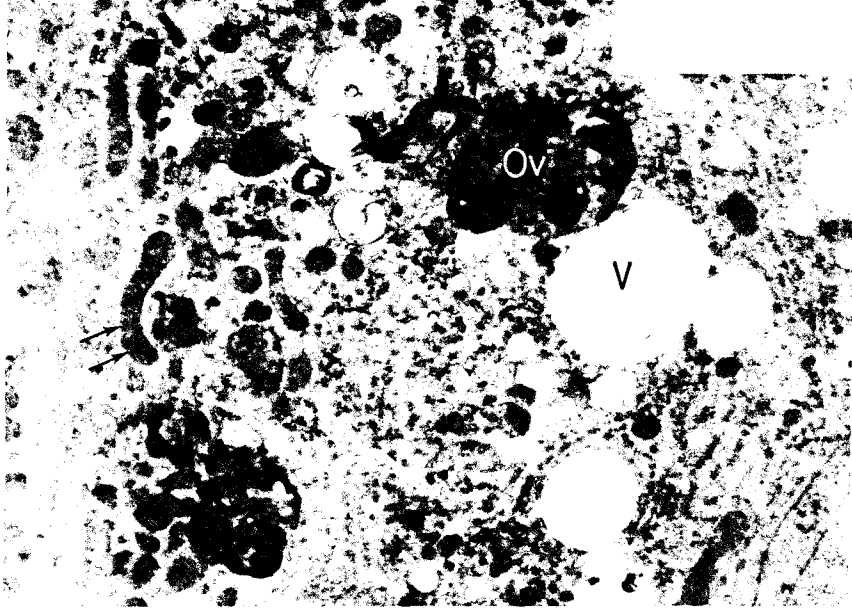


Şekil 4.16. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 60 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin mitokondrilerinde (M) şişme ve bunların meydana getirdiği vakuoller (V) N: Nukleus X7250

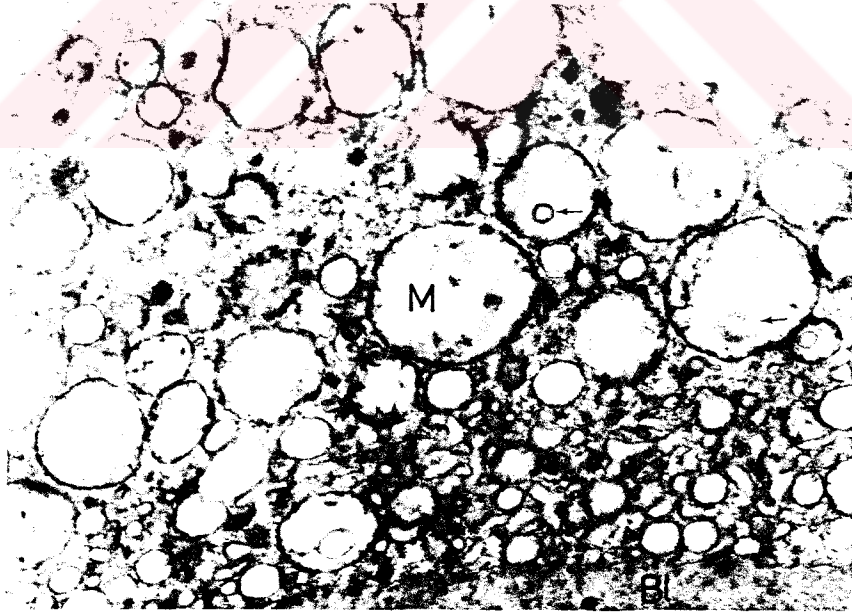


Şekil 4.17. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 60 saat sonra Malpighi tüpü hücresinin sitoplazmasındaki vakuoller (V) ve çekirdek plazmasında erimeler (★) Mv: Mikrovillus X7250

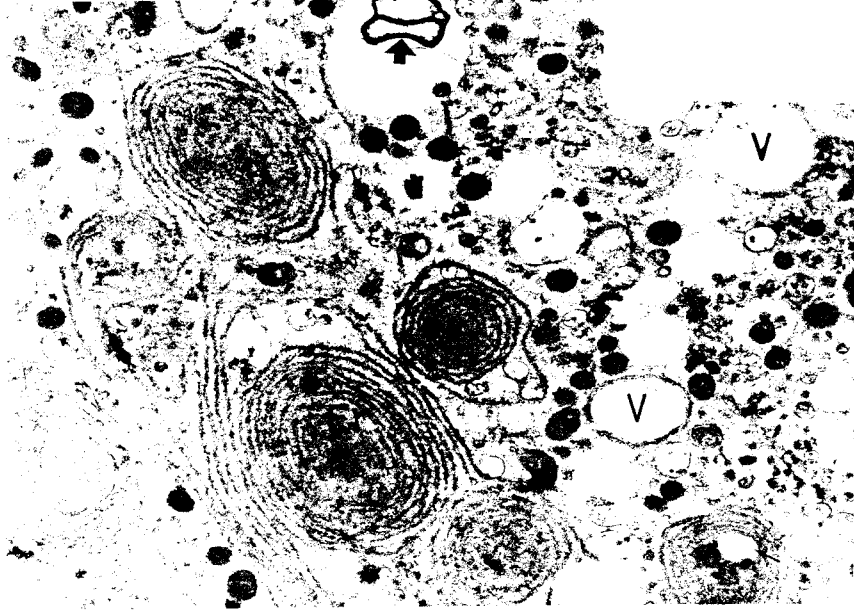
Bakteri muamelesinden 4 gün sonra *T. pityocampa* larvalarının Malpighi tüpü hücrelerinin sitoplazmalarında otofajik vakuollerin sayısında bir artış gözlenmiştir (Şekil 4.18). Yine sitoplazmada mitokondrilerde aşırı şişme ve kristalarda kopmalar meydana gelmiştir. Bazal laminada herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.19). Bazı hücrelerin sitoplazmasında kontrol grubunun Malpighi tüpü hücrelerinde görülmeyen halkasal endoplazmik retikulumlar tespit edilmiştir. Bu endoplazmik retikulumların bazılarının iç tarafında erimelerin olduğu dikkati çekmektedir (Şekil 4.20). Bakteri muamelesinden 4 gün sonra Malpighi tüpü hücrelerinin mikrovilluslarında mitokondrilere rastlanmamıştır. Bununla beraber mikrovilluslarda düzensizleşme ve şişmelerin olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.21). Bu safhada Malpighi tüpü hücrelerinin çoğunda ise aşırı şişme, mikrovilluslarda kısalma ve kaybolma tespit edilmiştir. Sitoplazmada da büyük çaplı vakuoller meydana gelmiştir (Şekil 4.22). Muameleden 4 gün sonra Malpighi tüplerindeki satellit hücrelerinde organellerin azaldığı, bazal zar katlanmalarının da düzensizleştiği tespit edilmiştir (Şekil 4.23).



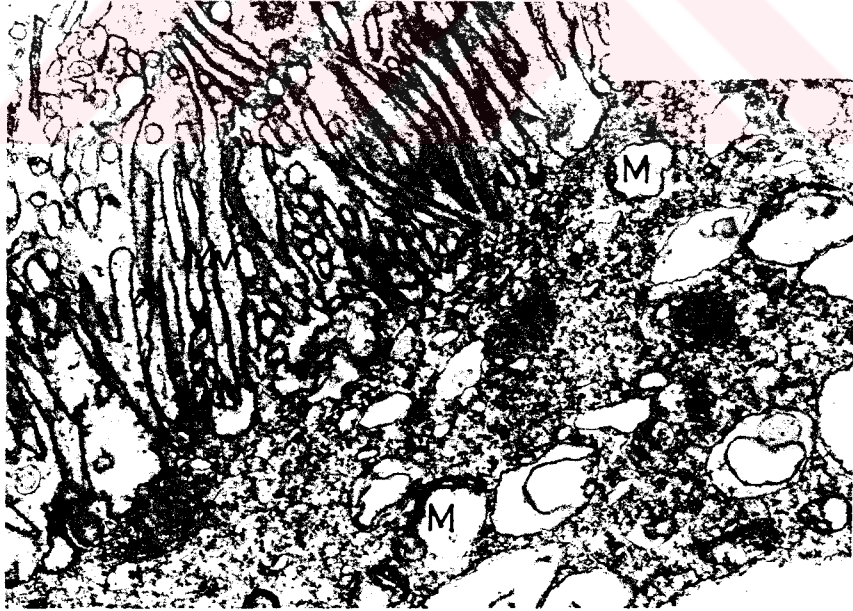
Şekil 4.18. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 4 gün sonra Malpighi tüpü hücrelerinin sitoplazmasındaki otofajik vakuoller (Ov) →: Mitokondri V: Vakuol X12250



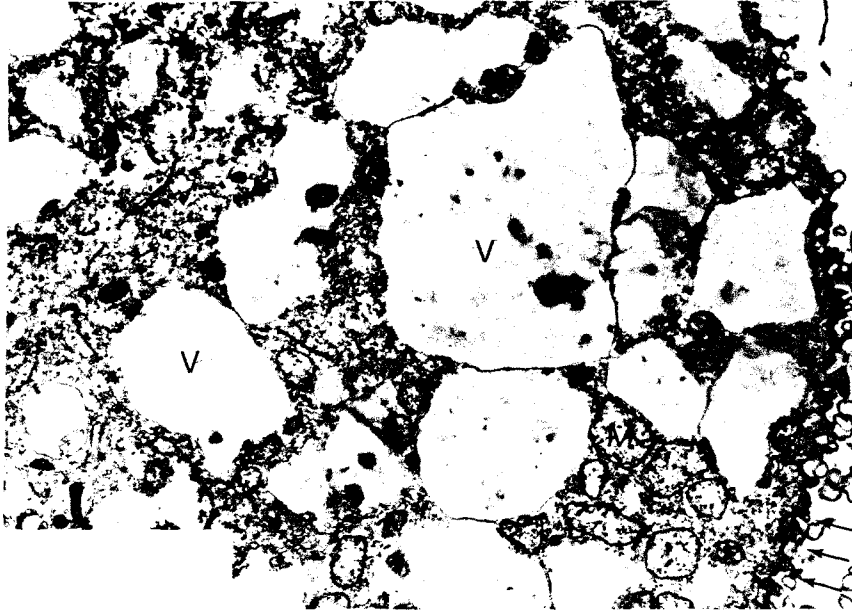
Şekil 4.19. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 4 gün sonra Malpighi tüpü hücresinin sitoplazmasında bulunan mitokondrilerde (M) şişme ve kristalarında kırılma (→) Bl: Bazal lamina X12250



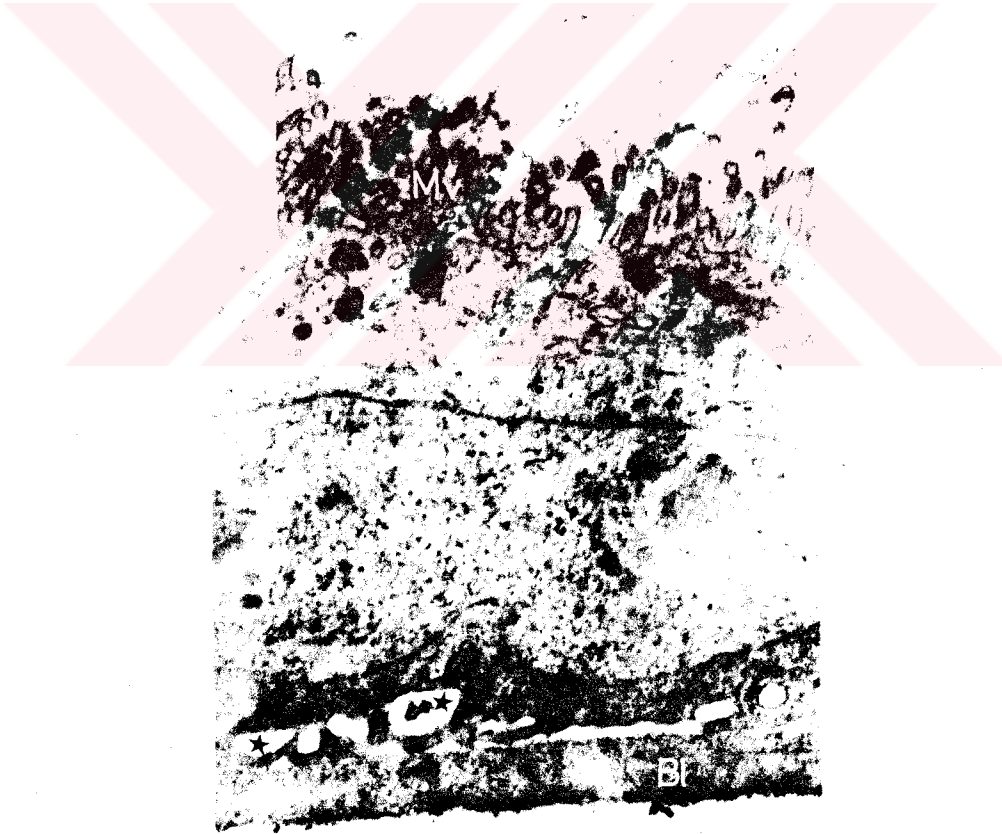
Şekil 4.20. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 4 gün sonra Malpighi tüpü hücresinin sitoplazmasında halkasal dizilmiş granüllü endoplazmik retikulumlar (Er) ve bazı bölgelerindeki erimeler (→) V: Vakuol ➡: Miyelinimsi yapı X10000



Şekil 4.21. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 4 gün sonra Malpighi tüpü hücrelerinin mikrovilluslarında (Mv) düzensizleşme, mitokondrilerinde (M) vakuolleşme ve Bu safhada mikrovilluslar içinde mitokondri görülmemektedir X10000



Şekil 4.22. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 4 gün sonra Malpighi tüpü hücresinde aşırı şişme, mikrovilluslarında kısalma (→) ve kaybolma, sitoplazmada büyük çaplı vakuoller (V) M: Mitokondri X6750



Şekil 4. 23. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 4 gün sonra Malpighi tüplerinde bulunan satellit hücresinin bazal zar katlanmalarında düzensizleşme ve genişleme (★) Bl: Bazal lamina Mv: Mikrovillus X17750

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Böceklerin büyük bir kısmı ekonomik öneme sahiptir. Çünkü bunlar tarım alanlarına zarar vermektedirler. Böcekler, ürünlerin yetişmesi sırasında bitkilerin kök, gövde, yaprak ya da meyvesini yiyerek bitkilerin kurumasına, ürünün önemli bir ölçüde azalmasına ya da kalitesinin düşmesine neden olmaktadır. Bununla birlikte ürünlerin depolarda muhafaza edilmesi sırasında ya bazı ürünlerin üzerinde kalmış olan yumurtaların gelişip açılması sonucu ya da depolara sonradan giren zararlılar ekonomik açıdan önemli hasarlara sebep olmaktadır. Böceklerin kısa zaman aralıklarında çok sayıda yumurta bırakması yani üremelerinin çok hızlı olması bunlarla etkili mücadeleyi zorunlu hale getirmiştir. Örneğin Baklagillere (Leguminosae) çok zarar veren bir tür olan *Nezera viridula* (Pentatomidae: Heteroptera) dişisinin bir defada 100 civarında yumurta bırakması bu konunun önemini ortaya koymaktadır (Candan, 1997). Böceklerin bir kısmı da bazı hastalıkların taşıyıcısı olduğu için ya da rahatsızlık verdiği için sağlık açısından da tehdit oluşturmaktadır.

Zirai mücadelede en çok kullanılan metotlardan biri kimyasal insektisitlerdir. Bu insektisitler böcekler için son derece etkili olup başarılı sonuçlar alınmaktadır. Ancak bunların bilinçsizce kullanılması ürün kalitesinin düşmesinin yanısıra ürünlerde birikim yaparak tüketiciye kadar gelmekte ve çeşitli toksik etkilere sebep olmaktadır. Bununla birlikte ekili tarım alanlarına uygulanan kimyasal insektisitlere maruz kalan memeliler ya da diğer canlı gruplarında çeşitli toksik etkilerin ortaya çıktığı bilinmektedir. Dere ve ark. (1995), organofosforlu bir insektisit olan malationun farelerin karaciğerindeki heksokinaz, glikoz 6 fosfat dehidrojenaz, laktat dehidrojenaz ve malat dehidrojenaz enzim aktivitelerinin bozulmasına neden olduğunu ifade etmişlerdir. Organofosforlu insektisitler özellikle sinir sisteminin çalışmasında rol oynayan kolinesteraz enziminin aktivitesini inhibe ederek geri dönüşü olmayan akut ya da kronik zehirlenmeler meydana getirmektedir (Vural, 1996). Aynı zamanda böceklerin birçoğu uzun süre kullanılan kimyasal insektisitlere karşı direnç oluşturmaktadır (Apperson and Georghiou, 1975; Priester and Georghiou, 1979).

Mikrobiyal insektisitlerin en önemli özelliği yalnızca hedef canlılar üzerine etki etmesidir. Bu nedenle özellikle *Bacillus thuringiensis* ve *B. sphaericus*'un çok sayıda suşları belirlenmiş ve zararlılar üzerinde denenmiştir. Zirai mücadelede en çok kullanılan bakteri suşları *B. thuringiensis kurstaki* ve *B. thuringiensis israelensis*'tir. *B. thuringiensis kurstaki* özellikle lepidopter larvalarına, *B. thuringiensis israelensis* ise dipter larvalarına karşı etkilidir (Suludere vd., 1992; Kalender vd., 1999).

B. thuringiensis spor oluşumu sırasında parasporal kristal üretir. Böcekler karşı toksik etkiyi sağlayan parasporal kristallerdir. Bu kristal yapı böcekler tarafından sindirilmek suretiyle bağırsakta delta endotoksin denilen proteinleri meydana getirmek üzere çözünmektedirler. Bu proteinler bağırsaktaki proteazlar tarafından harekete geçirilirler. Aktif hale gelen bu toksinler larvaların bağırsak epitelindeki reseptörlere bağlanarak hücrelerin parçalanmasına ve dolayısıyla böceklerin ölmesine neden olurlar. Elektron mikroskopunda yapılan incelemelerde bakterilerin meydana getirdiği parasporal kristallerin piramit, küp ya da paralel kenar şekillerde olabileceği ifade edilmiştir (Suludere vd., 1992).

Son yıllarda *B. thuringiensis* genleri bitkilere aktarılmaktadır. *B. thuringiensis* geni taşıyan transgenik bitkilere zararlıların gelmediği ifade edilmektedir. Günümüzde yaklaşık 25'in üzerinde bitki türünde *B. thuringiensis* geni taşıyan transgenik bitkiler geliştirilmiş durumdadır (Öktem, 2001).

B. thuringiensis böceklerde bağırsak epitel hücrelerindeki reseptörlere bağlanarak hücrelerin patlamasına neden olmaktadır. Bununla beraber *B. thuringiensis* böceklerde Malpighi tüpü hücreleri üzerine de etki etmektedir (Reisner et al., 1989; Ryerse et al., 1990; Kalender, 1996). Ryerse ve ark. (1990) floresan ışık mikroskobu ile *B. thuringiensis kurstaki* toksininin Malpighi tüpü hücrelerinin apikal yüzeyine bağlandığını göstermiştir. Dolayısıyla *B. thuringiensis* yalnızca bağırsak epitel hücrelerine değil aynı zamanda Malpighi tüpü hücrelerine de bağlanarak hücrelerde hasara neden olmaktadır. Ancak Malpighi tüpü hücrelerindeki ultrastrüktürel değişikliğin sebebini yalnızca bu olmadığını söyleyebiliriz. Belki de orta bağırsak epitelinin parçalanması sonucu epitel muhteviyatının hemolenfle karışarak hemolenf-

Malpighi tüpü lümeni arasındaki iyon dengesinin bozulmasına sebep olmakta ve buna bağlı olarak Malpighi tüpü hücrelerinde hasar meydana gelmektedir. Zira Malpighi tüplerinin distal bölgesi su ve bazı iyonların hemolenften lümene geçmesini, proksimal bölge ise su ve bazı metabolitlerin lümenden hemolenfe geri emiliminde görev yapar. Bu çalışmada bakteri muamelesinden 4 gün sonra Malpighi tüpü hücrelerinin mikrovilluslarında mitokondrilerin bulunmayışı ve mikrovillusların düzensiz bir yapı göstermesi iyon metabolizmasının ya da aktif taşıma mekanizmasının bozulduğunu göstermektedir.  nk  mikrovilluslar içindeki mitokondriler aktif taşıma sırasında görev almaktadırlar.

Spies ve Spence (1985), *Manduca sexta* larvalarına *B. thuringiensis* kristal endotoksini verdikten 24 ve 48 saat sonra orta bağırsak hücrelerinde çeşitli patolojik bulgular gözlemişlerdir. Ancak muameleden 6 gün sonra bağırsak hücrelerinin kendini yenilediğini ifade etmişlerdir. Bu çalışmada hücrelerin kendini yenilemediği ve larvaların bakteri etkisinden dolayı öldüğü gözlenmiştir. Bakteri muamelesinden yaklaşık 6 saat sonra besin yenmesinin kesildiği, yaklaşık 36-48 saat sonra ise larvaların hareketlerinde bir yavaşlama, 4. günde larvaların renklerinde koyulaşma, vücutlarında yumuşama ve boylarında kısalma meydana gelmiştir.

Mikrobiyal insektisitler genellikle böceklerin hücre yapısı üzerine aynı tip etkileri göstermektedir. Bu etkiler sırasıyla mitokondrilerde şişme ve erime, sitoplazmada vakuoller, mikrovilluslarda şişmeler ve çekirdek plazmasında erime ve  z lmeler şeklinde ifade edilebilir. Bu konuda yapılan çalışmalar bu şekilde etkileri ortaya koymuştur (Endo and Nishiitsutsuji-Uwo, 1980; De Lello et al., 1984; Kalender, 1995; Kalender ve Kalender, 1995; Kalender ve Kalender, 1997). Morfolojik olarak mikrobiyal insektisitlere maruz kalmış böceklerde zamana bağlı olarak renklerinde koyulaşma, boylarında kısalma, dokunulduğunda uyarıda bir azalma meydana gelmektedir.

T. pityocampa larvaları yalnızca ormanlara zarar vermemekte, bununla birlikte üzerindeki insanlarda ve diğer canlılarda allerjik reaksiyonlara sebep olmaktadır (Lamy et al., 1986). Allerjik reaksiyonlara sebep olan larvaların üzerindeki kıllardır.

Bu kolların yapısında thaumetopoein adlı bir protein bulunmakta ve ciddi allerjik reaksiyonlara bu protein sebep olmaktadır. Özellikle orman, park ve bahçeler gibi mesire alanlarda yaşayan ya da bu bölgelere gezi amacıyla giden insanlarda farkında olmadan ciddi allerjik hastalıklara sebep olmaktadır. Allerjik ya da allerjik-astımlı kişilerde ise daha ciddi rahatsızlıklara ya da ölümlere neden olmaktadırlar (Vega et al., 1999). Bu nedenle son derece zararlı olan bu türle bilinçli bir şekilde mücadele yapılması gerekmektedir. Deneylerimiz sırasında laboratuvarında çalışan kişilerde de ciddi allerjik reaksiyonlar görülmüştür.

T. pityocampa larvaları ile çeşitli şekillerde mücadele yapılmaktadır. Bu zararlıya karşı kimyasal insektisitler kullanılmakla birlikte, keselerinin toplanıp yakılması da tercih edilen bir yöntemdir. Kimyasal insektisitlerin tüm canlılar için bir tehdit oluşturmasından dolayı her zaman ve her yerde kullanılması mümkün değildir. Keselerin toplanması şeklinde olan mekanik mücadele de elverişli bir yöntem olarak görülmemektedir. Bu nedenle yalnızca hedef canlıya etkili olmasından, memeliler ya da diğer canlı grupları için tehdit oluşturmamasından, endosporlarının tabiatında uzun süre kalmamasından dolayı, üretiminin kolay ve ucuz olmasından dolayı ve en önemlisi uygulama yöntemlerinin çok kolay olmasından dolayı bu zararlıya karşı mikrobiyal insektisitlerin kullanılması uygundur.

Bu çalışma sonucunda *B. thuringiensis kurstaki*'nin *T. pityocampa* larvalarının Malpighi tüpü hücrelerine etki ederek larvaların muameleden yaklaşık 5 gün sonra ölmesine sebep olduğu görülmüştür. Bu nedenle *B. thuringiensis kurstaki*, *T. pityocampa* larvalarının kontrolünde kullanılabilir. Bu çalışma laboratuvar şartlarında yapılmıştır. Bu çalışma sonucu elde edilen sonuçların doğal ortamda ne kadar bir etki yapacağı tartışmaya açıktır.

KAYNAKLAR

- Ali, A.D., Abdellatif, M.A., Bakry, N.M. and El-Sawaf, S.K., 1973, Histopathological effect of Thuricide-HP on larvae of *Galleria mellonella* L., **Z. Angew. Ent.**, 72, (1972/1973), 295-299.
- Anonymous, 1979, Data sheet on biological control agent, *Bacillus thuringiensis* serotype H-14, **WHO/ VBC/ 79. 750**, Dec. Geneva.
- Anonymous, 1984, Report of seventh meeting of the scientific working group on biological control of vectors, **TDR/ BCV/ SWG- 784.3**, Geneva, March, 5-9.
- Apperson, C.S. and Georghiou, G.P., 1975, Mechanism of resistance to organophosphorus insecticides *Culex tarsalis*, **J. Econ. Entomol.**, Vol: 78, No: 2, 153-157.
- Aronson, A.I., Beckman, W. and Dunn, P., 1986, *Bacillus thuringiensis* and related insect pathogens, **Microbiol. Rev.**, Mar. 1-24
- Atwa, W.A. and Abdel-Rahman, H.A., 1974, Histopathological effects of *Bacillus thuringiensis* Berliner on larvae of *Pieris rapae* (L.) (Lep.: Pieridae), **Z. Angew. Ent.**, 76, 326-331.
- Azmy, N., Rezk, G.N. and Hamed, A.A., 1982, Histopathology of the cotton leafworm *Spodoptera littoralis* treated with *Bacillus thuringiensis*. **Aim Shams Univ. Fac. Agric. Res. Bull.**, 1-8.
- Bağcı, M. ve Kence, A., 1985, Değişik karasinek soylarına *Bacillus thuringiensis*'in farklı etkisi, **Doğa Bilim Dergisi**, A 2, 139-146.
- Battisti, A., Longo, S., Tiberi, R. and Triggiani, O., 1998, Results and perspectives in the use of *Bacillus thuringiensis* Berl. var. *kurstaki* and other pathogens against *Thaumetopoea pityocampa* (Den. et Schiff.) in Italy (Lep., Thaumetopoeidae), **Anz. Schadlingskde. Pflanzenschutz, Umweltschutz**, 71, 77-80.
- Beegle, C.C. and Yamamoto, T., 1992, History of *B. thuringiensis* Berliner research and development, **Can. Entomol.**, 124: 587-616.
- Bonamonte, D., Fati, C., Cassano, N., Rigano, L. and Angelini, G., 2001, **Contact Dermatitis**, 44, 179-180.

- Bong, C.F.J. and Sikorowski, P.P., 1991, Histopathology of cytoplasmic polyhedrosis virus (Reoviridae) infection in corn earworm, *Helicoverpa zea* (Boddie), larvae (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae), **Can. J. Zool.**, 69: 2121-2127.
- Boşgelmez, A., Çakmakçı, L., Yörük, S., Bor, N.M., Alten, B., Gürkan, B., Koçak, Ö., Karayalçın, O., Gürkan, F. ve Alten, E., 1989, Safety tests on the mice and guinea-pigs with *Bacillus sphaericus* isolate, **J. Islam. Acad. Sci.**, 2: 264-271.
- Bozkurt, S., 1990, *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*'in *Mus musculus*'un karaciğer dokusu üzerine histolojik etkisinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, 35 sayfa, **A. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara.
- Breuer, M. and Devkota, B., 1990; Control of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) by extracts of *Melia azedarach* L. (Meliaceae), **J. Appl. Entomol.**, 110, 128-135.
- Burges, H.D., 1982, Control of insects by bacteria, **Parasitology**, 84, 79-117.
- Candan, S., 1997, Bazı Pentatomidae (Heteroptera: Insecta) yumurtalarının dış morfolojik yapısı. Doktora tezi. **G. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara.
- Ciconne, G., Mirabelli D., Levis, A., Gavarotti, P., Rege-Cambrin, G., Davico, L. and Vineis, P., 1993, Myloid leukemias and myelodysplastic syndromes: Chemical exposure, histologic subtype and cytogenetics in a case-control study. **Cancer Genet. Cytogen.**, 68: 135-139.
- Creighton, C.S. and McFadden, T.L., 1975, Cabbage caterpillars: Efficacy of chlordimeform and *Bacillus thuringiensis* in spray mixtures and comparative efficacy of several chemical and *Bacillus thuringiensis* formulations, **J. Econ. Entomol.**, Vol: 68, No:1, 57-60.
- Çakmakçı, L., Boşgelmez, A., Gürkan, B., Özer, N. ve Koçak, Ö., 1988, Çeşitli kaynaklardan *Bacillus thuringiensis* serotip H-14, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus thuringiensis* izolasyonu, bunların karasinek ve sivrisinek larvalarına karşı etkinliklerinin saptanması üzerine araştırmalar, TÜBİTAK, TOAG, Tarmik-6 Nolu Proje, Ek: II.
- De Barjac, H., 1979, Note sur la Preparation formulation de reference, IPS-78, pour le titrage biologique des formulations experimentales et industrielles du serotype H-14 de *Bacillus thuringiensis*. **WHO / VBC / 79.741**, Geneva, 741.

- De Barjac, H., Dumanior V.C., Hamon S. and Theyry I., 1987, Safety tests on mice with *Bacillus sphaericus* serotype H-5a, 5b, strain 2362. **WHO / VBC / 87.948**, Geneva.
- De Lello, E., Hanton, W.K., Bishoff, S.T. and Misch, D.W., 1984, Histopathological effects of *Bacillus thuringiensis* on the midgut of tobacco hornworm larvae (*Manduca sexta*): low doses compared with fasting, **J. Invertebr. Pathol.**, 43, 169-181.
- Demirsoy. A., 1990, Yaşamın Temel Kuralları, Omurgasızlar/Böcekler, Entomoloji, Cilt-II / Kısım-II.
- Dere, E., Bakır, S., Atalay ve A., 1995, Malathion'un Fare (*Mus musculus*) karaciğer, heksokinaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, malat dehidrogenaz aktivitesine etkisi, **Tr. J. Biology**, 19, 19-27.
- Endo, Y. and Nishiitsutsuji-Uwo, J., 1980, Mode of action of *Bacillus thuringiensis* δ endotoxin: Histopathological changes in the silkworm midgut, **J. Invertebr. Pathol.**, 36, 90-103.
- Endo, Y. and Nishiitsutsuji-Uwo, J., 1981, Mode of action of *Bacillus thuringiensis* δ endotoxin: Ultrastructural changes of midgut epithelium of *Pieris*, *Lymantria* and *Ephestia* larvae, **Appl. Entomol. Zool.**, 16 (3), 231-241.
- Erkin, E. ve Ayvaz, Z., 1986, *Heliothis armigera* Hbn. (Lep.: Noctuidae) larvalarına karşı *Bacillus thuringiensis* ve *Heliothis* nükleer polyhedros virüs'ün etkileri üzerinde karşılaştırmalı araştırma. Türkiye 1. Biyolojik Mücadele Kongresi, 12-14 Şubat, Adana.
- Fast, P.G. and Donaghue T. P., 1971, The δ endotoksin of *Bacillus thuringiensis* II. On the mode of action, **J. Invertebr. Pathol.**, 18, 135-138.
- Faustini, F., Dibetta, L., Magliola, E.M. and Perucci, C.A., 1993, Cohort study of mortality among farmers and agriculturle workers, **Med. Lav.**, 84: 31-41.
- Federici, B.A. and Lowe, R.E, 1972, Studies on the pathology of a Baculovirus in *Aedes triseriatus*, **J. Invertebr. Pathol.**, 20, 14-21.
- Federici, B.A. and Stern, V.M., 1990, Replication and occlusion of a granulosis virus in larval and adult midgut epithelium of the western grapeleaf skeletonizer, *Harrisina brillians*, **J. Invertebr. Pathol.**, 56, 401-414.

- Garcia, R. and Descrochers, B.,1979, Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to some California moquitoes under different condition, **Mosq. News**, 39, 541-544.
- Garry, V.F., Nelson, R.L., Griffith, J. and Harkins, M., 1990, Preparation for human study of pesticide applicators: Sister-chromatid exchanges and chromosome aberrations in cultured human lymphocytes exposed to selected fumigants. **Terat. Carcin. Mut.**, 10: 21-29.
- Heineman, E.F., Gao, Y.T., Dosemeci, M. and Mc Laughlin, J.K., 1995, Occupational risk factors for brain tumors among women in Shanghai, China, **J. Occup. Environ. Med.**, 37: 288-293.
- Hunter, D.K., Hoffmann, D.F. and Collier, S.J., 1973, The histology and ultrastructure of a Nuclear Polyhedrosis Virus of the Webbing clothes moth *Tineola bisselliella*, **J. Invertebr. Pathol.**, 21, 91-100.
- Kalender, Y., 1995, *Agrotis segetum* (Dennis & Schiff) (Lepidoptera: Noctuidae) larvalarında Malpighi tüplerinin ince yapısı ve *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin Malpighi tüpü hücrelerine ve ürik asit metabolizmasına etkisi, Doktora tezi, 165 sayfa, **G. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara.
- Kalender, Y. ve Kalender S., 1995, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin *Agrotis segetum* (Lep.: Noctuidae) larvalarının sindirim sisteminin ileum bölgesine etkisi, **G. Ü. Fen Bilim Ens. Derg.**, 10: 43-55.
- Kalender, Y., 1996a, *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*'in *Mus musculus* böbrek dokusu üzerine histolojik etkisi, **G. Ü. Fen Bilim Ens. Derg.**, 9 (1), 55-71.
- Kalender, Y.,1996b, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin *Agrotis segetum* (Lep.: Noctuidae) larvalarının Malpighi tüplerindeki ürik asit metabolizmasına etkisinin histokimyasal olarak incelenmesi, **G. Ü. Fen Bilim Ens. Derg.**, 9 (2), 331-332.
- Kalender, Y. ve Kalender, S., 1997, *Bacillus thuringiensis*'in *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) larvalarının Malpighi tüpü hücrelerine etkisi, **G. Ü. Fen Bilim. Ens. Derg.**, 10 (1), 43-55.
- Kalender, Y., Olcay E. ve Başar K., 1999, Biyolojik mücadelede kullanılan kimyasal ve mikrobiyal insektisitler hakkında genel bir değerlendirme, **Türk Hij. Den. Biyol. Derg.**, 56 (3), 135-138.

- Klowden, M.J., Held, G.A. and Bulla Jr.L.A., 1983, Toxicity of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* to adult *Aedes aegypti* mosquitoes, **Appl. Environ. Microbiol.**, Aug., 46, (2), 312-315.
- Kornoşor, S. ve Oyartı, L., 1989, mısırdaki zararlı çizgili yaprak kurdu (*Spodoptera exigua* Hbn. (Lep.: Noctuidae) larvalarına karşı bakteriyel preparat *Bacillus thuringiensis* Berliner'in etkinliğinin saptanması, **Türk Entomol. Derg.**, 13 (2), 91-101.
- Lacey, L.A., 1995, *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 in: Biological control of mosquitoes. **Bull. Am. Mosq. Control Assoc.**, 6: 132-158.
- Lahkim-Tsrör, L., Poscar-Gluzman, C., Margalit J. and Barak Z., 1983, Larvicidal activity of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* serovar H-14 in *Aedes aegypti*: Histopathological studies, **J. Invertebr. Pathol.**, 41, 104-116.
- Lamy, M., Pastureaud, M.H., Novak, F., Ducombs, G., Vincendeau, P., Maleville, J., and Texier L., 1986, Thaumetopoein: An urticating protein from the hairs and integument of the pine processionary caterpillar (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff., Lepidoptera, Thaumetopoeidae), **Toxicon**, 24 (4), 347-356.
- Lebrun, P. and Vlayen, P., 1981, Etude de la bioactivite comparee et des effets secondaires de *Bacillus thuringiensis* H- 14, **Z. Angew. Ent.**, 91, 15-25.
- Lüthy, P., 1983, Self-digestion of the gut epithelium: A possible explanation for the mode of action of the endotoxin of *Bacillus thuringiensis*, **J. Invertebr. Pathol.**, 22, 139-140.
- Lynch, R.E., Lewis, L.C., Berry, E.C. and Robinson, J.F., 1977, European corn borer: Granular formulations of *Bacillus thuringiensis* for control, **J. Econ. Entomol.**, 70 (3), 389-391.
- MacGown, M.W. and Sikorowski, P.P., 1980, Histopathology of midgut of mass reared, irradiated boll weevils contaminated with *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus sp.*, **J. Econ. Entomol.**, 73: 81-87.
- Mathavan, S., Sudha, P.M. and Pechimuthu, S.M., 1989, Effect of *Bacillus thuringiensis israelensis* on the midgut cells of *Bombyx mori* larvae; A histopathological and histochemical study, **J. Invertebr. Pathol.**, 53, 217-227.

- Matur, A. and Ceber, K., 1988, The utilization of bacilli as larvicidal agents against anopheline and culicine mosquitoes in Turkey. I. Larvicidal activity of *Bacillus thuringiensis* serotype H-14, **J. Trop. Med. Hyg.**, 91, 229-230.
- Millikan, R., De Voto, E., Newman, B. and Savitz, D., 1995, Studying environmental influences and breast cancer risks: suggestions for integrated population-based approach, **Breast Cancer Res. Tr.**, 35: 79-89.
- Mück, V.O., Hassan, S., Huger, A.M. and Krieg, A., 1981, Effects of *Bacillus thuringiensis* Berliner on the parasitic Hymenoptera *Apanteles glomeratus* L. (Braconidae) and *Pimpla turionellae* (L.) (Ichneumonidae), **Z. Angew. Ent.**, 92, 303-314.
- Nurzhanova, A.A., Biyashev, G.Z. and Patakhova A., 1994, On the mutagenic effect and pesticide properties of organophosphorus compounds (with barley and barley aphid as example), **S. Kh. Biol.**, 1: 107-109.
- Öktem, H.A., 2001, Böceklere dayanıklı bitkilerin geliştirilmesi, Bitki Biyoteknolojisi, Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları, *Editörler: Özcan, S., Gürel, C., Babaoğlu, M.*, **Selçuk Üniversitesi Vakıf Yayınları**, 2, 208-238.
- Pekel, N., 1999, Isparta Orman Bölge Müdürlüğü ormanlarında çam kese böceği, *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.)'nın biyolojisi ve tabii düşmanlarının araştırılması, s. 52, Yüksek lisans Tezi, **S.D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü**, Isparta.
- Priester, T.M. and Georghiou, G.P., 1978, Induction of high resistance to permethrin in *Culex pipiens quinquefasciatus* **J. Econ. Entomol.**, 71, 197-200.
- Quinlan, R.J. and Lisansky, S.G., 1983, Microbial insecticides (*In Biotechnology*, Ed. H. J. Rehm and Reed. Weinheim, 233-254.
- Rauseli, C., Martinez- Ramirez, A.C., Garcia- Robles, I. and Real, M.D., 1999, The toxicity and physiological effects of *Bacillus thuringiensis* toxins and formulations on *Thaumetopoea pityocampa*, the pine processionary caterpillar, **Pestic. Biochem. Phys.**, 65, 44-54.
- Reisner, M.W., Feir, D.J., Lavrik, P.B. and Ryerse, J.S., 1989, Effect of *Bacillus thuringiensis kurstaki* δ -endotoxin on insect Malpighian tubule structure and function, **J. Invertebr. Pathol.**, 54, 175-190.

- Ryerse, J.S., Beck, Jr.J.R., Lavrik, P.B., 1990, Light microscope immunolocation of *Bacillus thuringiensis kurstaki* δ -endotoxin in the midgut and Malpighian tubules of the tobacco budworm, *Heliothis virescens*, **J. Invertebr. Pathol.**, 56, 86-90.
- Salama, H.S., Foda, M.S., Zaki, F.N. and Moawad, S., Aug., 1984, Potency of combinations of *Bacillus thuringiensis* and chemical insecticides on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae), **J. Econ. Entomol.**, 77 (4), 885-890.
- Sbrana, I. and Musio, A., 1995, Enhanced expression of common fragile site with occupational exposure to pesticides, **Cancer Genet. Cytogen.**, 82: 123-127.
- Schlehofer, B., Heuer, C., Blettner, M, Niehoff, D. and Wahrendorf J., 1995, Occupation smoking and demographic factors and renal cell carcinoma in Germany, **Int. J. Epidemiol.**, 24: 51-57.
- Shadduck, J.A., Singer, S. and Lause, S., 1980, Lack of mammalian pathogenicity of entomocidal isolates of *Bacillus sphaericus*. **Environ. Entomol.**, 9, 403-407.
- Shao, Z., Guo, Y. and Yu, Z., 2000, Effect of Cry I A δ -endotoxins of *Bacillus thuringiensis* on Mg⁺² ATP ase in the columnar cells of *Bombyx mori* midgut, **Entomol. Sinica**, 7 (2), 142-146.
- Shrivastava, S.P. Georghiou, G.P., Metcalf, R.L. and Fukuto, T.R., 1970, Carbamate resistans in mosquitoes, II. The metabolism of propoxur by susceptible and resistant *Culex pipiens fatigans* Wied, **Bull. WHO.**, 42, 932-942.
- Singh, G.J.P., Schouest, Jr. L.P. and Gill, S.S., 1986a, The toxic action of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*' in *Aedes aegypti* in vivo. I. The Relevance of midgut lesions to its poisoning syndrome, **Pestic. Biochem. Phys.**, 26, 36-46.
- Singh, G.J.P., Schouest, Jr. L.P. and Gill, S.S., 1986b, The toxic action of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*' in *Aedes aegypti* in vivo. II. The Relevance of skeletal muscle system lesions to its poisoning syndrome, **Pestic. Biochem. Phys.**, 26, 47-55.
- Singh, G.J.P., Schouest, Jr.L.P. and Gill, S.S., 1986c, Action of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* δ -endotoxin on the ultrastructure of house fly larva neuromuscular system in vitro, **J. Invertebr. Pathol.**, 47, 155-166.

- Singh, G.J.P. and Gill, S.S., 1988, An electron microscope study of the toxic action of *Bacillus sphaericus* in *Culex quinquefasciatus* larvae, **J. Invertebr. Pathol.**, 52, 237-147.
- Skatulla, V.U., 1971, Studies on the effects of *Bacillus thuringiensis* Berl. on *Bupalus piniarius* (L.) (Lep., Geom.), Part II, **Z. Angew. Ent.**, 69, 115-134.
- Smith, R.F., 1973, Considerations on the safety of certain biological agents for Arthropod control., **Bull. WHO.**, 48, 685-698.
- Spies, A.G. and Spence, K.D., 1985, Effect of sublethal *Bacillus thuringiensis* crystal endotoxin treatment on the larval midgut of a moth, *Manduca*: SEM study, **Tissue Cell**, 17 (3), 379-394.
- Steinhaus, E.A., 1967, Specific bacteria associated with insects, (*In Insect Microbiology*), Hafner Publishing Company, New York and London, 91-93.
- Suludere, Z., Kalender, Y., Çakmakçı, L., Alten, B., Ayvalı, C. ve Çetinkaya, G., 1992, Türkiye'nin çeşitli yörelerinden izole edilen bazı *Bacillus sphaericus* ve *Bacillus thuringiensis* suşlarının spor ve parasporal kristallerinin elektron mikroskopu ile incelenmesi, **Doğa, Tr. J. Agriculture and Forestry**, 16 (1), 1-14.
- Sutter, G.R. and Raun, E.S., 1967, Histopathology of European corn borer larvae treated with *Bacillus thuringiensis*, **J. Invertebr. Pathol.**, 9, 90-103.
- Suwalsky, M., Rodriguez, C., Villena, F., Aguilar, F. and Carlos, P.S., 1999, The pesticide hexachlorobenzene induces alterations in the human erythrocyte membrane, **Pestic. Biochem. Phys.**, 65, 205-214.
- Tomalak, M., Welch, H.E. and Galloway, T.D., 1989, Pathology of *Aphelenchoides ptyokteini* (Nematoda: Aphelenchidae) in the Malpighian tubules of *Pityokteines sparsus* (Coleoptera: Scolytidae), **J. Invertebr. Pathol.**, 53, 140-141.
- Travers, R.S., Faust, R.M. and Reichelderfer, C.F., 1976, Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* δ -endotoxin on isolated lepidopteran mitochondria, **J. Invertebr. Pathol.**, 28, 351-356.
- Vega, J.M., Moneo, I., Armentia, A., Fernandez, A., Vega, J., De La Fuente, R., Sanchez, P. and Sanchis, M.E., 1999, Allergy to the pine processionary caterpillar (*Thaumetopoea pityocampa*), **Clin. Exp. Allergy**, 29, 1418-1423.

- Viel, J.F. and Challier, B., 1995, Bladder cancer among French farmers: Does exposure to pesticides in vineyards play a part?, **Occup. Environ. Med.**, 52, 587-592.
- Vural, N., 1996, Toksikoloji, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No: 73, Ankara.
- Wasti, S.S., Mahadeo, C.R. and Knell, J.D., 1973, Larvacidal activity of the B exotoksin of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner against two species of flies, **Z. Angew. Ent.**, 74, 157-160.
- Watanabe, H. and Kobayashi, M. 1970, Histopathology of a granulosis in the larva of the fall webworm *Hyphantria cunea*, **J. Invertebr. Pathol.**, 16, 71-79.
- Werno, J., Lamy, M. and Vincendeau, P., 1993, Caterpillar hairs as allergens, **Lancet**, Vol.342, October
- Yaman, M., Demirbağ, Z. and Beldüz, A.O., 1999, Investigations on the bacterial flora as a potential biocontrol agent of chestnut weevil, *Curculio elephas* (Coleoptera: Curculionidae) in Turkey, **Biologia, Bratislava**, 54/6: 679-683.
- Yaman, M. and Demirbağ, Z., 2000, Studies of bacterial as potential microbial control agents of the large white butterfly, *Pieris brassicae* (Linnaeus) (Lepidoptera: Pieridae), **Afr. Entomol.**, 8 (1), 145-149.
- Yiallourous, M., Storch, V. and Becker N., 1999, Impact of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on larvae of *Chironomus thummi thummi* and *Psectrocladius psilopterus* (Diptera: Chironomidae), **J. Invertebr. Pathol.**, 74, 39-47.
- Zeren, V., Dikmen, N, Kumbur ve H. Toga, S., 1998, İçel ilinde tarımsal kesimde çalışan kişilerin plazmalarında kolinesteraz aktivite değişiminin araştırılması, **Türk Entomol. Derg.**, 12 (3), 199-205.

ÖZGEÇMİŞ

1978 Yılında Ankara'da doğdu. İlk, orta ve lise tahsilini Ankara'da tamamladı. 1995 yılında Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nü kazandı ve 1999 yılında Biyolog ünvanı alarak mezun oldu. Aynı yıl Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisansa başladı. 2001 yılında Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde Araştırma görevlisi olarak göreve başladı. Halen aynı göreve devam etmektedir. Bildiği yabancı dil İngilizcedir.

