

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

MELTEM UZUNHİSARCIKLİ

126019

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
(BİYOLOJİ)**

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Haziran 2002

ANKARA

Meltem UZUNHİSARCIKLİ tarafından hazırlanan *BACILLUS THURINGIENSIS* *KURSTAKI*'NİN *THAUMETOPOEA PITYOCAMPA* (LEPIDOPTERA: *THAUMETOPOEIDAE*) LARVALARININ ORTA BAĞIRSAK HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ adlı tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

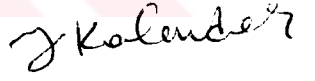


Doç. Dr. Yusuf KALENDER

Tez Yöneticisi

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

Başkan: Prof. Dr. Zehiye Suludere 

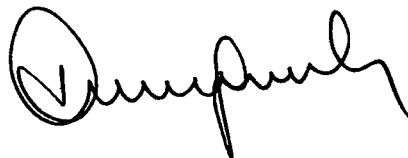
Üye : Doç. Dr. Yusuf Kalender 

Üye : Yrd. Doç. Dr. Selami Candan 

Üye :

Üye :

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



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	vi
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE METOT.....	27
2.1. Deney Hayvanlarının Yetiştirilmesi.....	27
2.2. Bakterilerin Hazırlanması.....	28
2.3. Bakterilerin Larvalara Uygulanması	28
2.4. Dokuların Elektron Mikroskobu İçin Hazırlanması.....	29
3. GENEL BİLGİ.....	30
3.1. <i>Thaumetopoea pityocampa</i> (Denis & Schiff.) 1775 (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) Larvalarının Biyolojisi.....	30
3.2. Böceklerde Sindirim Sisteminin Yapısı Ve Önemi	32
4. BULGULAR.....	34
4.1. <i>T. pityocampa</i> Larvalarında Orta Bağırsağın (Midgut) İnce Yapısı	34
4.2. <i>T. pityocampa</i> Larvalarına <i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> (B.t.k) Verildikten Sonra Orta Bağırsak Hücrelerinin İnce Yapısı	37
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ.....	60

***BACILLUS THURINGIENSIS KURSTAKI*'NİN *THAUMETOPOEA*
PITYOCAMPA (LEPIDOPTERA: THAUMETOPOEIDAE)
LARVALARININ ORTA BAĞIRSAK HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Meltem UZUNHİSARCIKLI

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Haziran 2002**

ÖZET

Bu çalışmada *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) larvalarının orta bağırsak hücreleri üzerine mikrobiyal bir insektisit olan *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin etkisi incelenmiştir. 3×10^8 bakteri/ml 4. evre larvaların besinleri üzerine püskürtülmüştür. Bakteri muamelesinden 1, 3, 6, 12, 24, 48, 60 saat ve 4 gün sonra *T. pityocampa* larvalarının orta bağırsak epitel hücreleri kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak geçirmeli elektron mikroskobunda incelenmiştir. Bakteri muamelesinden 1, 3 ve 6 saat sonra orta bağırsak hücrelerinin yapısında kontrol grubuna göre herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. Muameleden 12 saat sonra bazı epitel hücrelerinin mitokondrilerinde şişme ve sitoplazmalarında vakuoller meydana gelmiştir. Bakteri muamelesinden 24 saat sonra epitel hücrelerinde şişme, mikrovilluslarında azalma ve sitoplazmalarında vakuollerin sayısında bir artış

gözlenmiştir. Muameleden 48 saat sonra epitel hücrelerinde otofajik vakuollerin sayısında artış, çekirdek plazmasında çözümler tespit edilmiştir. Muameleden 60 saat sonra mitokondrilerde şişme ve kristalarında kırılmalar meydana gelmiştir. Bu safhada lizozomal yapıların sayısında artış gözlenmiştir. Bakteri muamelesinden 4 gün sonra epitel hücrelerinde dejenerasyon artmış, sitoplazmalarında erime ve çözümler meydana gelmiştir. Bakteri muamelesinden yaklaşık 5 gün sonra larvaların çoğunda ölüm gözlenmiştir.

Bilim Kodu :405.01.06

Anahtar Kelimeler :Mikrobiyal insektisitler, *Bacillus thuringiensis kurstaki*, *Thaumatococcus pinnatifidus*, Orta bağırsak, İnce yapı, Elektron mikroskobu

Sayfa Adedi :60

Tez Yöneticisi :Doç. Dr. Yusuf KALENDER

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

(M.Sc. Thesis)

Meltem UZUNHİSARCIKLİ

**GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

June 2002

ABSTRACT

In this study, the effects of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, a microbial insecticide, on midgut epithelial cells of *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) larvae were studied. 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, midgut epithelial cells of *T. pityocampa* larvae were studied under transmission electron microscope as compared with control group. 1, 3 and 6 hr after bacterial treatment, no differences was detected in the structure of midgut epithelial cells when compared to control group. Swelling in mitochondria in certain epithelial cells and formation of vacuoles in their cytoplasm were noticed at 12 hr after treatment. A decrease in the number of microvilli, an increase in the number of vacuoles taking place in the cytoplasm and swelling in epithelial cells were detected at 24 hr after bacterial treatment. Melting in nucleoplasma and an increase in the number of autophagic vacuoles in the cytoplasm of epithelial cells were of considerably noticed at 48 hr after treatment. Swelling in

mitochondria and breakage in their cristae occurred at 60 hr after bacterial treatment. Besides, in the cytoplasm, there was an increase in the number of lysosome. 4 days after bacterial treatment, degeneration in the epithelial cells was found to be increased and there was an melting in their cytoplasm. Approximately 5 days after treatment, most of the larvae were found to be death.

Science Code :405. 01. 06

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

Page Number :60

Adviser : Assoc. Prof. Dr. Yusuf KALENDER

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım sırasında büyük ilgi ve desteğini gördüğüm, bilgi ve görüşlerinden yararlandığım tez danışmanım, değerli hocam Doç. Dr. Yusuf KALENDER'e içtenlikle teşekkür ederim.

Ayrıca araştırmalarım sırasında her zaman destek olan ve değerli fikir ve görüşlerinden yararlandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Zekiye SULUDERE ve Yrd. Doç. Dr. Selami CANDAN'a, tırtılların toplanmasında ve bize ulaştırılmasında yardımcı olan Doç.Dr. Mehmet KANAT'a (Sütçü İmam Üniversitesi), aynı zamanda laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Araş. Gör. Ayşe ÖĞÜTCÜ ve Araş. Gör. Fatma AÇIKGÖZ'e teşekkür ederim.

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. <i>T. pityocampa</i> larvalarının yetiştirilmesinde kullanılan tel kafesler	27
Şekil 2.2. <i>T. pityocampa</i> 'nın 4. evre larvaları	28
Şekil 3.1. <i>T. pityocampa</i> larvalarının çam dallarındaki kesesi	31
Şekil 3.2. <i>T. pityocampa</i> larvalarında ön bağırsak, orta bağırsak ve arka bağırsak...	33
Şekil 4.1. Kontrol grubuna ait <i>T. pityocampa</i> larvalarının orta bağırsak epitel hücresi ve mikrovilluslardaki dallanmalar	34
Şekil 4.2. Kontrol grubu <i>T. pityocampa</i> larvalarının orta bağırsak epitel hücresinde yoğun olarak bulunan endoplazmik retikulum ve mitokondriler	35
Şekil 4.3. Kontrol grubu <i>T. pityocampa</i> larvalarının orta bağırsağında bulunan goblet hücresinin apikal bölgesi ve içeri doğru yaptığı mikrovillus benzeri katlanmalar	36
Şekil 4.4. Kontrol grubu <i>T. pityocampa</i> larvalarının orta bağırsağında bulunan goblet hücresinin bazal bölgesinde mikrovillus benzeri yapıların içinde bulunan mitokondriler	36
Şekil 4.5. Kontrol grubu <i>T. pityocampa</i> larvalarında bağırsağı dıştan kuşatan enine ve boyuna kas tabakası	37
Şekil 4.6. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 1 saat sonra orta bağırsak epitel hücresi	38
Şekil 4.7. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 3 saat sonra orta bağırsak epitel hücresinin çekirdeğinde ve goblet hücresinin mikrovilluslarında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir.....	38
Şekil 4.8. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 6 saat sonra orta bağırsak epitel hücresi	39
Şekil 4.9. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 12 saat sonra orta bağırsak epitel hücresindeki büyük vakuoller ve mitokondrilerde şişme.....	40
Şekil 4.10. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 12 saat sonra orta bağırsak epitel hücrelerinde otofajik vakuoller ve şişmiş ve elektron yoğunluğunu kaybetmiş mitokondriler.....	40

Şekil 4.11. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 24 saat sonra orta bağırsak epitel hücresinin sitoplazmasında görülen çok sayıda vakuol	41
Şekil 4.12. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 24 saat sonra orta bağırsak epitel hücresinde şişme, mikrovilluslarda azalma ve sitoplazmada kısmi erimeler	42
Şekil 4.13. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 48 saat sonra orta bağırsak epitel hücresindeki mitokondrilerde ve kristalarında şişme çekirdek plazmasında çözölmeler ve kromatin yığılmaları	43
Şekil 4.14. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 48 saat sonra orta bağırsak epitel hücresinde çok sayıda ve büyük çaplı otofajik vakuoller ..	43
Şekil 4.15. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 60 saat sonra orta bağırsak epitel hücrelerindeki lizozomal yapılar ve mitokondrilerde erimeler	44
Şekil 4.16. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 60 saat sonra orta bağırsak epitel hücrelerindeki mitokondrilerde aşırı şişme	45
Şekil 4.17. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 4 gün sonra orta bağırsak epitel hücrelerindeki şişme ve mikrovilluslarda azalma.....	45
Şekil 4.18. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 4 gün sonra orta bağırsak epitel hücrelerinin sitoplazmalarında erimeler	46
Şekil 4.19. <i>T. pityocampa</i> larvalarına <i>B.t.k.</i> verildikten 4 gün sonra orta bağırsak epitel hücrelerinin sitoplazmalarında erimeler ve meydana gelen zarlı yapılar	46

1. GİRİŞ

Orman ekosistemi dünyanın en kıymetli ekosistemlerinden biridir. Orman varlığı, ülkelerin hayatîyet ve medeniyet ölçüsü olarak kabul edilmektedir. Kaybolan ormanların yerine yenisini koymak, ya hiç mümkün olmamakta ya da uzun yıllar almakta ve büyük masrafları gerektirmektedir. Bu nedenle orman varlığının ciddi bir şekilde korunması ve tehlikelerin önlenmesine yönelik tedbirlerin alınmasına gerek vardır.

Ormanların varlık ve devamlılığını tehdit eden en önemli biyotik etkenlerden birisi zararlı böceklerdir. Türkiye’de uygun iklim şartları ve çeşitli bitki türlerinin bulunması, ormanlardaki böcek faunası içerisinde birçok böcek türünün yer almasına imkan vermektedir. Ülkemizde, bazı orman alanlarında çeşitli nedenlerle ekolojik dengenin bozulması, birtakım böceklerin sürekli, bazılarının ise periyodik zararlı duruma geçmelerine sebep olmuştur.

Zararlı böceklerin etkileri sadece ormanlık alanlarla sınırlı kalmamaktadır. Hızlı nüfus artışının beraberinde getirmiş olduğu kentleşme ve sanayi toplumu olma yolundaki ilerlemeyle birlikte her geçen gün tarım alanları azalmakta ve kişi başına düşen tarım ürünü miktarında düşüş olmaktadır. Geçmişte tarımsal ürün bakımından kendi kendine yeten ülke konumunda olan Türkiye şimdi birçok ülkeden tarımsal ürün ithal etmektedir. Bunun en önemli sebeplerinden biri de ekonomik olarak önemli olan bitkilerde zararlı böcekler ile olan mücadelenin bilinçli ve tam bir şekilde yapılmamasıdır.

Böcekler birçok hastalık etmenini taşımak suretiyle de (vektör olarak) insan ve hayvan sağlığı açısından tehdit oluşturmaktadır. Vektörler tarafından en yaygın olarak taşınan hastalıklar sıtma, sarı humma, humma, tifüs, beyin iltihabı gibi hastalıklardır. Bu hastalıkların vektörlüğünü yapan canlıların birçoğu kozmopolit olup, bulunduğu ortamlara uyum göstermektedirler. Özellikle karasinek ve sivrisinek gibi bazı dipter türleri bataklık, sazlık, göl ve deniz kenarlarında oldukça fazla

görülmektedirler. Aynı zamanda bazı böcekler insanlarda allerjiye sebep olmaktadır. Bu böceklerle temasta bulunan ya da aynı ortamı paylaşan kişilerde duyarlılığa bağlı olarak ürtiker, astım ve nezle meydana getirebilir.

Yakın zamanlara kadar söz konusu canlılara karşı kullanılan en önemli silah kimyasal maddelerden yapılmış olan ve pestisit adı verilen kimyasal insektisitlerdir. Ancak kimyasal insektisitlerin belirli bir süre sonra, çevre kirliliği meydana getirdiği ve bunun sonucu olarak da ekosistemi olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir. Kimyasal mücadelede kullanılan insektisitler hedef zararlıların dışındaki alanlara dağılarak çiçekler arasında tozlaşmayı sağlayan faydalı böceklerin ve bal arılarının ölümüne neden olmaktadır. Doğrudan ya da besin zinciri aracılığı ile insanlara ulaşarak akut ve kronik zehirlenmelere neden olmakta, buna bağlı olarak da gelecek nesilleri tehdit etmektedir. Tarım alanlarında kullanılan kimyasal insektisitler yağmur sularıyla derelere, göllere ve denizlere taşınarak balık türlerini ve diğer su ürünlerini olumsuz etkilemektedir. Kullanıldıkları alanlardaki bitkilerin çimlenmesi, vejetasyonu ve üremesi üzerinde de olumsuz yönde etkilere neden olmaktadır. Kimyasal insektisitlerin uzun süre kullanımı, hedef canlılarda direnç oluşturmaktadır. Dolayısıyla bir süre sonra kullanılan insektisitler etkisiz kalmaktadır. Sivrisineklere karşı yapılan kimyasal mücadele sonunda *Culex* türlerinin çeşitli organofosforlu insektisitlere, piretroidlere karşı direnç kazandığı tespit edilmiştir (Apperson and Georghiou, 1975; Priester and Georghiou, 1979).

Kimyasal insektisitlere maruz kalan memelilerde ve özellikle insanlarda çeşitli toksik etkiler meydana gelmektedir.

Araştırmacılar farklı test sistemlerine göre bazı organofosforlu pestisitlerin mutajenik etkiye sebep olduğunu bildirmişlerdir (Garry et al., 1990; Nurzhanova et al., 1994). Ziraat işçileri üzerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda lösemi gibi kanserlerin (Ciconne et al., 1993; Faustini et al., 1993), mesane kanseri (Viel and Challier, 1995), non-hodgkins's lenfoması (Sbrana and Musio, 1995), renal hücre kanseri (Schlehofer et al., 1995), beyin tümörü (Heineman et al., 1995), mide ve deri kanseri (Faustini et al., 1993) görülmesi oranlarını bildirmişlerdir. Birkaç çalışmada

da diğer canlı türlerinde organofosforlu pestisitlerin karsinogenik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Millikan et al., 1995; Sbrana and Musio, 1995).

Dere ve ark. (1995), yaptıkları çalışmada organofosforlu bir insektisit olan malathion'un farelerde yol açtığı bazı enzimatik değişimleri incelemişlerdir. Fareler üzerinde yaptıkları deney sonucunda karaciğerdeki enzim aktivitesinin bozulduğunu ifade etmişlerdir.

Organofosforlu bileşikler, solunum ve mide-bağırsak sistemi yolu ile absorbe olabildikleri gibi, deri yolu ile de önemli derecede absorbe olabilirler. Organofosforlu insektisitlerin en önemli özelliği, sinir sisteminin çalışmasında rol oynayan kolinesteraz enziminin aktivitesini inhibe ederek, geri dönüşü olmayan akut veya kronik zehirlenme meydana getirmektedir (Vural, 1996).

Zeren ve ark. (1998), İçel ilindeki tarımsal kesimde çalışan kişilerin plazmalarında kolinesteraz aktivite değişimini araştırmışlardır. Örnekler sera ve bahçe tarımı ile bizzat uğraşanlar, zirai ilaç bayileri, tüketici ve bütün gün serada çalışanlardan oluşturulmuştur. Pestisite maruz kalan bireylerin kolinesteraz düzeylerinde %24,71 oranında düşüş olduğunu tespit etmişlerdir. Bu nedenle, organofosforlu ilaç zehirlenmeleri kandaki kolinesteraz düzeyi ölçülerek ortaya çıkabilir. Normalin %20-25 altında olan enzim düzeylerinde solunum zorlukları, göğüste daralma, gözde yanma ve sulanma, uykusuzluk, dikkat dağılması gibi belirtiler meydana gelmektedir.

Yapılan bir başka çalışmada da hegzoklorobenzenli pestisitlerin insan eritrosit membranında sebep olduğu değişiklikler incelenmiştir. Hekzoklorobenzen lipofilik karakterli olup, yaşayan organizmalar ile etkileşimi sonucunda lipit bakımından zengin olan hücre zarlarını hedef almaktadır. Araştırmacılar taramalı elektron mikroskobu ile yaptıkları çalışmada hegzoklorobenzene maruz kalan insan eritrositlerinin normal bikonkav disk şeklini kaybettiğini ve kadeh şeklini aldığını tespit etmişlerdir (Suwalsky et al., 1999).

Bonamonte ve ark. (2001), yaptıkları bir çalışmada organofosforlu insektisitlerin (özellikle chlorpyrifos-methyl, fenthion, methidation, elinitroresol) kontakt dermatite sebep olduğunu bildirmişlerdir. Son yıllarda, tedbir alınmadan, koruyucu elbise ve eldiven giymeden, sık sık pestisitleri kullanan ziraat işçilerinin ellerinde, kollarında ve yüzlerinde lezyonların meydana gelmesine sebep olduğunu tespit etmişlerdir.

Günümüzde bu kadar çok dezavantajı olan kimyasal ilaçların yerini alabilecek en önemli metot biyolojik mücadeledir. Biyolojik mücadele, zararlı böceklerin yapmış olduğu zararları en aza indirmek için bu böceklerin doğal düşmanlarını kullanma olarak tanımlanabilir. Doğal düşman terimi, parazitler ve predatörlerle birlikte hastalık yapan organizmaları da kapsar. Ancak, hastalık yapan organizmaların kullanımı, genellikle mikrobiyal kontrol olarak adlandırılır. Virüsler, bakteriler, mantarlar, nematodlar ve rekombinant teknikler ile geliştirilen ajanlar biyolojik mücadelede kullanılan elemanları teşkil etmektedir. Kimyasal maddelerin birçok olumsuz etkisine karşılık biyolojik mücadelede kullanılan ajanlar çevreyi çok az şekilde etkilemektedirler.

Araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda tarım ve orman zararlılarına ve hastalık taşıyıcı vektörlere karşı entomopatojen nematodların etkilerini de incelemişlerdir ve adı geçen zararlılara karşı bazı nematod türlerinin de 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. Sonuç olarak *Aphelenchoides sp.*'nin kabuk böceklerinde doğru parazit olduğunu ve konukçunun dokularında ciddi patolojik değişikliklere, ağır enfeksiyonlara ve hatta ölüme sebebiyet verebileceğini açıklamışlardır.

Araştırmacılar tarım zararlılarına ve vektörlere karşı entomopatojen virüslerin etkilerini de incelemişlerdir. Yapılan araştırmalar sonucu zararlılara karşı virüslerin

de kullanılabileceğini açıklamışlardır (Federici and Stern, 1990; Bong and Sikorowski, 1991). Federici ve Stern (1990), *Harrisina brillans*'ın (Lepidoptera: Zygaenidae) larva ve erginlerinin orta bağırsakları üzerine Granülosis virüslerin etkilerini incelemişler ve orta bağırsak epitelinin hipertrofiye uğradığını göstermişlerdir. Araştırmacılar orta bağırsak epitel hücrelerinin mikrovilluslarında, bazal zarlarında, nükleuslarında ve goblet hücrelerinde bozulmaların olduğunu, bağırsak lümeninde çok sayıda serbest granülün bulunduğunu açıklamışlar ve bunların sonucu olarak altı gün içinde ölümlerin meydana geldiğini kaydetmişlerdir.

Bong ve Sikorowski (1991), yapmış oldukları bir çalışmada, mısır başak kurdu (*Helicoverpa zea*, Lepidoptera: Noctuidae) larvalarına sitoplazmik polyhedrosis virüsü (Reoviridae) ile muamele etmiş ve orta bağırsaklarında meydana gelen histopatolojik etkiyi incelemişlerdir. Sonuç olarak araştırmacılar taramalı elektron mikroskobu ve geçirmeli elektron mikroskobu ile yapmış oldukları çalışmada muameleden 1-2 gün sonra orta bağırsaktaki silindirik hücrelerde ve 5 gün sonra ise goblet hücrelerinde virüslerin varlığını tespit etmişlerdir. Silindirik epitel hücrelerinin enfeksiyondan 2 ya da 3 gün sonra bozulduğunu, enfeksiyonun ilerlemesiyle mikrovilluslarda, mitokondride ve granüllü endoplazmik retikulumda hasar meydana geldiğini, çekirdeğin belirginsizleştiğini açıklamışlardır.

Entomopatojen virüslerin biyolojik mücadelede olumlu sonuçlar verdiği halde doğal koşullarda bunların daha ileri yıllarda kontrol altına alınmasının zor olabileceği düşünülerek ve bakterilere oranla üretimlerinin daha zor olması, ekonomik bakımdan daha pahalı olması virüslerin bu alanda kullanılmasını kısıtlamış ve bu nedenle entomopatojen bakterilerin kullanılması daha da geçerli hale gelmiştir.

Bugün biyolojik mücadelede kullanılan metodların başında mikrobiyal insektisitler içinde yer alan bakteriler gelmektedir. Bu alanda kullanılan bakterilerin en önemlisi ise spor meydana getiren *Bacillus* grubu bakterilerdir. Mikrobiyal insektisitler üretim teknolojilerinin kolay ve sürekli olması, sadece hedef canlıya etki etmesi, zararlının kontrolünde güvenilir olması, çevre kirliliği ile ilgili problemler yaratmaması ve

endosporlarının tabiatta belirli bir süre kalması sebebiyle tercih edilmektedir (Smith, 1973; Anonymous, 1984).

Tarım zararlılarına ve vektörlere karşı kullanılan entomopatojenlerin büyük bir grubunu oluşturan ve toprak bakterilerinden olan *Bacillus* grubu bakteriler, lepidopter, dipter ve koleopter'leri 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 Rabirusu adı ile satılmaktadır. *B. popilliae* ise piyasada Doom, Japidemic ticari ismi ile bilinmektedir. *B. thuringiensis* bakterisi 2 tür toksik madde içermektedir. Birinci toksik madde beta toksik olup ticari ismi Biotoxksybacillin, Eksotoksin ve Toxobakterin'dir. İkinci toksin ise endotoksin olup, bu da 13 isimle piyasada bulunmaktadır. Ticari isimlerden piyasada en çok kullanılanları Agrotil, Bakthane, Bactospeine, Dipel ve Sporeine olarak sıralanabilir. Adı geçen bakteriler ise Amerika, Rusya, Fransa, Çekoslovakya ve Almanya'da üretilerek piyasaya sunulduğu kaydedilmektedir (Kalender, 1995). 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; Çakmakçı ve ark., 1988; Suludere ve ark. 1992; Kalender ve Kalender, 1995; 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 *B. thuringiensis aziawai*, *alesti*, *canadensis*, *dakota*, *galleria*, *entomocidus*, *japonensis*, *kenyae*, *morrissoni*, *moritai*, *popilliae*, *tenebrionis*, *thompsoni* sayılabilir (Kalender ve ark., 1999).

Gram pozitif bir bakteri olan *B. thuringiensis* ilk olarak 1902 yılında Japonya'da keşfedilmiştir. Daha sonra 1911'de bir un güvesi popülasyonundan, Berliner tarafından Thüringen'de (Almanya) yeniden izole ve karakterize edilmiştir. Bu

bakteriler sporulasyon esnasında insektisidal etki gösteren bazı yapılar oluşturmaktadırlar. Bu kristalize yapılar delta endotoksin olarak adlandırılan protoksinlerden oluşmaktadırlar. *B. thuringiensis* suşları sınırlı konukçu profili olan farklı kristalize proteinler üretmektedirler (Öktem, 2001).

Bacillus thuringiensis'in spesifik aktivitesi Cry genlerini şifre eden insektisidal kristal proteinleri tarafından yönetilmektedir ve koleopter, dipter ve lepidopter türlerine karşı aktiftirler. Diğer böcek takımları (Hymenoptera, Homoptera, Dictyoptera, Mallophaga) ve nematodlar (Strogylida, Tylenchida), keneler (Acari), at solucanı ve protozoalara (Diplomonadida) karşı spesifik *B. thuringiensis* aktivitesi tanımlanmıştır. İnsektisidal kristal proteinlerinin hedeflere karşı etkili olması sindirim sistemi yoluyla (WHO, 1999).

Günümüzde farklı *B. thuringiensis* izolatlarından 130'un üzerinde *B. thuringiensis* endotoksin geni izole edilmiş ve nükleotid dizileri belirlenmiştir. *B. thuringiensis* endotoksin proteinleri yapısal özellikleri ve konukçu profiline göre Cry-I, Cry-II, Cry-III ve Cry-IV olmak üzere dört farklı grupta değerlendirilmektedir. Bunlardan Cry-I toksinleri Lepidoptera üzerinde etki gösterirken, Cry-III toksinleri Coleoptera, Cry-IV ise Diptera üzerinde etkili olabilmektedir. Cry-II toksinlerinin ise hem Lepidoptera hem de Diptera üzerinde etkili oldukları bilinmektedir (Öktem, 2001).

Araştırmacılar entomopatojen bakterilerin doğada kullanımı sırasında endosporların rüzgar, yağmur gibi vasıtalarla çok büyük alanlara yayılacağını ve bakterilerin de doğada kontrol altına alınamayacağını varsayarak, bu bakterilere ister istemez memelilerin de maruz kalacağını düşünmüşlerdir. Bu sebeple mikrobiyal insektisitlerin memeliler üzerine etkisini de araştırmışlardır.

Shaddock ve ark. (1980), fare, sıçan ve tavşanlara intraserebral, intraoküler ve intraperitoneal yollarla, yüksek dozlarda uygulanan *B. sphaericus* ss-II-I, 1404-9 ve 1593 suşlarının deney hayvanlarında herhangi bir lezyon oluşturmadığını ve deneme sürecinde ölüm gözlenmediğini bildirmişlerdir.

Bir diğ er çalışmada da dişi farelerde çeşitli yollarla denen en *B. sphaericus* 2362, H-5a, 5b suşlarının tüm akut toksisite testlerinde farelerin davranışını etkilemediği, v c t ağırlığı, karaciğer, böbrek, dalak, kalp, adrenal bezler ve akciğerlerin ortalama ağırlığının kontrol grubuna göre değişmediği ve otopsi sonuçlarının normal olduğu görülmüştür (De Barjac et al., 1987).

Siegel ve ark. (1987), yaptıkları bir çalışmada fare, rat ve tavşanlarda *B. thuringiensis israelensis*'in toksisitesini test etmişlerdir. Mikrobiyal insektisiti intraperitoneal, oral ve aerosol yolla uygulamışlar ve ölüm gözlememişlerdir. Bunun sonucuna göre *B. thuringiensis israelensis*'in insanların bulunduğu bölgelerde güvenli bir şekilde kullanılabileceğini açıklamışlardır.

Boşgelmez ve ark. (1989), yaptıkları bir çalışmada,   el bölgesindeki topraklardan izole edilen böceklere etkili olan *B. sphaericus* 3302109 izolatu fare ve kobaylara perkutan, subkutan, introperitoneal, intravenöz, inhalasyon, oral ve göz irritasyonu olmak üzere yedi değişik yoldan verilmiş ve her bir inokulasyonda 2×10^8 stok süspansiyonu kullanmışlardır. Yapılan nekroskopi işlemlerinden sonra hayvanların karaciğer, kalp, beyin, dalak, böbrek ve adrenal bezleri alınıp tartılarak kontrol grubundaki hayvanlar ile karşılaştırılmıştır. Buna göre söz konusu bakterilerin memeliler için güvenilir olduğunu kaydetmişlerdir. Yine aynı labaratuvar çalışmaları sırasında bakterilerin fare karaciğer dokusu üzerine etkisi histolojik olarak incelenmiş ve sonuç olarak söz konusu bakterilerin karaciğer dokusu üzerinde herhangi bir histopatolojik etkiye sebep olmadığı anlaşılmıştır (Bozkurt, 1990).

 akmak ı ve ark. (1990), yaptıkları bir çalışmada,  skenderun bölgesindeki topraklardan izole edilen *B. thuringiensis* 310109 izolatu fare ve kobaylara perkutan, subkutan, introperitoneal, intravenöz, inhalasyon, oral ve göz irritasyonu olmak üzere yedi değişik yoldan verilmiş ve her bir inokulasyonda 2×10^8 stok süspansiyonu kullanmışlardır. Yapılan nekroskopi işlemlerinden sonra hayvanların karaciğer, kalp, beyin, dalak, böbrek ve adrenal bezleri alınıp tartılarak kontrol grubundaki hayvanlar ile karşılaştırılmıştır. Buna göre söz konusu bakterilerin memeliler için güvenilir olduğunu kaydetmişlerdir.

Kalender (1996a), yaptığı çalışmada *Mus musculus* böbrek dokusu üzerine *B. thuringiensis* var. *israelensis*'in histolojik etkisini incelemiştir. Bakterileri *M. musculus*'lara subkutan, intraperitoneal, oral, inhalasyon, intravenöz ve göz irritasyonu olmak üzere yedi değişik yoldan vermiştir. Her bir inokulasyonda yaklaşık mililitrede 2×10^8 bakteri kullanmıştır. Erkek ve dişi fareler bakteri verildikten bir ve üç ay sonra kesilerek böbrek dokuları çıkartılmış ve kontrol grubu farelerin böbrek dokuları ile karşılaştırılmıştır. Araştırmacı yaptığı incelemelerde böbrek dokusunda bakterinin etkisiyle meydana gelen herhangi bir histopatolojik bulguya rastlamamıştır.

Günümüzde mikrobiyal insektisitlerin kullanımı son derece yaygındır. Bunlar zirai mücadelede kullanıldığı kadar hastalık taşıyıcı ajanlara karşıda kullanılmaktadır. Bununla birlikte turizm bölgelerinde, park ve bahçelerde insanları rahatsız edici böcekler içinde kullanılmaktadır.

Garcia ve Desrochers (1979), yaptıkları çalışmada *B. thuringiensis* var. *israelensis*'in 1×10^5 bak/ml. dozda, Kaliforniya'da yaygın olarak bulunan 6 tür sivrisinek larvasında, laboratuvar şartlarında % 100 ölüme sebep olduğunu bildirmişlerdir.

MacGown ve Sikorowski (1980), yaptıkları bir araştırmada *Anthonomus grandis grandis*'in (Coleoptera: Curculionidae) *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus sp.* ile kontaminasyonu ve irritasyonu ile enfekte olmuş dokularda birkaç gün içinde bozulma görülmüş ve *A. grandis grandis*'in orta bağırsağında meydana gelen hasarın vaktinden önce ölümlere sebep olduğunu açıklamışlardır. Rejeneratif hücrelerde büzülme, fırça kenar epitelde boydan boya bozulma, bazal membranda bozulmalar ve sitoplazmada büyük vakuoller tespit etmişlerdir.

Müch ve ark. (1981), yaptıkları çalışmada *Apanteles glomeratus* L. (Hymenoptera: Braconidae) ve *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae) üzerine *B. thuringiensis* var. *kurstaki*'nin etkisini laboratuvar şartlarında incelemişlerdir. Bakterinin "Dipel" ticari preparatı yüksek dozlarda, 10^7 , 10^8 ve 10^9 spor/ml konsantrasyonlarda oral olarak uygulanmıştır. *A. glomeratus*'un 2 hafta içindeki

ölüm oranının son iki konsantrasyonda ($10^8 \rightarrow \%39$, $10^9 \rightarrow \%100$) önemli ölçüde arttığını gözlemişlerdir. 10^7 spor/ml konsantrasyonda ise ölüm oranı 14 gün sonra %6, 18 gün sonra %43 olarak belirlenmiştir. *P. turionellae* ise *A. glomeratus*'a göre daha az etkilendiği tespit edilmiştir. 10^7 , 10^8 ve 10^9 spor/ml konsantrasyonlarda 18 gün uygulanmasından sonra ölüm oranı sırasıyla 13, 18 ve 26'dır. Dipel'in 10^9 spor/ml oranında muamelesinden sonra *B. thuringiensis* endotoksinin *P. turionellae*'nin orta bağırsak epitelinde histopatolojik etkilere sebep olduğunu göstermişlerdir.

Klowden ve ark. (1983), yaptıkları bir çalışmada yetişkin *Aedes aegypti* sivrisineklerinin dişilerinin orta bağırsağı içine *B. thuringiensis* subsp. *israelensis* parasporal kristallerini şırınga ile vermiş ve zararlının bakterinin parasporal kristalleri tarafından öldürüldüğünü görmüşlerdir.

Narsaiah ve Jamil (1986), yaptıkları bir çalışmada *Culex pipiens* ve *Anopheles stephensi* sinek larvalarına karşı laboratuvar şartlarında *B. thuringiensis israelensis* (H- 14) (VCRC B. 17), *B. sphaericus* (VCRC B.64) ve *B. sphaericus* 1848'in etkisini test etmişlerdir. Belirledikleri LC_{50} ve LC_{90} değerlerine göre iki türün hassasiyetinin farklı derecede olduğunu ifade etmişlerdir. *B. sphaericus* 1848'in diğerlerine göre her iki sinek larvasına karşı daha çok toksik olduğunu göstermişler ve sonuç olarak üçünün nispi toksisitesini *B. sphaericus* 1848 > *B. thuringiensis* var. *israelensis* > *B. sphaericus* şeklinde sıralamışlardır. Test edilen nesillerin memeli ve diğer akuatik omurgalılara toksik olmadığını açıklamışlardır.

Sing ve ark. (1986a), *B. thuringiensis israelensis*'in *Aedes aegypti* larvalarının orta bağırsağı üzerine etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar sinek larvalarında zehirin ilerlemesi ile bir saat içinde besin yenmesinin durduğunu, ikinci saatte aktivitelerin azaldığını, dördüncü saatte son derece ağırlaştığını ve altıncı saatte vücudun tamamının paralize olduğunu tespit etmişlerdir. Muameleden bir saat sonra *B. thuringiensis israelensis* etkisi ile orta bağırsak epitelindeki fırça kenar mikrovillusların hasar gördüğünü, hücrelerin şiştiğini ve hücresel organellerde hasar meydana geldiğini kaydetmişlerdir. Muameleden altı saat sonra ise orta bağırsak

duvarında, peritrofik membranda kopmalar olduğunu, bazal laminanın kırılması sonucu hemosöl ve bağırsak lümeni arasında kanallar oluştuğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar beslenmenin kesilmesi ile epitel hücrelerinde şişmelerin olduğunu, mikrovillusların bozulduğu ve sitoplazmada boşluklar oluştuğunu, bağırsağın boyuna ve halkasal kaslarında hasar meydana geldiğini göstermişlerdir. Muameleli *A. aegypti* larvalarının Malpighi tüplerinde morfolojik bir bozulma göze çarpmamıştır. Dolayısıyla tübüllerin duvarında bir bozulma meydana gelmemiştir. Ancak hücreler şişmiş ve mikrovilluslarda zamana bağlı olarak şişme ve kopmalar meydana gelmiştir.

Sing ve ark. (1986b), *B. thuringiensis* var. *israelensis*'in *Aedes aegypti* larvalarının iskelet kas sistemi üzerine toksik etkisini incelemişlerdir. Buna göre yavaş yavaş sindirim sisteminin ve iskelet kas sisteminin yapısal bütünlüğünü kaybettiğini, genel vücut paralizi ile iskelet kas sistemindeki lezyonların yoğunluğu ve görünümünün zamana bağlı olarak arttığını ifade etmişlerdir. Bakteri ile muamele edilen sinek larvalarında; iskelet kaslarında şişmeler, plazma membranında miyofibrillerin altından ayrılmalar ve mitokondrilerin yapısal bütünlüğünde kaybolmalar olduğunu göstermişlerdir. Zehirin ilerlemesi ile *B. thuringiensis israelensis*'in sebep olduğu hasarın A bandı ve I bandına yayıldığını, bantlaşmanın kaybolduğunu, aynı zamanda iskeletsel miyoepidermal hücrelerinin de bozulduğunu, mitokondrilerin şiştiği ve endoplazmik retikulumların kaybolduğunu tespit etmişlerdir.

Sing ve ark. (1986c), yaptığı bir başka çalışmada *B. thuringiensis* var. *israelensis* δ -endotoksininin karasineklerin (*Musca domestica*) larvalarının sinir-kas sisteminin ince yapısı üzerine etkisini incelemişlerdir. Muameleden 5 dakika sonra mitokondrinin hasar gördüğü ve kasta zehirin ilerlemesiyle büyüklüğü ve sayısı artan vakuoller oluştuğu gözlenmiştir. 30 dakika sonra ise kasın yapısal bütünlüğünün tamamen hasar gördüğünü ifade etmişlerdir. Sinir kas sistemindeki çeşitli komponentlerin yani, sinir uçları, kas ve epidermal hücrelerin toksik etkiye çok daha hassas olduğunu ifade etmişlerdir.

Yine Sing ve Gill (1988), yaptıkları bir çalışmada *Culex quinquefasciatus* larvalarına *B. sphaericus*'un toksik etkisini incelemişlerdir. Muameleden 4 saat sonra besin yemenin kesildiğini ve 36 saat sonra ise vücudun tamamen paralize olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar orta bağırsakta, merkezi sinir sisteminde ve iskelet kaslarında çeşitli histopatolojik lezyonlar gözlemişlerdir. İlk olarak orta bağırsağın hücresel hasara uğradığını, merkezi sinir sisteminin ve iskelet kaslarının zayıflaştığını, daha sonra epitel hücrelerinin sitoplazmalarında lizozomların sayı ve büyüklük bakımından arttığını ve 36 saatte epitel hücrelerinin tamamen bozulduğunu 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. Orta bağırsağın bozulması, merkezi sinir sisteminin ve iskelet kaslarının lezyonlarının *B. sphaericus*'la muamele edilmiş sivrisinek larvalarında paralizin başlaması için önemli olabileceği bu sonuçlarla ileri sürülmüştür.

Matur ve Ceber (1988), *B. thuringiensis* H- 14' ü larvasidal ajan olarak *Anopheles sacharovi* ve *Culex pipiens*'e uygulamışlar ve her iki tür için LC₅₀ dozlarını tespit etmişlerdir.

Alten ve Boşgelmez (1990), yaptıkları bir çalışmada, doğal şartlar altında *Culex laticinctus* Edwards (Diptera: Culicidae) larvaları üzerine Muğla, Denizli, İçel ve İskenderun illerinden alınan su ve toprak örneklerinden elde edilen yerli ve yabancı çeşitli *Bacillus* izolatlarının etkisini çalışmışlardır. Sonuç olarak *B. sphaericus* İçel 3302120 kodlu izolatın 15, 30, 40 mg/lt konsantrasyonlarda sırasıyla %49, %98, ve %100 oranında larva ölümüne neden olduğunu bulmuşlardır. Bu sonuç, izolatın larval kontrolde en az yabancı suşlar kadar etkili olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda yabancı suşlar arasında özellikle 4 izolatın *B. sphaericus* 2362, 1593, 1591 ve *B. thuringiensis israelensis* H- 14 suşlarının her dozda %100 oranında larva ölümü sağladığını göstermişlerdir.

Yaman ve ark. (1999a), *Balaninus nucum* (Coleoptera: Curculionidae) ve *Euproctis chrysorrhoea*'ya (Lepidoptera: Lymantriidae) karşı daha etkili ve güvenli pestisit

bulmak için bu zararlılara karşı *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus (AcNPV), *Lymantria dispar* nuclear polyhedrosis virus (LdNPV) ve *Harry dumagae*'den izole edilen toksin (HD-1) ve *B. thuringiensis tenebrionis* (BTS-1) kullanılmıştır. Sonuç olarak *B. nucum* larvalarına karşı özellikle BTS-1 biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabileceği ve *E. chrysorrhoea* larvalarına karşı kontrol ajanı olarak HD-1'in kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Yaman ve ark. (1999b), Türkiye'de yaklaşık olarak yıllık kestane üretiminde %25-%30' luk ekonomik zarara sebep olan kestane kurdu *Curculio elephas*'ın (Coleoptera: Curculionidae) bakteriyel florasını incelemişler ve tanımladıkları bakterilerin insektisidal etkilerini test etmişlerdir. Morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testlere göre florada *Bacillus lentimorbus*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Esheria coli* bakterilerini tanımlamışlar ve *C. elephas*'ın 3. evre larvalarına karşı bu bakteriyel izolatların insektisidal aktivitesini incelemişlerdir. Sonuç olarak *C. elephas*'a karşı *B. lentimorbus*'un %32, *P. fluorescens*'in %20, *E. coli*'nin ise %0 insektisidal etkisi olduğunu tespit etmişlerdir.

Böceklerin büyük bir kısmı ekonomik zararlıdır. Tarım alanlarına musallat olarak ürün kalitesinin düşmesine sebep olmaktadır. Bu nedenle mikrobiyal insektisitler bu zararlıların kontrolünde de uzun süredir kullanılmaktadır.

Sutter ve Raun (1967), yaptıkları çalışmada *Osterinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyraustidae) larvalarına *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* parasporal kristalleri ile muamele yapıldıktan sonra epitel hücrelerinde meydana gelen histopatolojik değişiklikleri incelemişlerdir. *O. nubilalis* larvalarına *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* parasporal kristalleri yedirildikten sonra bağırsak epitel hücrelerinin lümene atılmasına sebep olduğunu ve böylece bazal membranın maruz kalan bölgelerine kristaller bağlandığını tespit etmişlerdir. Kristallerin bağırsak paralizini artırdığını ifade etmişlerdir. Bakteriyel sporlar larvalar tarafından alındıktan sonra hızlı bir şekilde üremektedir. Üreyen kristaller peritrofik membrandan geçerler ve bağlandığı orta bağırsak epitelini bozarlar, sonunda bazal membrandan geçerek hemolenfe karışırlar. Bağırsak içeriğinin hemolenf ile

karışması sonucu ise larvalar ölüyor. Yapılan çalışmalarda yaşayan larvaların hemolenfinde üreyen kristallere rastlanmamıştır. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada, epitel hücrelerinin birbirinden ve bazal membrandan ayrıldığını, goblet hücrelerindeki mikrovilluslarda meydana gelen bozulmalar sonucu bağırsak epitelinde boşlukların oluştuğunu bildirmişlerdir. Muamele yapılmayan larvalar da yoğun sitoplazma içinde lipit ve endoplazmik retikulumlara rastlanırken, bakteri ile muamele yapılan larvalarda sitoplazma içinde lipit ve endoplazmik retikulumlara rastlanmamışlardır. Muameleli larvaların apikal yüzeyinde gördükleri globüler sitoplazmik çıkıntıların ise normal dokuda nadiren görüldüğünü tespit etmişlerdir.

Skatulla (1971), yaptığı çalışmada *Bupalus piniarius* (L.) (Lepidoptera: Geometridae) üzerine *B. thuringiensis* Berliner eksotoksin bileşiminin etkisini çalışmıştır. *B. piniarius* larvalarına *B. thuringiensis* ekzotoksiniyle muamele edildikten 20 gün sonra ölüm oranı %100'e ulaştığını tespit etmiştir. Eksotoksinin 2 gün içinde ölen larvanın turgorunun düşmesinde etkili olduğunu gözlemiştir. Muameleden sonra şekil değişikliği gibi bir etki gözlememiştir. Eksotoksin uygulanmasından sonra pupanın ağırlığının azaldığını, ultraviyole ışınların artmasıyla *B. thuringiensis*'in patojenitesini bozduğunu ifade etmiştir. Araştırmacı *Bupalus* larvalarının *B. thuringiensis*'e olan hassasiyetlerini etkileyen faktörlerin yaş, direnç, populasyonun lokalitesi, fizyolojik yapı ve gelişim evresi olduğunu açıklamıştır. *Bupalus* larvalarının bağırsakları içinde *Bacillus* sporlarının multiplikasyonu ve germinasyonunu gözlememiştir.

Fast ve Donaghue (1971), yaptıkları çalışmada *Bombyx mori*'nin bağırsağında *B. thuringiensis* δ -endotoksininin etki şeklini incelemişlerdir. *B. mori*'ye bakteri ile muamele yapıldıktan 1 dakika sonra δ -endotoksinin hızlı bir şekilde glukoz yükselmesini teşvik ettiğini, ancak aminoasit ve karbonhidrat iyonlarını benzer şekilde etkilemediğini göstermişlerdir. Toksin ile muameleden sonra 10-20 dakika arasında bağırsak epitelinde genel metabolik bozulma meydana geldiğini tespit etmişlerdir.

Ali ve ark. (1973), yaptıkları çalışmada *B. thuringiensis* (Thuricide-HP) ile oral yolla LC₅₀ ve LC₉₀ dozlarına muameleli büyük mum güvesi *Galleria mellonella* L.'nin (Lepidoptera: Galleridae) 3. ve 5. evre larvalarının orta bağırsağındaki histopatolojik değişiklikleri incelemişlerdir. Larvaları *B. thuringiensis* ile enfekte ettikten 24-48 saat sonra patolojik etkiler kaydedilmiştir. LC₅₀ dozu ile muameleli 3. evre larvalarda 24 saat sonra epitel hücrelerinde bazal membrandan ayrılmalar ve uzamalar kaydedilmiştir. 48 saat sonra ise orta bağırsakta bozulma meydana gelmiştir. Epitel hücrelerin lümen içine atıldığı ve bazal membrandan ayrıldığı belirtilmiştir. LC₉₀ konsantrasyonda orta bağırsaktaki etki daha hızlı ve açıktır. Epitel hücrelerin uzaması ve bazal membrandan ayrılması 24 saat sonra daha fazla belirgin olduğunu, lümenin büyük miktarda atılan ve ayrılan epitel hücreleriyle dolu olduğu gösterilmiştir. LC₅₀ dozu ile muameleli 5. evre larvalarda 24 saat sonra epitelyal hücrelerin büyük kısmı uzarken bazı epitelyal hücrelerin ayrıldığı ve lümen içine atıldığı gösterilmiştir. LC₉₀ dozu ile muamele yapılmış 5. evre larvalarda epitel hücrelerinin büyük bir kısmında uzama meydana gelirken bir kısmının ise bazal kısımdan ayrılıp lümene atıldığını tespit etmişlerdir. 48 saat sonra epitelyal hücrelerin hepsi tamamen ayrılmış ve lümenin parçalanmış hücrelerle dolu olduğunu ifade edilmiştir.

Wasti ve ark. (1973), yaptıkları çalışmada *Orthellia caesarion* ve *Phormia regina*'ya karşı *B. thuringiensis* Berliner β -eksotoksinini test etmişlerdir. 2,5-100 ppm'e kadar çeşitli dozları uygulamışlar ve *O. caesarion* için LD₅₀ dozunu 8,65 ppm, *P. regina* için ise LD₅₀ dozunu 22,9 ppm olarak belirlemişlerdir. Aynı zamanda bakterinin etkisi ile bazı pupal deformasyonlarda tespit etmişlerdir.

Atva ve Abdel-Rahman (1974), yaptıkları çalışmada *Pieris rapae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae) larvalarına *B. thuringiensis*'i oral yol ile vererek, larvaların organ ve sistemlerinde farklı dokularda ve organlarda histopatolojik harabiyete sebep olduğunu göstermişlerdir. Muamele yapıldıktan 12 saat sonra orta bağırsak epitel hücrelerinde düzensizlik oluştuğunu, 18 saat sonra epitel hücrelerinin bazal membrandan ayrıldığını ve bozulduğunu tespit etmişlerdir. Epitelin bozulduğu bölgede maruz kalmış bağırsak kaslarının yakınında kan hücrelerinin biriktiğini,

enfeksiyonun ilerlemesiyle epitel tabaka bağırsak duvarındaki bozulmaların herbirinin duvarı homojen bir bazal tabaka ile çevrilidir. Bakteriyal enfeksiyonla malformasyon görülmüştür. Tübül hali bozulmuştur. Sitoplazmanında uzadığına di-

ye ayrılmalar meydana geldiğini ve orta duvarı göstermişlerdir. Malpighi tüplerinin duvarı ile çevrili birkaç hücreden oluşan bir tüp şeklinde larvaların Malpighi tüpçüklerinde bozulmuş ve çekirdekleri dejenere olmuş gözlemlenmiştir.

Creighton ve McFadden (1975), *Trichoplusia ni* (Hübner), *Pieris rapae* (L.) ve *Plutella xylostella* (L.) lahanası tırtıllarına *B. thuringiensis* sporlarını uygulayarak formülasyonlarının sporlarını uygulayarak formülasyonunun çözünmüş toz halinde larvalarda popülasyonunda daha büyük bir azalmaya sebep olduğunu belirtmişlerdir. *B. thuringiensis* spreyinin köpürtülmesi, püskürtülmesi bitkide yaralanmalara sebep olduğunu aydınlatmıştır. *B. thuringiensis* sıvı formülünden daha etkili olduğunu ifade etmişlerdir ve hiçbir formülasyonun *B. thuringiensis* var. *alesa* (Berliner) kadar bitki hasarını azaltmada etkili olmadığını bildirmişlerdir.

B. thuringiensis spor ve kristallerini uygulayarak larvalarda meydana gelen değişiklikleri incelemişlerdir. *B. thuringiensis* B-4027'in 1/1 oranındaki spor ve kristal karışımını uyguladıktan sonra 6 gün içinde 40 larvadan 20'sinde ölüm meydana gelmiş ve ölümden önce renklerinin açık kahverengi olduğunu belirtmişlerdir. B-4027 sporları %0,1 kristal ile zenginleştirilerek verildiğinde ise 6 gün içinde larvalarda herhangi bir semptom görülmemiştir, ölüm meydana gelmemiştir. B-4027 kristalleri %0,1 oranında zenginleştirilerek uygulandığında ise 2-3 saat içinde larvalara rahatsızlık vermiş ve kusmalarına sebep olmuştur. 2 gün içinde 40 larvadan 30'unda ölüm gözlenmiş, bu ölümlerden 24'ü ilk 24 saat içinde meydana gelmiştir. 6 günün sonunda ise 10 larvanın hala yaşadığını tespit etmişlerdir. *B. popillae* B-2309^b sporları uygulanan 40 larvadan 13'ünün hemolenfinde *B. popillae* vegetatif hücreleri bulunmuş fakat 6 gün sonunda herhangi bir semptom gözlenmemiştir.

Sharpe (1976), *Papilio japonica* (Lepidoptera: Papilionidae) larvalarına *B. thuringiensis* spor ve kristallerini uygulayarak larvalarda meydana gelen değişiklikleri incelemişlerdir. *B. thuringiensis* B-4027'in 1/1 oranındaki spor ve kristal karışımını uyguladıktan sonra 6 gün içinde 40 larvadan 20'sinde ölüm meydana gelmiş ve ölümden önce renklerinin açık kahverengi olduğunu belirtmişlerdir. B-4027 sporları %0,1 kristal ile zenginleştirilerek verildiğinde ise 6 gün içinde larvalarda herhangi bir semptom görülmemiştir, ölüm meydana gelmemiştir. B-4027 kristalleri %0,1 oranında zenginleştirilerek uygulandığında ise 2-3 saat içinde larvalara rahatsızlık vermiş ve kusmalarına sebep olmuştur. 2 gün içinde 40 larvadan 30'unda ölüm gözlenmiş, bu ölümlerden 24'ü ilk 24 saat içinde meydana gelmiştir. 6 günün sonunda ise 10 larvanın hala yaşadığını tespit etmişlerdir. *B. popillae* B-2309^b sporları uygulanan 40 larvadan 13'ünün hemolenfinde *B. popillae* vegetatif hücreleri bulunmuş fakat 6 gün sonunda herhangi bir semptom gözlenmemiştir.

Travers ve ark. (1976), yaptıkları çalışmada *Bombyx mori*'nin orta bağırsak epitelinden izole ettikleri mitokondriler üzerine *B. thuringiensis* var. *kurstaki*'nin etkisini incelemişlerdir. Endotoksinin ATP üretimini düşürücü önleyici etkisi olduğunu ve oksidatif fosforilasyonu etkilediğini tespit etmişlerdir. δ -endotoksininin sebep olduğu ATP ürün kaybı metabolizmanın dengesinin bozulmasına ve hatta hücre ölümüne sebep olabileceğini göstermişlerdir.

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

Araştırmacılar yaptıkları bir diğer çalışmada *Pieris rapae*, *Lymantria dispar* ve *Ephestia cautella* larvalarına *B. thuringiensis* δ -endotoksinini enjekte ettikten sonra orta bağırsak epitel hücrelerinin ince yapısını incelemişlerdir. *P. rapae* larvalarında bakteri enjeksiyonundan sonra zamana bağlı olarak orta bağırsak epitel hücrelerinde şişme, goblet hücrelerinin bazal zar katlanmalarında bozulma, mikrovilluslarda, mitokondrilerde ve endoplazmik retikulumlarda şişme tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, *L. dispar* ve *E. cautella*'nın goblet hücrelerinin bozulduğunu ifade etmişlerdir (Endo ve Nishiitsutsuji-Uwo, 1981).

Van Der Geest (1981), yaptığı çalışmada yaprak yapıştıran *Adoxophyes orana* (F. v. R.) (Lepidoptera: Tortricidae) üzerine *B. thuringiensis*'in etki şeklini incelemiştir. *A. orana*'nın 1. ve 2. evre larvalarını *B. thuringiensis*'in spor, kristal veya her ikisinin karışımı ile besleyip etkisine bakmıştır. *A. orana*'nın yalnız spor veya kristal kombinasyonu ile öldürülebildiğini ve güneş ışınlarındaki ultraviyole ışınların sporların degradasyonu ile *B. thuringiensis* preparasyonlarının zayıf bir kontrol

sağladığını bildirmişlerdir. Sonuçta ise böceklerin yalnız kristaller ile kolaylıkla öldürülebileceğini göstermiştir.

Boşgelmez ve ark. (1983), büyük mum güvesi *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Galleriidae) üzerine *B. thuringiensis*'in etkisini incelemişlerdir. *B. thuringiensis* suşunu 0.5- 1.0- 1.5- 2. 0- 2.5 ve 3.0 gr.'lık dozlar halinde *G. mellonella* larvalarına vermişler ve larva popülasyonu üzerinde etkili olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada genç larva evrelerinin 0.5 ve 1.0 gr. gibi düşük bakteri dozlarına dahi duyarlı olduğunu kaydetmişlerdir.

Salama ve ark. (1984), yaptıkları bir çalışmada yaprak kurdu *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) üzerine kimyasal insektisitler ve *B. thuringiensis*'in kombinasyonlarının etkilerini incelemişlerdir. *B. thuringiensis* var. *entomocidus*'un sporlaşma ürünleri üzerine farklı kimyasal gruplardaki insektisitlerin etkisini göstermişlerdir. Sonuç olarak *S. littoralis*'in kontrol edilmesi için *B. thuringiensis* ile pretroidlerin kombinasyonunun güvenli ve etkili bir araç olabileceğini ifade etmişlerdir

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

Kornoşor ve Oyartı (1989), yaptıkları çalışmada mısır zararlısı *Spodoptera exiqua* Hbn.'nın (Lepidoptera: Noctuidae) 3. evre larvalarına karşı bakteriyel preparat *B. thuringiensis* Berliner'in etkinliğini araştırmışlardır. Bakterinin larva midesine alınmasından 24 saat sonra etkinin ortaya çıktığı, 48 saat sonra etkinin arttığı, 72 saat sonra ise daha da etkili olduğu gözlenmiş, alınan bakterinin miktarına bağlı olarak ölümlerin meydana geldiğini belirtmişlerdir. Laboratuvar denemelerinde *B. thuringiensis* ile muamele görmüş *S. exiqua* larvalarının hareketlerinde uyuşukluk, dokunulduğunda uyarıda bir azalma, besin isteklerinde bir iştahsızlık ve ayrıca

hastalanmış larvalarda ölüme doğru renk koyulaşması, küçülme ve yumuşama görülmüştür.

Mathavan ve ark. (1989), *Bombyx mori* larvalarının orta bağırsak hücreleri üzerine *B. thuringiensis israelensis*'in etkisini incelemişlerdir. Toksinin peritrofik membranı ve epitel hücrelerini etkilediğini göstermişlerdir. Işık mikroskopuyla epitel hücrelerinin hipertrofiye uğradığını, sitoplazma ve çekirdekte vakuolleşmenin olduğunu, mikrovillusların bozulduğunu, plazma membranının hasar gördüğünü, bazal çizgide kaybolmalar, nükleusta nekrozlar, sitoplazmik organellerin yerleşiminde bozulmalar ve hücrede ayrılıp dağılmalar olduğunu göstermişlerdir.

Reisner ve ark. (1989), yaptıkları çalışmada *Calpodes ethlius* (Lepidoptera: Hesperidae) larvalarının Malpighi tüplerinin ürün transportu ve hücre yapısı üzerine *B. thuringiensis kurstaki* HD-73 δ -endotoksininin etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar endotoksini hem tüp lümenine hemde tüpçüklerin dışına vererek etkisini incelemişlerdir. Bakteriye maruziyet sonucunda ürün sekresyonunun durduğunu ve Malpighi hücrelerinde çeşitli patolojik etkilere sebep olduğunu göstermişlerdir. Lümen içine bakteri enjeksiyonundan sonra Malpighi tüpü hücrelerindeki sitoplazmik vakuollerde artış, bazal boşluklarda büyüme, mikrovilluslarda bozulma, apikal ve bazal zarda erimeler, granüllü endoplazmik retikulumda ve mitokondrilerde şişme ve sitoplazmik materyalin lümen içine aktığını tespit etmişlerdir. Bakteriyi Malpighi tüplerinin dışına yani hemosöle verdiklerinde ise yine sitoplazmik vakuollerde artış, bazal boşluklarda genişleme, bozulma ve erimeler, mikrovilluslar içinde bulunan mitokondrilerde şişmeler olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca sitoplazmik materyalin lümen içine aktığı ve bazal katlanmaların bazal laminadan uzaklaştığı ifade edilmiştir.

Spies ve Spence (1985), *Manduca sexta* larvalarının orta bağırsağı üzerine *B. thuringiensis* kristal endotoksininin etkisini yaptıkları taramalı elektron mikroskobu çalışmasıyla göstermişlerdir. Muamelenin erken evrelerinde goblet hücreleri ve silindirik hücrelerde şişmelerin meydana geldiğini ve silindirik hücrelerin mikrovilluslarında sayıca azalma ve boylarında kısalma olduğunu göstermişlerdir.

İlerleyen evrelerde silindirik hücrelerin sitoplazmasında vakuolleşmeler olduğunu ve goblet ve silindirik hücrelerin membranında kopmalar meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar larvalarda akut fazı takiben orta bağırsak dokusunun iyileştiğini ifade etmişlerdir.

Ryerse ve ark. (1990), tütün kapsül kurdu *Heliothis virescens* (Lepidoptera; Noctuidae) larvalarının orta bağırsak ve Malpighi tüplerinde *B. thuringiensis kurstaki* δ -endotoksinin membrana bağlandığı bölgeyi immunofloresans ışık mikroskobu kullanarak tespit etmişlerdir. Boyanmayı, maruz bırakılmış tüm mukozal (apikal mikrovilluslar) plazma membranı boyunca gözlemlemişlerdir. Aynı zamanda serozal (bazal) plazma membranı ve bazal laminanın da boyandığını ifade etmişlerdir. Sonuç olarak maruz kalan tüm plazma membranlarına toksinin bağlandığını tespit etmişlerdir.

Türkiye'nin çeşitli yörelerinden izole edilen 6 *B. sphaericus* ve 50 *B. thuringiensis* suşunun spor ve parasporal kristalleri elektron mikroskobu metodlarıyla ve insektisidal aktivite yoluyla mukayese edilmiştir. *B. sphaericus* suşlarından parasporal kristaller bulunamamış, *B. thuringiensis* suşlarında ise bipiramidal kristal, kübik kristal veya yuvarlak amorf yapılar bir arada veya ayrı ayrı bulunmuş veya hiç bulunamamıştır. *B. sphaericus*'un bütün suşları *Aedes aegypti* larvalarına toksik etki göstermiş fakat *Ephestia kuehniella* larvalarını etkilememiştir. Bunun aksine *B. thuringiensis*' in bazı suşları *A. egypti* ve *E. kuehniella* larvalarını öldürmüştür, bazı suşlar ise ne *A. aegypti*'ye ne de *E. kuehniella* larvalarına etkili olmuştur (Suludere ve ark. 1992).

Kalender (1995), yaptığı çalışmada, *Agrotis segetum* (Lepidoptera: Noctuidae) larvalarının Malpighi tüplerinin ince yapısını ve *B. thuringiensis* var. *kurstaki*' nin *A. segetum* larvalarının Malpighi tüpü hücrelerine ve ürik asit metabolizmasına etkisini incelemiştir. Mililitrede 1.85×10^5 bakteri bulunan solüsyondan, dördüncü evre larvaların hemosölüne 5 μ l. enjekte etmiştir. Araştırmacı zamana bağlı olarak Malpighi tüpü hücrelerinde şişme, vakuolleşme, organellerde bozulma, mikrovilluslarda şişmelerin olduğunu ifade etmiştir.

Kalender (1995), *B. thuringiensis* var. *kurstaki*'nin *Agrotis segetum* (Lepidoptera: Noctuidae) larvalarının sindirim sistemini ileum bölgesine etkisini incelemiştir. Mililitrede 1.85×10^5 bakteri bulunan solusyondan, 4. evre larvaların hemosölüne 5 µl. enjekte etmiş ve bakteri muamelesinden 12, 24 ve 48 saat sonra larvaların ileum bölgesini çıkararak geçirmeli elektron mikroskopunda kontrol grubu larvalarla karşılaştırılmıştır. 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 *Agrotis segetum* (Lepidoptera: 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 enje 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 tüplerini mukayese etmiştir. Muameleli larvaların Malpighi tüplerinde bulunan ürik asit miktarının yavaş yavaş azaldığını ve muameleden yaklaşık 44-50 saat sonra ölüm gözlemlendiğini belirtmiştir.

Erinç (1996), yaptığı çalışmada, *Agrotis segetum* (Denis & Schiff.) (Lepidoptera: Noctuidae) üzerine *B. thuringiensis* ve bazı kimyasal insektisitlerin histopatolojik etkilerini çalışmıştır. *B. thuringiensis* (Dipel WP) uygulamasından sonra orta bağırsakta epitel hücrelerin bazal kısımlarında belirgin olarak muhtemelen goblet hücrelerinin oluşturduğu boşluklar gözlemiştir. Apikal kısımlarında ise parçalanmalar oluşmuştur. Epitel hücre tabakasında yer yer genişlemeler ve bazal kısımdan ayrılmalara ile gruplaşmalar oluşmaktadır. Peritrofik zar, *B. thuringiensis* uygulamasından 6 saat sonra alınan kesitlerde halen belirgin olarak görülmektedir. Uygulamanın 24. saatinde alınan kesitlerde ise peritrofik zara rastlanmamaktadır. Epitel hücrelerin apikal kısımlarında vakuolleşmeler görülmüştür. Kasların çizgili yapıları yeteri kadar belirgin değil ve daha homojen bir yapı görünümündedir. Diğer

kimyasal insektisitlerle kombinasyonlarında da benzeri etkiler ortaya çıkmıştır. Ancak kombinasyonlar şeklinde uygulama ile etki süresinin büyük ölçüde kısaldığını belirtmiştir.

Yine başka bir çalışmada ise *B. thuringiensis*'in *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) larvalarının Malpighi tüpü hücrelerine etkisini incelemişlerdir. *B. thuringiensis* sporları larvaların besinlerine katılarak oral yolla verilmiştir. Muameleden 24 saat sonra Malpighi tüplerinin proksimal ve distal bölgelerinde bulunan hücrelerin sitoplazmasında erimeler tespit etmişlerdir. Bazal zar katlanmalarının ise kırıldığını bildirmişlerdir. Bunlara ilaveten mikrovillus ve mitokondrilerin eridiğini ve şiştiğini belirtmişlerdir. Muameleden 48 saat sonra ise larvalarda ölüm gözlemişlerdir (Kalender ve Kalender, 1997).

Yiallourous ve ark. (1999), *Chironomus thummi thummi* ve *Psectrosladius pilopterus*'un (Diptera: Chironomidae) 3. ve 4. evre larvaları üzerine *B. thuringiensis* var. *israelensis*'in etkisini bioassay ve elektron mikroskopuyla incelemişlerdir. Her iki türün de artan *B. thuringiensis* var. *israelensis* konsantrasyonuna karşı hassasiyet gösterdiğini ifade etmişlerdir. Yüksek *B. thuringiensis* var. *israelensis* konsantrasyonuna maruz bırakılan larvaların orta bağırsağındaki hücrelerin mitokondrilerinde şişme, bazal lamina ve hücreler arası alanda genişleme, Golgi kompleksinde bozulma, granüllü endoplazmik retikulumda ortak merkezli düzenlenme, lizozomlarda sayıca artma ve miyelinimsi yapılarda artış gibi çeşitli değişiklikler olduğunu belirtmişlerdir. Aynı zamanda bu etkilerin her iki türde gözlenmesine karşın, *C. thummi thummi*'de daha şiddetli olarak gözlediklerini ifade etmişlerdir.

Yaman ve Demirbağ (2000), yaptıkları çalışmada *Pieris brassicae* L.'nın (Lepidoptera: Pieridae) kontrolünde 4'ü sporsuz formda, 1'i sporlu formda 5 bakteri türü; *Xanthomonas compestris*, *Micrococcus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Bacillus sphaericus* kullanmışlardır. *X. compestris*, *P. brassica* larvaları üzerine en düşük %4 insektisidal aktiviteyi gösterirken, *Micrococcus* sp. %51, *P. aeruginosa* %67, *E.coli* %20, *B. sphaericus* %34 insektisidal etki

göstermiştir ve *Micrococcus* sp., *P. aeruginosa* ve *B. sphaericus*'un insektisidal etkisi yeterli bulunmuştur.

Shao ve ark. (2000), *Bombyx mori*'nin ATPaz'a bağlı Mg^{+2} aktivitesi üzerine *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 Cry1A δ -endotoksinin etkisini incelemişlerdir. Kimyasal lokalizasyonla peritrofik membran ve silindirik hücrelerdeki fırça kenar apikalindeki Mg^{+2} -ATPaz aktivitesi gösterilmiştir. Toksinin yüksek dozlarında in vivo olarak muamele yapılan larvaların orta bağırsağında ciddi hücresel patolojik değişiklikler gözlenmiştir. Yapılan çalışmada *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* ile muamele yapılan larvaların orta bağırsağında karakteristik patolojik değişiklikler tespit edilmiştir. Silindirik hücrelerin apikal kısmında küre şeklinde sitoplazmik çıkıntılar, organellerde bozulmalar, silindirik hücrelerde ayrılmalara, çekirdek zarında parçalanmalar ve mikrovilluslarda ciddi hasarlar gözlenmiştir. Aynı zamanda silindirik hücrelerde vakuolleşmeler olduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmalardan da anlaşılacağı gibi mikrobiyal insektisitlerin ve diğer mücadele metotlarının gerek tarım zararlılarına, gerekse vektörlere karşı etkisini inceleyen birçok araştırmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların büyük bir kısmı hayvanların sindirim sistemi üzerine etkisini konu almaktadır. Bunun yanı sıra zararlıların boşaltım sistemine, morfolojik yapılarına, kas dokusuna etkisi ile memeliler üzerinde güvenilirlik çalışmaları da ilgi konusu olmuştur.

Deneylerimizde kullandığımız çam keseböceği olarak bilinen *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiff.) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) Dünyada ve ülkemizde çok yaygın bir orman zararlısıdır. Türkiye'de özellikle Akdeniz, Ege, Marmara Bölgeleri başta olmak üzere Karadeniz sahil kesiminde de yaygın olarak bulunmaktadır. Başta kızıl çamlar (*Pinus brutia*) olmak üzere, diğer çam türlerinin konukçusu olup, özellikle larva döneminde bu ağaçların yapraklarını yiyerek ciddi boyutlarda zarar vermektedir. Çam türlerinin ülke ekonomimiz açısından ayrı bir önemleri vardır. Çamların odunu, reçinesi, katranı, tomurcukları, polenleri ve fıstıkları kullanılmaktadır. Çam kabukları tanen ihtiva eder ve deri endüstrisinde de kullanılmaktadır. Ağaç gövdeleri üzerinde yaralar açılarak reçine elde edilmektedir.

Bu madde bazı yakı ve merhemlerin terkbine girmektedir. Ayrıca kağıt, muşamba, sabun, boya ve cila sanayindeki yeri çok önemlidir. Reçine ise yurdumuzda sadece kızıl çamlardan elde edilmektedir. Çam katranı bilhassa otomobil lastiği yapımında kullanılmaktadır. Polenlerinde bulunan enzim ve vitaminlerden dolayı polenleri kuvvet verici ve vücut direncini artırıcı olarak kullanılmaktadır. *T. pityocampa*'nın ekonomik yönden bu kadar önemli olan çamlara verdiği zararın yanı sıra, larvalarının üzerinde bulunan kılın insanlara ve diğer memelilere verdiği zararda onlarla mücadele yapılmasını gerekli hale getirmiştir.

Ekosistem ve insan sağlığı açısından birçok zararı bulunan *T. pityocampa* ile mücadelede çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Pekel (1999) yaptığı çalışmada Isparta'da Orman Bölge Müdürlüğünün ormanlarında çam keseböceğinin biyolojisini ve tabii düşmanlarını araştırmıştır. Çalışması süresince çam keseböceğinin doğal düşmanlarından yumurta paraziti 2 tür, tırtıl paraziti 4 tür ve predatör 2 tür tespit etmiştir.

Breuer ve Devkota (1990), *T. pityocampa*'nın larvalarına *Melia azedarach* L. (Meliaceae) bitkisinin metanolik ekstraktının etkisini laboratuvar şartlarında incelemişlerdir. Tırtıllara *Melia* ekstraktının farklı konsantrasyonları (%1, %5 ve %10) püskürtülmüş *Pinus mugo* dallarının ince sürgünleri ile beslenmişlerdir. *Melia* ekstraktının artan konsantrasyonlarında yemenin kesildiği ve hayvanların ağırlık kaybettiğini kaydetmişlerdir. Yalnızca %10 ve %5'lik konsantrasyonlarda değil aynı zamanda %1'lik *Melia* ekstraktıyla muamele sonucunda da %100 ölüm gözlenmiştir. Ekstrak ile muamele yapılan genç larvalarda erginlere göre daha kısa sürede daha yüksek ölüm oranı elde edilmiştir.

Rausell ve ark. (1999), yaptıkları çalışmada *T. pityocampa*'ya *B. thuringiensis* toksininin etkisini incelemişlerdir. *B. thuringiensis* CryIB, CryIC ve CryIE toksinleri ve temel *B. thuringiensis* *T. pityocampa* larvalarına yedirilmiştir. CryIB larvalara karşı toksik etki gösterirken CryIC ve CryIE toksik etki meydana getirmemiştir. Aktif toksinin özellikle *T. pityocampa*'nın orta bağırsağında fırça kenar membrana bağlandığını ve orta bağırsak epitel hücrelerinde sitotoksik etki meydana getirdiğini

göstermişlerdir. Orta bağırsakta fırça kenar membranda bozulmalar, sitoplazmada vakuolleşmeler, hücrelerde ayrılma ve şişmeler meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Cry1C ve Cry1E ile muamele yapılan larvaların orta bağırsak epitelinde sitolojik değişiklik gözlenmemiştir.

Yapılan bir başka çalışmada da *T. pityocampa*'ya karşı *B. thuringiensis* Berl. var. *kurstaki* kullanılmasıyla ilgili görüşler bildirilmiştir. *T. pityocampa*'ya karşı uygulanan *B. thuringiensis* var. *kurstaki* ile % 20- %85 arasında ölüm oranı elde etmişlerdir. Aradaki bu fark ise hem uygulama dozunda hemde *T. pityocampa*'nın bazı popülasyonlarındaki parametrelerdeki çeşitliliğe bağlanmıştır (Battisti et al., 1998).

Aynı zamanda *T. pityocampa* larvalarının üzerinde bulunan kılların insanların ve diğer canlıların sağlığına olan olumsuz etkileride araştırmacıların dikkatini çekmiş ve bu konuda da çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Lamy ve ark. (1986), yaptıkları bir çalışmada *T. pityocampa* larvaları üzerinde bulunan kıllarından çeşitli elektroforetik ve immunoelktroforetik tekniklerle ayrılabilen, çözülebilir protein içeren tahriş edici kısmı ekstrakt etmişlerdir. Bu proteinlerin bazıları aynı zamanda hemolenfte ve kutikulda da bulunmuştur. 28.000 molekül ağırlığında bir proteinin tüye özel olduğu ve domuz derisinde reaksiyona sebep olduğu ifade edilmiştir. 13.000 ve 15.000 molekül ağırlığında iki alt birimden oluşan protein thaumetopoein olarak adlandırılmıştır.

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

Vega ve ark. (1999), *T. pityocampa* tırtıllarının sebep olduğu allerji konusunda çalışmışlardır. *T. pityocampa* tırtılları ile temasın toksik ve mekanik mekanizma ile deride ve gözde lezyonlara sebep olduğunu ve solunum rahatsızlıkları görüldüğünü ifade etmişlerdir. Mesleki bir şekilde maruz kalan işçilerde önemli semptomlar gözlendiğini, çok sık olarak maruz kalanlarda ise özellikle allerjik bireylerde anafilaktik reaksiyonlar meydana geldiğini belirtmişlerdir.

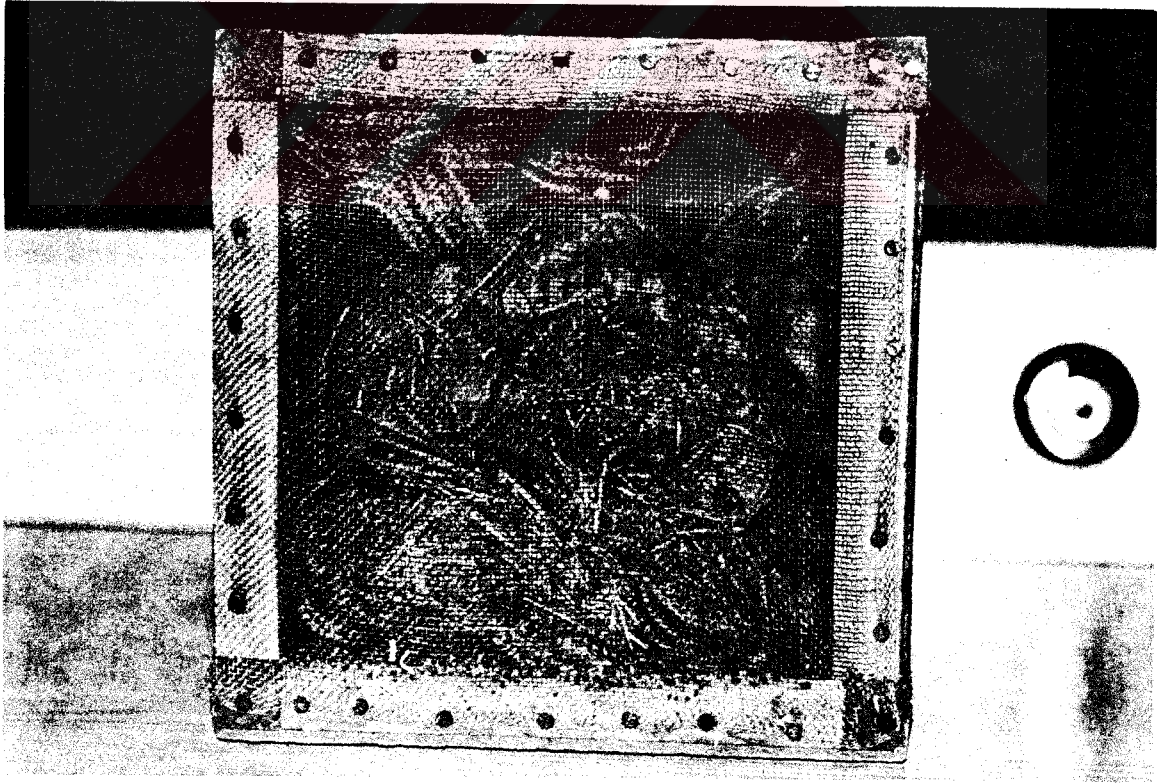
Bu çalışmada bir orman zararlısı olan am kese tırtılı (*T. pityocampa*) larvalarının orta bağırsak hücreleri üzerine bir mikrobiyal insektisit olan *B. thuringiensis kurstaki*'nin etkisi elektron mikroskopuyla incelenmiştir.



2. MATERYAL VE METOT

2.1. Deney Hayvanlarının Yetiştirilmesi

Bu çalışmada kullanılan *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiff., 1775) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) larvaları Kahramanmaraş Merkezdeki çam ağaçlarından toplanmış olup, Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı'nda teşhis edilmiştir. *T. pityocampa* larvaları laboratuvarında 30x 30x 30 cm ebatında tel kafesler içerisinde muhafaza edilmiştir (Şekil 2.1). Larvalar her gün iyice yıkanmış *Pinus nigra*'nın iğne yaprakları ile beslenmiştir. Deney aşamasında yüksekliği 23 cm ve çapı 11 cm olan ağzı tülbent ile kapalı plastik kavanozlara 30 adet larva konulmuştur. *T. pityocampa* larvaları 26 ± 1 °C'da, %60-70 nem oranında ve 12:12 fotoperiyot uygulanan laboratuvar şartlarında yetiştirilmiştir. Deneylerde *T. pityocampa* larvalarının 4. evreleri kullanılmıştır (Şekil 2.2).



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



Şekil 2.2. *T. pityocampa*'nın 4. evre larvaları

2.2. Bakterilerin Hazırlanması

Deneylerde kullanılan *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* ticari preparatı Mycogen Corporation, U.S.A. tarafından imal edilip, Hektaş Ticaret T.A.Ş. tarafından ithal edilmiştir. Ticari markası MVP Bioinsecticide'dir. Hazır olarak temin edilen ticari preparatta miligramda 10000 canlı bakteri bulunmaktadır. Deneylerde 3×10^8 bakteri/ml kullanılmıştır.

2.3. Bakterilerin Larvalara Uygulanması

T. pityocampa larvaları gece aktif oldukları için deneylere gece başlanmıştır. Deneylere başlamadan 48 saat önce larvaların beslenmesine son verilmiştir.

T. pityocampa'nın 4. evre larvalarına bakteriler suda çözülmüş olarak hazırlanan solüsyondan besinlerine püskürtülerek verilmiştir. Kontrol grubu larvalarına ise temiz *P. nigra* yaprakları verilmiştir.

Bakteri verildikten 1, 3, 6, 12, 24, 48, 60 saat ve 4 gün sonra larvalar disekte edilerek orta bağırsakları çıkartılmıştır.

Deneylerin her bir safhası için 4. evre larvalardan 3'er adet kullanılmıştır. Ayrıca her bir deney 3 tekrürlü yapılmıştır.

2.4. Dokuların Elektron Mikroskobu İçin Hazırlanması

Elektron mikroskobu için larvalar parafinli petri kaplarında disekte edilerek bağırsakları çıkartılmıştır. Bağırsak, içinde sodyum fosfat tamponu (pH: 7,2) bulunan saat camı içine alınarak orta bağırsak (midgut) çıkarılmıştır. Daha sonra dokular küçük penisilin şişeleri içine alınarak, sodyum fosfat tamponunda (pH: 7,2) hazırlanmış %3'lük Gluteraldehitte 3 saat bekletilerek ön fiksasyonu yapılmıştır. Dokular sodyum fosfat tamponunda (pH: 7,2) 3 değıştirme yapılarak toplam 1,5 saat yıkanmıştır. Daha sonra dokular sodyum fosfat tamponu (pH: 7,2) ile hazırlanmış %1'lik osmiyum tetroksit içinde (pH: 7,2) 1,5 saat bekletilerek son fiksasyonu yapılmıştır. Yine dokular sodyum fosfat tamponunda (pH: 7,2) 3 değıştirme yapılarak toplam 1,5 saat yıkanmıştır. Son olarak dokular yükselen alkol serilerinde 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 elektron mikroskobu filmine resimleri çekilmiştir.

3. GENEL BİLGİ

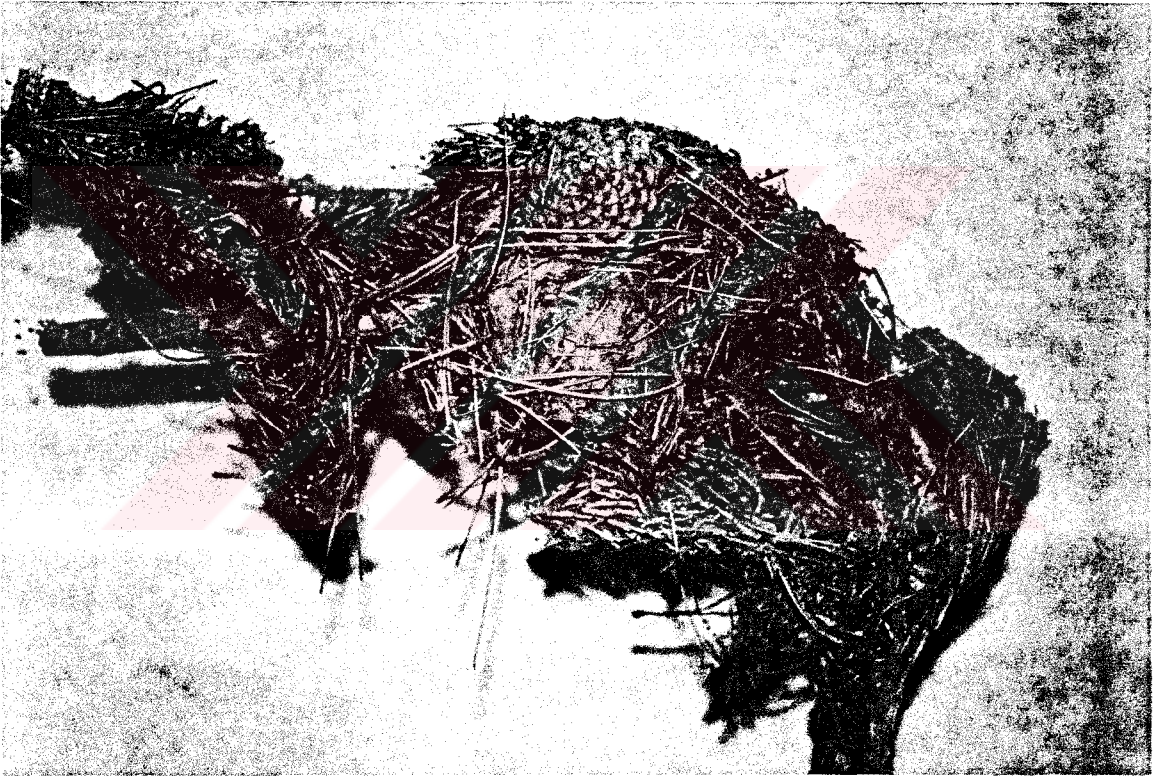
3.1. *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiff.) 1775 (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) Larvalarının Biyolojisi

Çam keseböceği olarak bilinen *T. pityocampa* dünyada çok yaygın olan bir orman zararlısıdır. Dünyada Güney’de Cezayir ve Filistin’in kuzeyinden başlayarak, Güney Almanya, Güney Fransa, İspanya ve İsviçre’de, Türkiye’de ise Akdeniz, Ege, Marmara Bölgeleri başta olmak üzere Karadeniz Bölgesi sahil kesimlerinde ve Orta Anadolu’da yayılış gösterip güneye bakan sıcak yamaçları tercih etmektedirler. Konukçuları genellikle kızıl çamlar (*Pinus brutia*) olup, diğer çam türleri (*P. nigra*, *P. sylvestris*, *P. maritima*, *P. halepensis*, *P. pinea*) ve sedir (*Cedrus libani*) gibi ibreli ağaçlar olup, besin kalmadığı zaman yapraklı orman ağaçlarında da zarar meydana getirmektedirler.

Larvaların vücudu beyaz kıllarla örtülüdür. Vücutta tüberküllerin üzerinde taşınan bu beyaz kılların etkisi de en az ormanlara verdiği zarar kadar önemlidir. Bu yakıcı kıllar insanlarda ve hayvanlarda allerjik reaksiyonlara, göz yanmalarına ve solunum sistemi rahatsızlıklarına sebep olmaktadır. Bu yakıcı kıllar rüzgarla çok uzak mesafelere uçabildiği için geniş bir alanda rahatsızlıklara neden olmaktadır (Demirsoy, 1990).

T. pityocampa erginlerinde 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. *T. pityocampa*’nın ergin bir dişisi yumurtaları iki iğne yaprağını biraraya getirerek yanyana helezon şeklinde bırakırlar. Bazen ergin dişilerin yumurtalarını 1 veya 3 hatta 4 iğne yaprak üzerine bırakmış oldukları görülmüştür. Mısır koçanı görünümünü alan yumurta kümesine “yumurta koçanı” adı verilmektedir. Bir koçanda ortalama 270 civarında yumurta mevcuttur. Ergin bireyler tarafından bırakılan yumurtalar yaklaşık olarak 30-45 gün sonra açılmaktadır. Yumurtadan ilk çıkan tırtıllar 1,5 mm, olgun tırtıllar ise 35-40

mm.'dir. Tırtılların sırtı açık kahverengi, yan tarafları sarımsıtrak esmer, karın kısmı ise sarımsıtrak kahverengidir. Vücutları bol kıllıdır. Ağustos başında çıkan larvalar toplu halde iğne yaprakları kemirirler. Burada ince ağlar örерler (Şekil 3.1). Daha sonra zarar yine gruplar halinde yeni yapraklara geçiş ve ağ örüş şeklinde devam eder. Her bir yuva bir öncekinden daha yukarıda yapılmakta, kışlık yuvalar daha çok dalların uç, çatal yerlerinde oluşturulmaktadır. Kışı ılık geçen bölgelerde zarar yıl boyu devam etmektedir. Bir kese içerisindeki larva sayısı 200 kadardır. Yılda bir döl verirler. 5 larva evresi geçirirler. Esas zarar larvalar tarafından meydana getirilmektedir (Pekel, 1999).



Şekil 3.1. *T. pityocampa* larvalarının çam dallarındaki kesesi

Gündüzleri gövde, dal ve çatallar üzerinde bir yığın meydana getirerek dinlenirler. Akşam güneş batmaya başlayınca ince dallara ve yapraklara göç etmeye başlarlar. Bu göç sırasında her hayvanın başı bir öndeki hayvanın arkasına değer. Ancak larvalar, hayvanların meydana getirdiği ipeğimsi bantla birbirine bağlıdır. Büyük topluluklarda başta bir, sonra iki, daha sonra üç ve artan sayılarda hayvanın oluşturduğu sürü ortaya doğru bir çeşit kama görünümü alır. Sürünün sonuna doğru

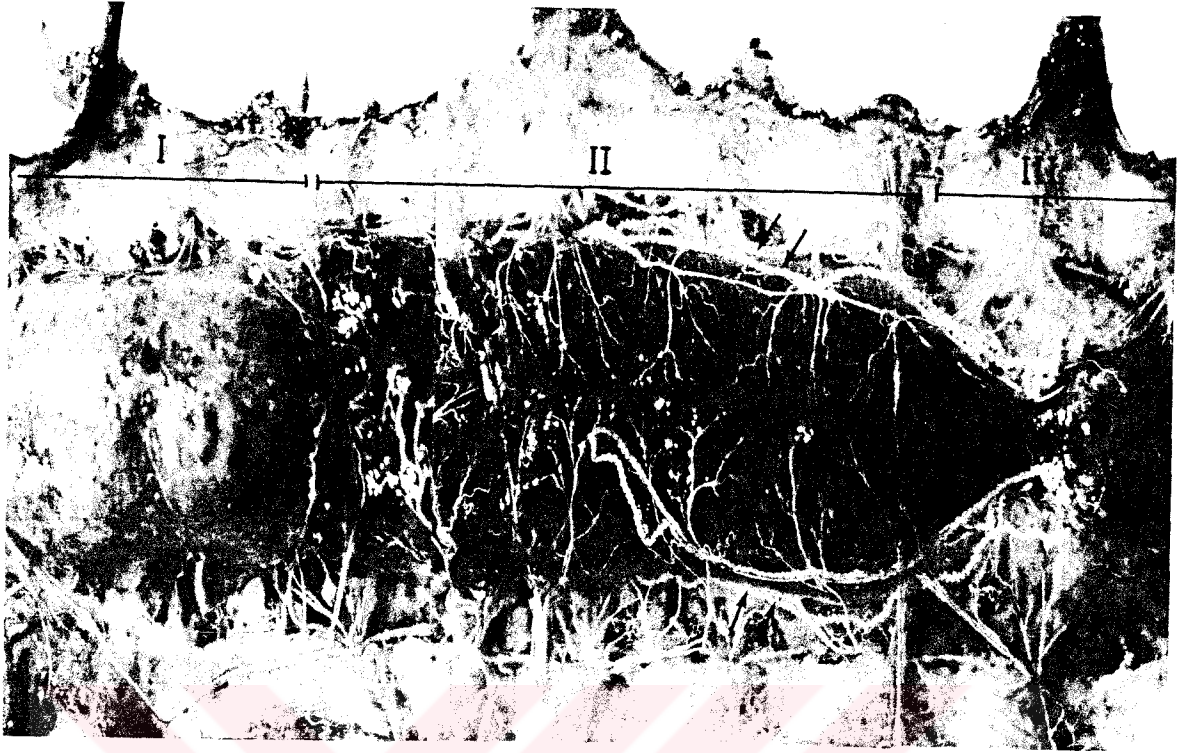
yine gittikçe bir daralma meydana gelir. Böyle bir sürü bir bilezikle çevrilirse sürü yorgun düşünceye kadar daire şeklinde döner. Örneğin büyük bir varil etrafında 7 gün boyunca dönebilirler. Sabahleyin tekrar dinlenme yerlerine çekilirler (Demirsoy, 1990).

T. pityocampa krizalitleri kırmızımtrak kahverengi olup, boyları yaklaşık olarak 20-25 mm, genişlikleri 8-10 mm'dir. Tırtıların toprağa girdiği yerler etrafa nazaran daha kabarık olmasıyla göze çarpar. Fakat bu fark zamanla kaybolur. Toprağa girme yerleri ağaçların tam dibinde değildir. Ağaçtan 2-3 m uzaktada kozalar bulunabilir. Tırtıların toprağa girme derinliği, toprağın fiziksel özelliklerine bağlı olup 2-30 cm arasında değişir. Krizalit dönemi 4 ay devam etmektedir. 4 ay sonra ergin hale gelerek topraktan çıkarlar. Ancak bu krizalitlerin tamamı aynı sene ergin hale gelmez. Çam kese böceği krizalitleri diyapoz halinde 4 sene toprak altında kalabilmektedir. Bu bakımdan her sene ortam elverdiğince bir kısmı erginleşir, bu nedenle ilk toprağa giren nesil birbirine karışabilmektedir. Beşinci seneye kalan krizalitler ise çürümektedir (Pekel, 1999).

3.2. Böceklerde Sindirim Sisteminin Yapısı Ve Önemi

Böceklerde sindirim sistemi vücutta boydan boya uzanan sindirim kanalı şeklinde olup, değişik bölge ve yapılarla farklılaşmaya uğramıştır. Bu kanalın duvar yapısında en içte bazal lamina üzerine oturmuş tek tabakalı epitel ve epiteli dıştan saran halkasal ve boyuna kaslar bulunur.

Böceklerde sindirim sistemi ön bağırsak (foregut), orta bağırsak (midgut) ve arka bağırsak (hindgut) olmak üzere üç bölgeye ayrılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. *T. pityocampa* larvalarında ön bağırsak (I), orta bağırsak (II), arka bağırsak (III) ve Malpighi tüpleri (→)

Ön bağırsakta en içte intima tabakası ve bunun hemen altında da epitel hücreleri bulunur. Ön bağırsak başta bulunan ağız açıklığından başlar ve orta bağırsağa kadar devam eder.

Orta bağırsak genellikle tek tabakalı silindirik epitelle astarlanmıştır. Epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde çizgi kenar mikrovilluslar bulunur. Bazı türlerde epitel hücreleri farklılaşarak goblet hücrelerini, endokrin hücreleri ya da rejeneratif hücreleri meydana getirebilirler. Epitel hücrelerinin hemen altında ince bir bağ dokusu bulunabilir. Böceklerde bağırsağın yapısı beslenme durumlarına göre farklılık gösterir.

Arka bağırsak (hindgut), ön bağırsak gibi intima tabakası içerir. Arka bağırsak pilor, ileum ve rektum olmak üzere üç kısımdan meydana gelmiştir.

4. BULGULAR

4.1. *T. pityocampa* Larvalarında Orta Bağırsağın (Midgut) İnce Yapısı

T. pityocampa larvalarının orta bağırsağında bulunan epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde çok sayıda ve uzun mikrovilluslar bulunmaktadır. Bu mikrovillusların bazıları sitoplazmadan çıktıktan sonra dallanmalar yapmaktadırlar. Mikrovillusların aralarında çok sayıda pinositik kesecik görülmektedir. Mikrovillusların hemen altında bulunan sitoplazma organel bakımından son derece zayıftır. İç tarafta kalan sitoplazma organel bakımından zenginlik göstermektedir. Sitoplazmada lizozomal yapılar ve otofajik vakuoller görülmektedir (Şekil 4.1). Bununla beraber sitoplazmada mitokondriler ve granüllü endoplazmik retikulumlar yoğun olarak bulunmaktadır (Şekil 4.2). Epitel hücreleri kaidede bazal lamina üzerine oturmuşlardır.



Şekil 4.1. Kontrol grubuna ait *T. pityocampa* larvalarının orta bağırsak epitel hücresi ve mikrovilluslardaki (Mv) dallanmalar (→), L: Lizozomal yapılar X6750

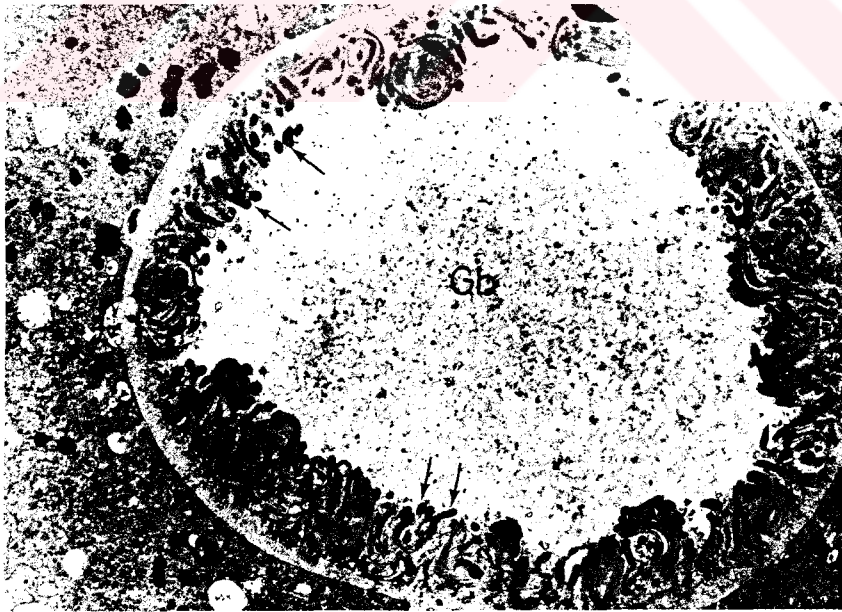


Şekil 4.2. Kontrol grubu *T. pityocampa* larvalarının orta bağırsak epitel hücresinde yoğun olarak bulunan endoplazmik retikulum (→) ve mitokondriler (➡), Mv: Mikrovillus X6750

T. pityocampa larvalarının orta bağırsağında fazla sayıda goblet hücresi de bulunmaktadır. Bu hücreler silindirik epitel hücrelerinin arasında yer almaktadırlar. Bu hücrelerin zarları hücre içine doğru katlanarak mikrovillus benzeri yapılar oluşturmaktadır (Şekil 4.3). Goblet hücrelerinin bazal tarafında bulunan mikrovillus benzeri yapıların içinde mitokondriler bulunmaktadır (Şekil 4.4)



Şekil 4.3. Kontrol grubu *T. pityocampa* larvalarının orta bağırsağında bulunan goblet hücresinin apikal bölgesi ve içeri doğru yaptığı mikrovillus benzeri katlanmalar (→), Gb: Goblet boşluğu, Mv: Mikrovillus X6750



Şekil 4.4. Kontrol grubu *T. pityocampa* larvalarının orta bağırsağında bulunan goblet hücresinin bazal bölgesinde mikrovillus benzeri yapıların içinde bulunan mitokondriler (→), Gb: Goblet boşluğu X5000

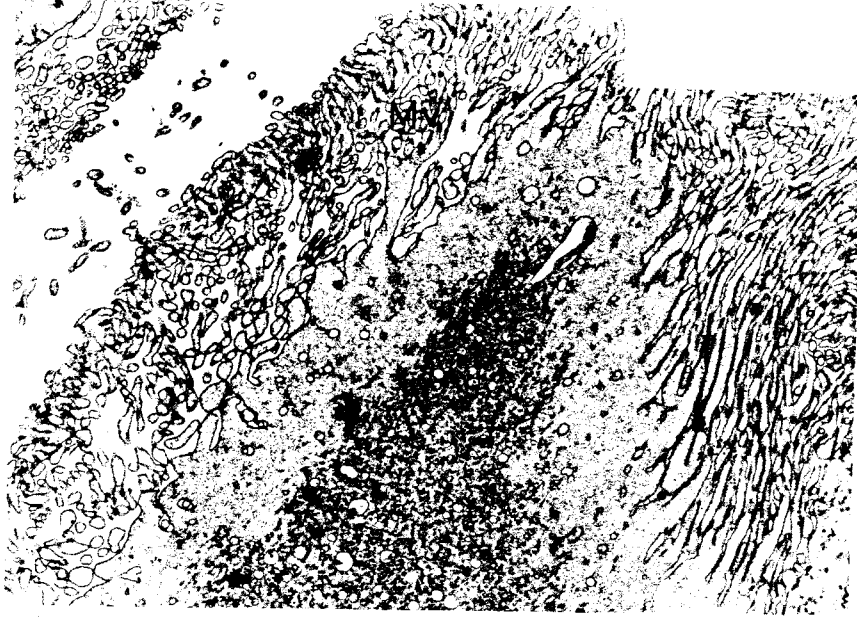
T. pityocampa larvalarının orta bağırsağını dış taraftan kas tabakası kuşatmaktadır. Bu kas tabakası boyuna ve enine olmak üzere 2 tabaka halinde uzanmaktadır (Şekil 4.5).



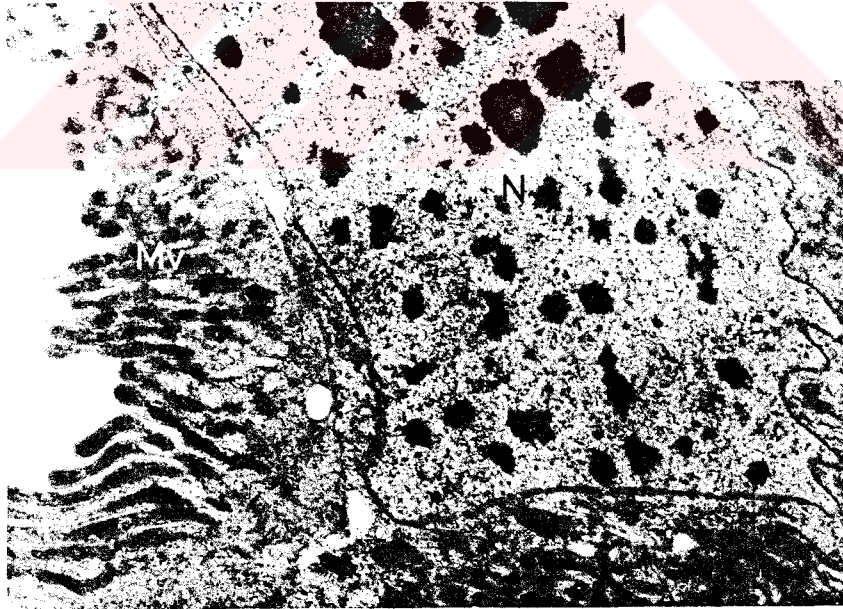
Şekil 4.5. Kontrol grubu *T. pityocampa* larvalarında bağırsağı dıştan kuşatan enine (★) ve boyuna (▲) kas tabakası, E: Epitel hücresi, →: Mitokondri, ◆: Bazal lamina X7250

4.2. *T. pityocampa* Larvalarına *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (B.t.k) Verildikten Sonra Orta Bağırsak Hücrelerinin İnce Yapısı

T. pityocampa larvalarına bakteri verildikten 1, 3 ve 6 saat sonra orta bağırsak hücrelerinin yapısında kontrol grubuna göre herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. Hücrelerin mikrovilluslarında, organellerinde ya da çekirdeklerinde bir değişiklik meydana gelmemiştir (Şekil 4.6, 4.7, 4.8).



Şekil 4.6. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 1 saat sonra orta bağırsak epitel hücresi, Mv: Mikrovilluslar X6750

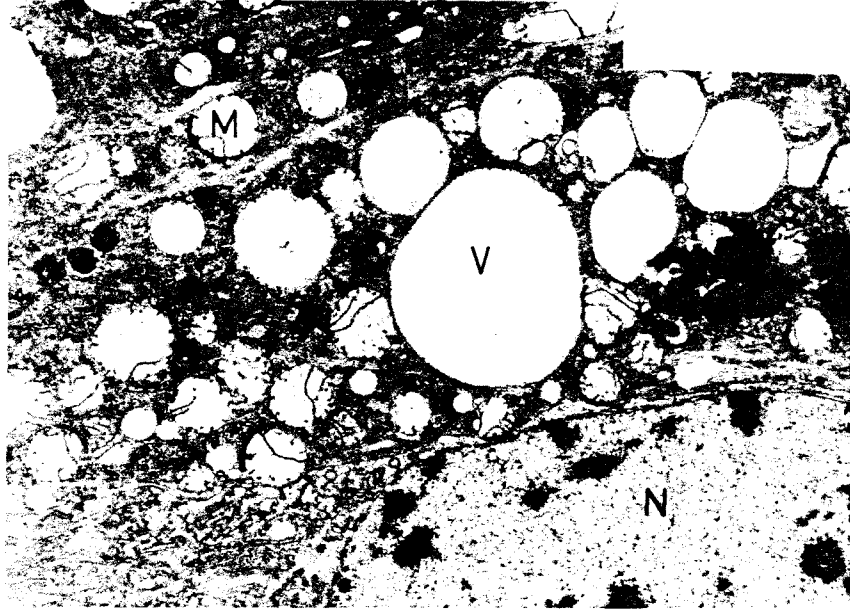


Şekil 4.7. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 3 saat sonra orta bağırsak epitel hücresinin çekirdeğinde (N) ve goblet hücresinin mikrovilluslarında (Mv) herhangi bir farklılık gözlenmemiştir X10000

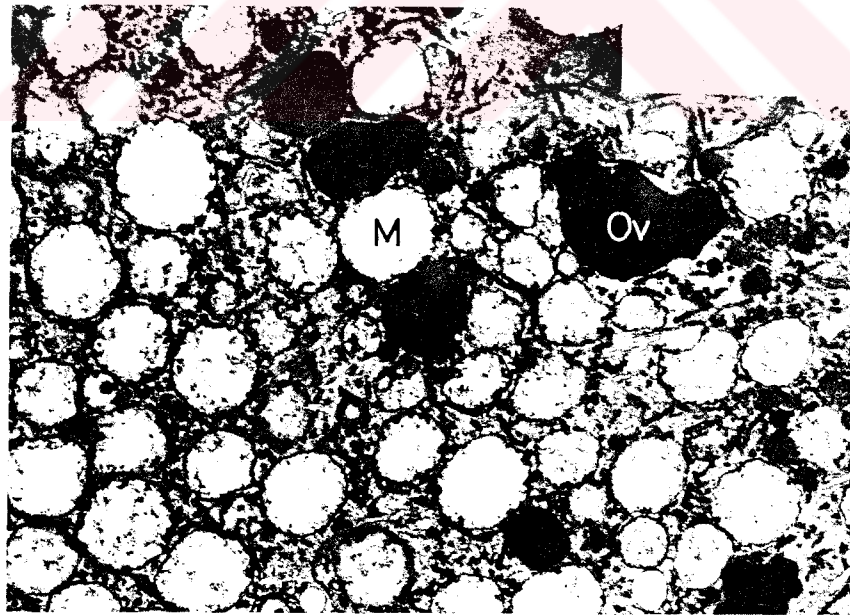


Şekil 4.8. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 6 saat sonra orta bağırsak epitel hücresi, Mv: Mikrovillus, →: Mitokondri, ➡: Otofajik vakuol X5000

T. pityocampa larvalarında bakteri muamelesinden 12 saat sonra orta bağırsak epitel hücrelerinin ince yapısında kontrol grubuna göre farklılık gözlenmiştir. Bazı epitel hücrelerinin sitoplazmasında farklı büyüklükte vakuoller meydana gelmiş, mitokondrilerinin şiştiği gözlenmiştir. Bazı mitokondrilerin kristallarının normal yapısını muhafaza ettiği ancak mitokondri matriksinin elektron-yoğun yapısını kaybettiği tespit edilmiştir (Şekil 4.9). Bazı epitel hücrelerinde ise mitokondrilerin kristallarının tamamen kaybolduğu ve mitokondrilerin temiz vakuoller meydana getirdiği gözlenmiştir. Bu hücrelerin sitoplazmasında çok sayıda küçük vesiküllere rastlanmıştır. Yine bu hücrelerde otofajik vakuollerin sayısında bir artış tespit edilmiştir (Şekil 4.10).

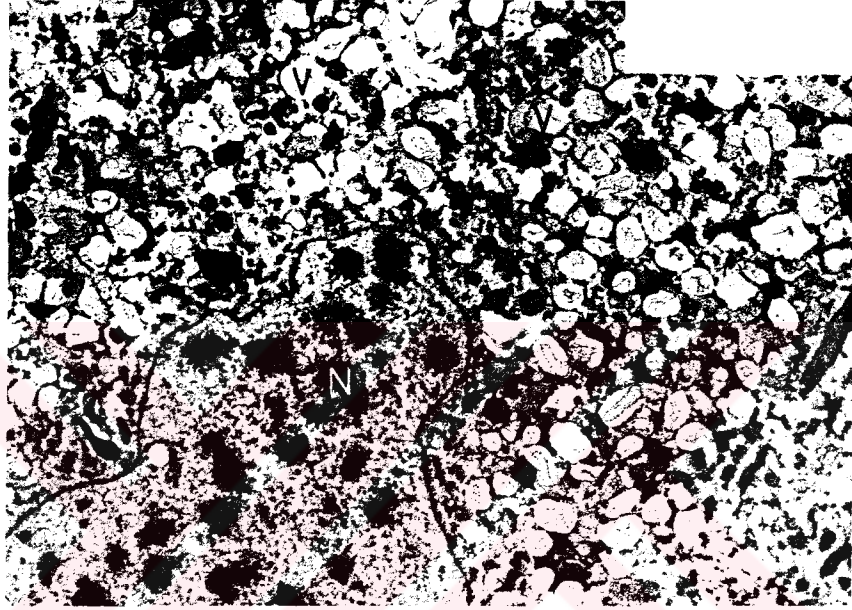


Şekil 4.9. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 12 saat sonra orta bağırsak epitel hücresindeki büyük vakuoller (V) ve mitokondrilerde şişme (M), N: Nukleus X10000

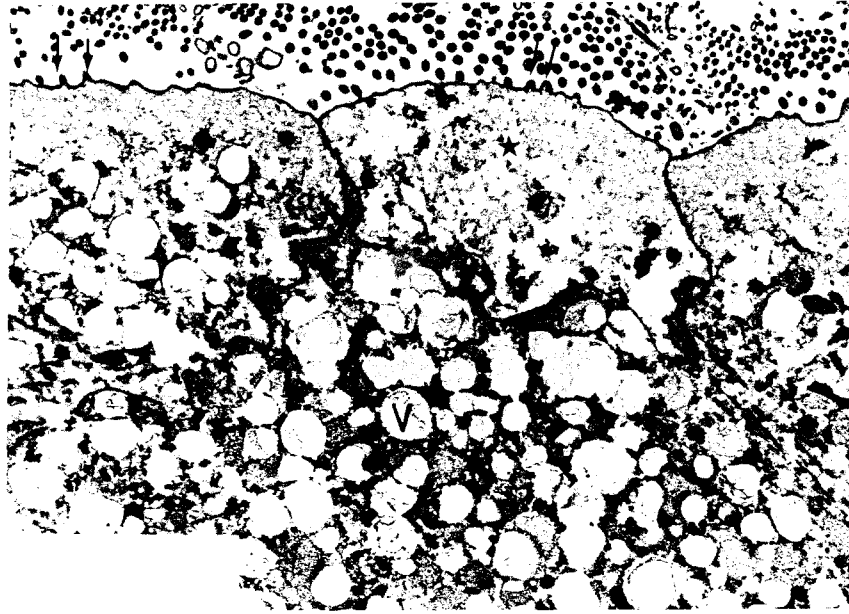


Şekil 4.10. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 12 saat sonra orta bağırsak epitel hücrelerinde otofajik vakuoller (Ov) ve şişmiş ve elektron yoğunluğunu kaybetmiş mitokondriler (M) X10000

T. pityocampa larvalarında bakteri muamelesinden 24 saat sonra orta bağırsak epitel hücrelerinin sitoplazmasında çok sayıda vakuoller gözlenmiştir. Bu vakuollerin içinde artık yapıların olduğu tespit edilmiştir. Sitoplazmada organeller kaybolmuştur (Şekil 4.11). Epitel hücrelerinde şişme ve apikal yüzeydeki mikrovilluslarda azalmalar gözlenmiştir. Yine apikal sitoplazmada çözölmeler ve erimeler meydana gelmiştir (Şekil 4.12).

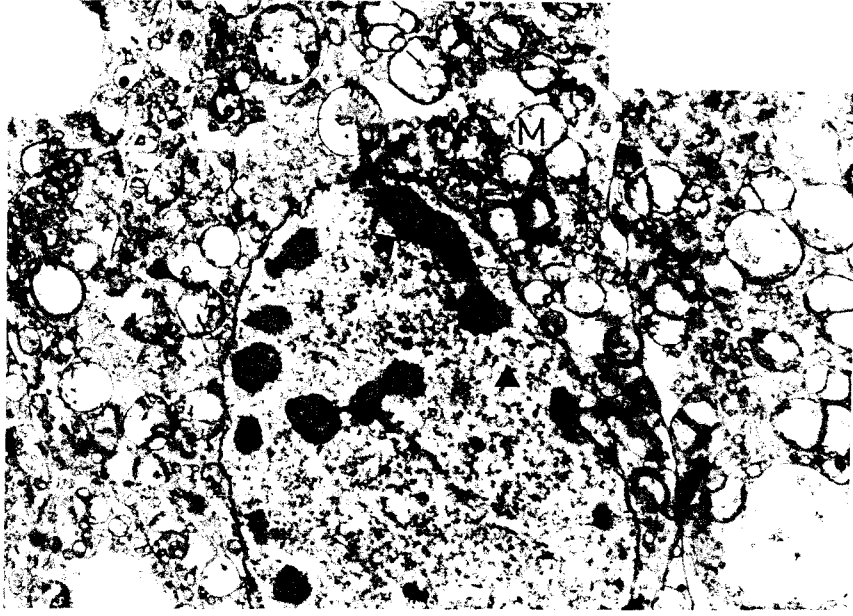


Şekil 4.11. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 24 saat sonra orta bağırsak epitel hücresinin sitoplazmasında görölen çok sayıda vakuol (V), N: Nukleus X7250

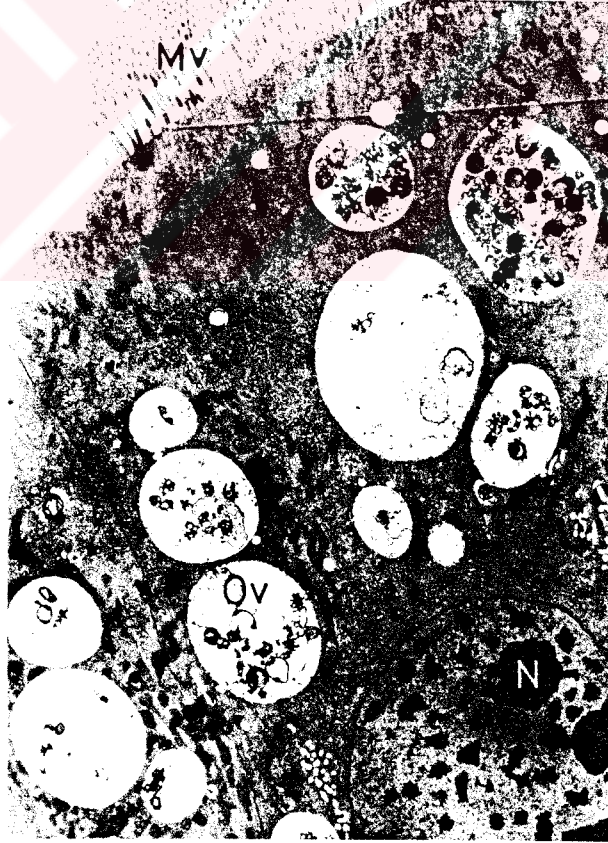


Şekil 4.12. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 24 saat sonra orta bağırsak epitel hücresinde şişme, mikrovillularda azalma (→) ve sitoplazmada kısmi erimeler (★), V: Vakuol X7250

T. pityocampa larvalarına *B. thuringiensis kurstaki* muamelesinden 48 saat sonra epitel hücrelerinin sitoplazmasındaki mitokondrilerde aşırı şişmeler tespit edilmiş, çekirdek plazmasında çözülmeler meydana gelmiştir. Bununla beraber kromatinlerde erimeler ve yığılmalar oluşmuştur (Şekil 4.13). Bazı epitel hücrelerinin sitoplazmasında ise büyük çaplı otofajik vakuoller meydana gelmiştir (Şekil 4.14).

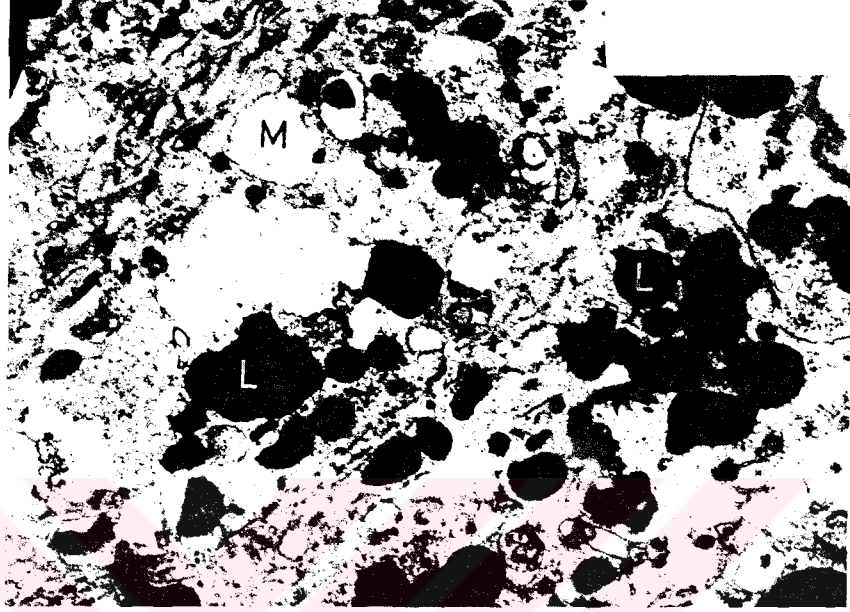


Şekil 4.13. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 48 saat sonra orta bağırsak epitel hücreesindeki mitokondrilerde (M) ve kristalarında şişme (→), çekirdek plazmasında çözülmeler (▲) ve kromatin yığılmaları (➡) X7250



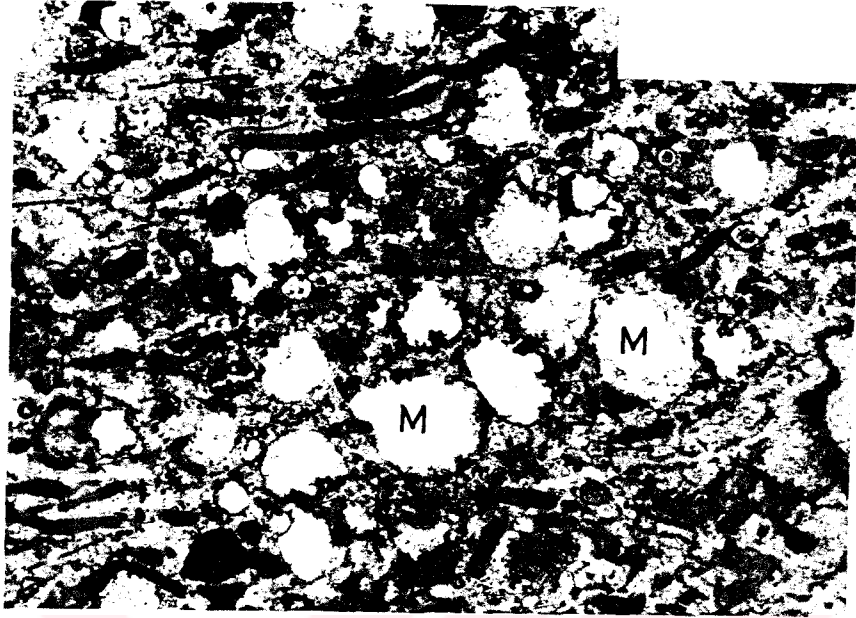
Şekil 4.14. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 48 saat sonra orta bağırsak epitel hücrelerinde çok sayıda ve büyük çaplı otofajik vakuoller (Ov), Mv: Mikrovillus, N: Nukleus X5000

Larvalara bakteri muamelesinden 60 saat sonra epitel hücrelerinde lizozomal yapıların fazlalığı dikkati çekmektedir (Şekil 4.15). Yine bu safhada mitokondrilerde şişme ve erimelerin meydana geldiği gözlenmektedir (4.16).

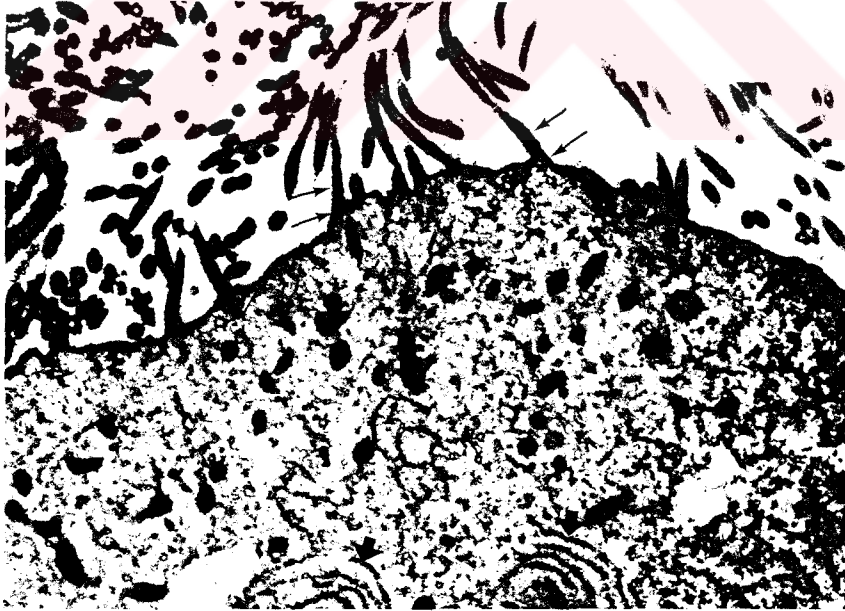


Şekil 4.15. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 60 saat sonra orta bağırsak epitel hücrelerindeki lizozomal yapılar (L) ve mitokondrilerde erimeler (M) X10000

T. pityocampa larvalarına *B. thuringiensis kurstaki* muamelesinden 4 gün sonra orta bağırsakta bulunan bazı epitel hücrelerinde şişmeler meydana gelmiştir. Bu hücrelerin mikrovilluslarında azalmalar gözlenmiştir (Şekil 4.17). Bazı hücrelerin sitoplazmasında erimeler ve büyük çaplı zarlı yapılar meydana gelirken (Şekil 4.18), bazı hücrelerin sitoplazmik bütünlüğünün tamamen kaybolduğu, sitoplazmada çok sayıda erimelerin meydana geldiği ve bu erimelerin içlerinde de zarlı yapıların olduğu gözlenmiştir. Buna rağmen sitoplazmada birkaç tane mitokondriye rastlanmıştır (Şekil 4.19).



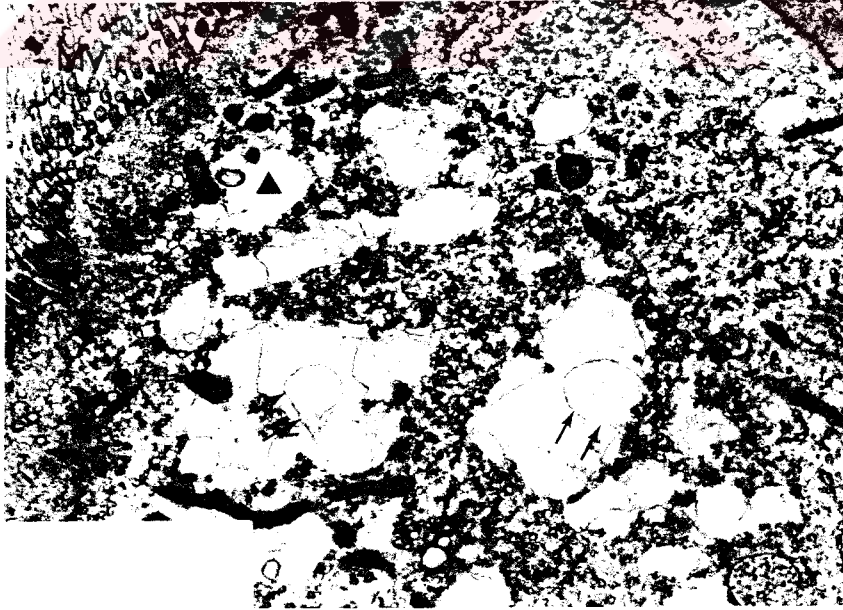
Şekil 4.16. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 60 saat sonra orta bağırsak epitel hücrelerindeki mitokondrilerde aşırı şişme (M) X10000



Şekil 4.17. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 4 gün sonra orta bağırsak epitel hücrelerindeki şişme ve mikrovilluslarda azalma ($\rightarrow$), $\blacktriangleright$: Granüllü endoplazmik retikulum X10000



Şekil 4.18. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 4 gün sonra orta bağırsak epitel hücrelerinin sitoplazmalarında erimeler (▲), Mv: Mikrovillus, Zy: Zarlı yapı X7250



Şekil 4.19. *T. pityocampa* larvalarına *B.t.k.* verildikten 4 gün sonra orta bağırsak epitel hücrelerinin sitoplazmalarında erimeler (▲) ve meydana gelen zarlı yapılar (→), Mv: Mikrovillus X10000

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tarım alanlarından daha yüksek oranda verim alabilmek için çeşitli metotlar uygulanmaktadır. Özellikle ürünlere musallat olan ve ürün miktarının ve kalitesinin düşmesine sebep olan zararlılarla mücadele edilmesi gerekmektedir. Bu zararlıların en önemlilerinden biri de böceklerdir. Böcekler, ürünlerin yetişmesi sırasında bitkilerin kök, gövde, yaprak ya da meyvesini yiyerek bitkilerin kurummasına, 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 de kimyasal insektisitlerdir. Bu insektisitler böcekler için son derece etkili olup başarılı sonuçlar alınmaktadır. Ancak kullanılan kimyasal insektisitlerin memelilere ve diğer canlı gruplarına da toksik etki göstermesi bunların en önemli dezavantajıdır. Dere ve ark. (1995), organofosforlu bir insektisit olan malationun farelerin karaciğerindeki hekzokinaz, 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 Georgiou, 1975; Priester and Georgiou, 1979).

Mikrobiyal insektisitlerin en önemli özelliği yalnızca hedef canlılar üzerine etki etmesidir. Bu nedenle özellikle *B. 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 ve ark., 1992; Kalender ve ark., 1999).

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 parasporal kristalleri böcekler tarafından yendiği zaman bağırsakta çözünerek delta endotoksin adı verilen proteinleri meydana getirmektedir. Bu proteinler bağırsakta proteazlar tarafından aktif toksin (holotoksin) haline dönüştürülmektedir. Aktif toksin bağırsaktaki hücre zarlarında bulunan spesifik reseptörlere bağlanmaktadır. Hücre zarına bağlanan toksinler hücrelerin zarlarında por ve kanallar meydana gelmesine sebep olur. Bunun sonucu olarak hemolenf sıvısı ile hücre sıvısı birbirine karışır. Sonuç olarak hücrenin bazal metabolizması bozularak hücrenin parçalanması olayı gerçekleşir. Bu çalışmada kontrol grubuna ait 4. evre *T. pityocampa* larvasının orta bağırsak uzunluğu yaklaşık 20-22 mm olarak ölçülmüştür. Bakteri muamelesinden 4 gün sonra ise orta bağırsağın uzunluğu yaklaşık 2-4 mm olarak ölçülmüştür. Bu da orta bağırsaktaki epitel hücrelerinin parasporal kristaller tarafından parçalandığını göstermektedir. Bakteri muamelesinden yaklaşık 5 gün sonra ise larvalarda ölüm gözlenmiştir.

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.

B. thuringiensis larvaların orta bağırsak hücrelerinin ince yapısında bozulmalara sebep olmuştur. Özellikle mitokondrilerin şişmesine ve kristallarının kırılmasına neden olmuştur. Bunun sonucunda hücre solunumu engellenmektedir. Mitokondrilerin aşırı derecede bozulması sitoplazmada vakuoller şeklinde bir görünüm almasına sebep olmuştur. Ancak sitoplazmadaki vakuollerin yalnızca mitokondriler tarafından oluşturulduğunu söylemek mümkün değildir. Çünkü sitoplazmanın erimesi sonucu da vakuoller oluşmaktadır. Orta bağırsak hücrelerinin çekirdeklerinde de ciddi erimeler ve çözümler meydana gelmiştir. Çekirdeğin bu şekilde bozulması hücrenin tekrar rejenerasyonun mümkün olmadığını göstermektedir.

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 çözümler 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 insanlarda ve diğer canlılarda allerjik reaksiyonlara sebep olmaktadır (Lamy et al., 1986). Allerjik reaksiyonlara sebep olan larvaların üzerindeki kıllardır. Bu kılların 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 olmaktadır (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 oluşturmamasından 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 olan, memeliler ya da diğer canlı grupları için tehdit oluşturmayan, endosporlarının tabiatta uzun süre kalmasından 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 orta bağırsak hücrelerine etki ederek larvaların muameleden yaklaşık 5 gün sonra ölmesine sebep olmuştur. Bu nedenle *B. thuringiensis kurstaki*, *T. pityocampa* larvalarının kontrolünde kullanılabilir. Ancak laboratuvar şartlarında yapılan bu deneyin, 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.
- Alten, B. and Boşgelmez, A., 1990, Effectiveness of several *Bacillus* isolates on *Culex laticinctus* Edwards (Diptera: Culicidae) larvae under natural conditions, **Doğa Tr. J. of Zoology**, 14, 252-262.
- Anonymous, 1984, Report of the 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 Georgiou, G.P., 1975, Mechanisms of resistance to organophosphorus insecticides in *Culex tarsalis*, **J. Econ. Entomol.**, 68(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., 1974, Histopathological effects of *Bacillus thuringiensis* Berl. on larvae of *Pieris rapae* (L.) (Lep., Pieridae) **Z. Angew. Ent.**, 76, 326-331.
- 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, 71-80.
- Beegle, C.C. and Yamamoto, T., 1992, History of *B. thuringiensis* Berliner research and development, **Can. Entomol.** 124, 587-616.
- Bonamonte, D., Foti, C., Cassano, N., Rigano, L. and Angelini, G., 2001, Contact dermatitis from organophosphorus pesticides, **Contact Dermatitis**, 44, 179-180.
- Bong, C.F. 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., Gürkan, B., Gürkan, F. ve Çetinkaya, G., 1983, Büyük mum güvesi *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Galleriidae) üzerine *Bacillus thuringiensis*'in etkisi, **Mikrobiyoloji Bülteni**, 4, 233-242.
- Boşgelmez, A., Çakmakçı, L., Yörük, S., Bor, N.M., Özer, N., Alten, B., Gürkan, B., Koçak, Ö., Karayalçın, O., Gürkan, F. ve Alten, E., 1989, Safety tests on 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, s. 35, **A. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara.
- Breuer, M. and Devkota, B., 1990, Control of *Thaumatococcus pinnatifidus* (Den. & Schiff.) by extracts of *Melia azedarach* L. (Meliaceae), **J. Appl. Ent.**, 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., Lvis, A., Gavarotti, P., Rege-Cambrin, G., Davico, L. and Vineis, P., 1993, Myeloid 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 *B. thuringiensis* formulations, **J. Econ. Entomol.**, 68(2), 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.
- Çakmakçı, L., Özer, N., Alten, B., Bor, N.M., Yörük, S., Boşgelmez, A., Koçak, Ö., Gürkan, B., Karayalçın, O., Alten, E. and Gürkan, F., 1990, Safety test on mice with *Bacillus thuringiensis* isolate, **J. Islam Acad. Sci.**, 3, 35-40.

- De Barjac, H., Dumanoir, V.C., Hamon, S. and Theiry, 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, II. Baskı, METEKSAN Matbaacılık, Ankara.
- Dere, E., Bakır, S. ve Atalay, A., 1995, Malathion'un fare (*Mus musculus*) karaciğer hekzokinaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, malat dehidrogenaz ve laktat 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. Ent. Zool.**, 16(3), 231-241.
- Erinç, M., 1996, *Bacillus thuringiensis* ve bazı kimyasal insektisitlerin *Agrotis segetum* (Denis et. Schiff.) (Lepidoptera: Noctuidae) larvalarına etkileri, Doktora Tezi, s. 44 , A. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Fast, P.G. and Donaghue, T.P., 1971, The δ -endotoksin of *Bacillus thuringiensis*, II. On the mode action, **J. Invertebr. Pathol.**, 18, 135-138.
- Faustini, F., Di Betta, L., Magliola, E.M. and Perucci, C.A., 1993, Cohort study of mortality among farmers and agricultural workers, **Med. Lav.**, 84, 31-41.
- 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 Desrochers, B., 1979, Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to some California mosquitoes under different condition, **Mosquito 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 exchange 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.
- Kalender, Y., 1995, *Agrotis segetum* Denis & Schiff. (Lepidoptera: Noctuidae) larvalarında Malpighi tüplerinin ince yapısı ve *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin Malpighi tüpü hücrelerine ve ürik asit metabolizmasına etkisi, Doktora Tezi, s. 165, **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.**, 8, 18-32.
- 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), 311-321.
- 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, 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.**, 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., 1985, *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 in: Biological control of mosquitoes, **Bull. Am. Mosq. Control. Assoc.**, 6, 132-158.
- 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.
- 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. Entom.**, 73(1), 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: Histopathological and histochemical study, **J. Invertebr. Pathol.**, 53, 217-227.
- Matur, A. and Ceber, K., 1988, The utilization of bacilli as larvacidal agents against anopheline and culicine mosquitoes in Turkey. I. Larvacidal 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.
- Müch, V.O., Hassan, S., Huger, A.M. and Krieg, A., 1981, Zur wirkung von *Bacillus thuringiensis* Berliner auf die parasitischen Hymenopteren *Apanteles glomeratus* L. (Braconidae) und *Pimpla turionellae* (L.) (Ichneumonidae), **Z. Angew. Ent.**, 92, 303-314.
- Narsaiah, J. and Jamil, K., 1986, Preliminary studies on biological control of mosquito larvae using *Bacillus thuringiensis* and *B. sphaericus*, **Entomo**, 11(3), 187-192.
- 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, Cilt:2, 208-238.

- Pekel, N., 1999, Isparta Orman Bölge Müdürlüğü ormanlarında çam keseböceği *Thaumetapoea pityocampa* (Den. & Schiff.)'nın biyolojisi ve tabii düşmanlarının araştırılması, s. 52, Yüksek Lisans Tezi, **Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Isparta.
- Priester, T.M. and Georgiou, G.P., 1979, Inheritance of resistance to permethrin in *Culex pipiens quinquefasciatus*, **Entom. Soc. Am.**, 72(1), 124-127.
- Quinlan, R.J. and Lisansky, S.G., 1983, Microbial insecticides, *In* Biotechnology, Ed. H.J. Rehm and Reed. Weinheim, 233-254.
- Rausell, C., Martinez-Ramirez, A.C., Garcia-Robles, I. and Real, M.D., 1999, The toxicity and physiological effects of *Bacillus thuringiensis* toxin and formulations on *Thaumetopoea pityocampa*, the pine processionary caterpillar, **Pestic. Biochem. Phys.**, 65, 44-45.
- Reisner, W.M., 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.
- Ryser, J.S., Beck, Jr.J.R. and Lavrik, P.B., 1990, Light microscope immunolocalization of *Bacillus thuringiensis kurstaki* δ -endotoxin in the midgut and Malpighian tubules of the tobacco budworm, *Heliothis virescens*, **J. Invertebr. Pathol.**, 56, 8690.
- Salama, H.S., Foda, M.S., Zaki, F.N. and Moawad, S., 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. Cytogenet.**, 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.
- Sharpe, E.S., 1976, Toxicity of parasporal crystal of *Bacillus thuringiensis* to Japanese beetle larvae, **J. Invertebr. Pathol.**, 27, 421-422.

- Shao, Z., Guo, Y. and Yu, Z., 2000, Effect of Cry1A δ -endotoxins of *Bacillus thuringiensis* on Mg^{+2} -ATPase in the columnar cells of *Bombyx mori* midgut, **Entomol. Sinica**, 7(2), 142-146.
- Siegel, J.P., Shaddock, J.A. and Szabo, J., 1987, Safety of the entomopathogen *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* for mammals, **J. Econ. Entomol.**, 80(4), 717-723.
- Singh, G.J.P., Schouest, Jr. L.P. and Gill, S.S., 1986a, The toxic action of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in 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 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, 237-247.
- Skatulla, V.U., 1971, Zur wirkung von *Bacillus thuringiensis* Berl. auf den kiefernspanner, *Bupalus piniarius* (L.) (Lep., Geometrid.), **Z. Angew. Ent.**, 69, 115-134.
- Smith, R.F., 1973, Considerations on the safety of certain biological agent 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.
- 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 mikroskopuyla incelenmesi. **Doğa, Tr. J. of 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 Sotomayor, C., 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 pityokteini* (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.
- Van Der Geest, L.P.S., 1981, Mode of action of *Bacillus thuringiensis* on the summer fruit tree leafroller *Adoxophyes orana* (F. v. R.), **Z. Angew. Ent.**, 91, 84-86.
- 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 Üniv. Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:73, Ankara.
- Wasti, S.S., Mahadeo, C.R. and Knell, J.D., 1973, Larvacidal activity of the β -exotoxin of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner against two species of flies, **Z. Angew. Ent.**, 74, 157-160.
- Werno, J., Lamy, M. and Vincendeau, P., 1993, Caterpillar hairs as allergens, **Lancet**, 342, 936-937.
- WHO, 1999, Microbial pest control agent *Bacillus thuringiensis*, Environmental Health Criteria 217, Geneva.

- Yaman, M., Sezen, K. and Demirbağ, Z., 1999a, Insecticidal effects some biological agents on the larvae of *Balaninus nucum* (Coleoptera: Curculionidae) and *Euproctis chrysorrhoea* (Lepidoptera: Lymantriidae), **Pak. J. Biol. Sci.**, 2(3), 617-618.
- Yaman, M. Demirbağ, Z. and Beldüz, A.O., 1999b, 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 bacteria flora as a 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 *Chironomus thummi thummi* and *Psectrocladius psilopterus* (Diptera: Chironomidae), **J. Invertebr. Pathol.**, 74, 39-47.
- Zeren, O., Dikmen, N., Kumbur, H. ve Taga, S., 1998, İçel ilinde tarımsal kesimde çalışan kişilerin plazmalarında kolinesteraz aktivite değişiminin araştırılması, **Türk. Entomol. Derg.**, 22(3), 199-205.

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Ankara’ doğdu. İlk, orta ve lise tahsilini Ankara’da tamamladı. 1995 yılında Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı ve 1999 yılında Biyolog ünvanı ile mezun oldu. Aynı yıl G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisansa başladı. 2000 yılında G.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’ne Araştırma Görevlisi olarak girdi. Halen bu görevine devam etmektedir. Evli ve bildiği yabancı dil İngilizcedir.

