

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**AVCI BÖCEK *CALOSOMA SYCOPHANTA* L. (COLEOPTERA: CARABİDAE)'DA
TESPİT EDİLEN BAKTERİLERİN TANIMLANMASI VE PATOJENİK
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ömür AYAR

AĞUSTOS 2019

TRABZON



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünce

Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : / /

Tezin Savunma Tarihi : / /

Tez Danışmanı :

Trabzon

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun / / gün ve sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan :

Üye :

Üye :

Prof. Dr. Asim KADIOĞLU
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

“Avcı böcek *Calosoma sycophanta* L. (Coleoptera: Carabidae)’da tespit edilen bakterilerin tanımlanması ve patojenik etkilerinin belirlenmesi” adlı yüksek lisans teziyle farklı illerden ve farklı laboratuvarlardan toplanan *Calosoma sycophanta* L. ergin ve larvalarındaki bakteri patojeninin varlığı ile patojenik etkilerinin belirlenmesi çalışılmıştır.

Lisansüstü eğitimim süresince gerek çalışmamın yürütülmesi gerek yazımı esnasında her zaman yanımda olan, deneyim ve bilgilerini benimle paylaşıp yolumu açan, insani ve ahlaki değerleri ile de her zaman örnek aldığım, yanında çalışmaktan onur duyduğum saygıdeğer hocam Prof. Dr. Mustafa YAMAN’ a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Öğrenim hayatım boyunca ve tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan maddi ve manevi destekleriyle bana güç veren başta annem Nazmiye AYAR ve babam Mustafa AYAR olmak üzere tüm aileme sonsuz sevgilerimi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Eğitimim süresince her zaman yanımda olan, laboratuvar çalışmaları sırasında yardımlarını esirgemeyen Zooloji Lab-II çalışma arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

Çalışmalarım esnasında maddi destek sağlayan TÜBİTAK’a (Proje No:114O722) teşekkürlerimi sunuyorum.

Ömür AYAR

Trabzon, 2019

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Avcı Böcek *Calosoma sycophanta* L. (Coleoptera: Carabidae)’da Tespit Edilen Bakterilerin Tanımlanması ve Patojenik Etkilerinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Mustafa YAMAN’ın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 19/08/2019

Ömür AYAR

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ.....	XI
KISALTMALAR DİZİNİ	XII
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. <i>Thaumetopoeo pityocampa</i> (Den. & Schiff.)	3
1.2.1. Yayılışı ve Zararları.....	4
1.3. Coleoptera Takımının Genel Özellikleri	6
1.3.1. Adephaga Alt Takımının Genel Özellikleri	7
1.3.2. Carabidae Familyasının Genel Özellikleri	7
1.3.3. <i>Calosoma sycophanta</i> L.'nın Sistematikteki Yeri.....	7
1.3.4. <i>Calosoma sycophanta</i> L.'nın Morfolojisi	8
1.3.4.1. Ergin	8
1.3.4.2. Yumurta.....	9
1.3.4.3. Larva.....	10
1.3.4.4. Pupa	11
1.4. <i>Calosoma sycophanta</i> L.'nın Türkiye'deki Yetiştirme Laboratuvarlarında Kitlesel Üretimi	12
1.5. Zararlılarla Mücadele Yöntemleri	13
1.5.1. Kültürel Mücadele	14
1.5.2. Fiziksel-Mekanik Mücadele	14
1.5.3. Biyoteknik Mücadele	15
1.5.4. Kimyasal Mücadele	15
1.5.6. Biyolojik Mücadele	16

1.5.6.1.	Klasik Biyolojik Mücadele.....	17
1.5.6.2.	Koruyucu Biyolojik Mücadele	18
1.5.6.3.	Kitlesel Biyolojik Mücadele.....	18
1.6.	Biyolojik Mücadelede Yer Alan Gruplar	19
1.6.1.	Predatörler	20
1.6.2.	Parazitoitler	20
1.6.3.	Entomopatojenler ve Mikrobiyal Mücadele.....	21
1.6.3.1.	Entomopatojen Bakteriler.....	22
1.6.3.2.	Entomopatojen Virüsler	23
1.6.3.3.	Entomopatojen Mantarlar.....	23
1.6.3.4.	Entomopatojen Nematodlar.....	24
1.6.3.5.	Entomopatojen Protozoalar	25
1.7.	Bakterilerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler	25
1.7.1.	Nümerik Taksonomi Yöntemi.....	25
1.7.2.	Yağ Asitleri Profillerine Göre Bakterilerin Tanısı ve Karakterizasyonu Yöntemi.....	26
1.7.3.	Metabolik Enzim Profilleri ve Biyokimyasal Özelliklerine Göre Bakterilerin Tanımlanması Yöntemi	27
1.8.	Bakterilerin İnsektisidal Özelliklerinin Araştırılması	27
1.8.1.	İzolatların İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi Yöntemi.....	27
2.	MATERYAL VE YÖNTEM	29
2.1.	Materyal.....	29
2.1.1.	Böceklerin Elde Edilmesi.....	29
2.2.	Yöntem	30
2.2.1.	Total Bakteri İzolasyonu	30
2.2.2.	Saf Kültürlerin Hazırlanması.....	30
2.2.3.	Saf Kültürlerin Stoklanması	31
2.3.	Bakteriyel İzolatların Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	31
2.3.1.	Koloni Morfolojisinin Belirlenmesi	31
2.3.2.	Basit Boyama Yöntemi	31
2.3.3.	Gram Boyama Yöntemi.....	32
2.3.4.	Endospor Boyama Yöntemi	32
2.3.5.	Kristal Boyama Yöntemi.....	32

2.4.	Bakteriyel İzolatların Özelliklerinin VITEK® 2 Advanced Colorimetry™ Sistemiyle Belirlenmesi.....	33
2.5.	16S rDNA Gen Filogenisi Analizi Yöntemi	38
2.6.	Bakterilerin İnsektisidal Özelliklerinin ve Metabolizma Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması	38
2.6.1.	İzolatların <i>Calosoma sycophanta</i> Üzerindeki İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi.....	38
2.6.2.	İzolatların <i>Calosoma sycophanta</i> Metabolizması Üzerindeki İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi	41
3.	BULGULAR	42
4.	TARTIŞMA.....	51
5.	SONUÇLAR	55
6.	ÖNERİLER	56
7.	KAYNAKLAR.....	57
ÖZGEÇMİŞ		

Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

AVCI BÖCEK *CALOSOMA SYCOPHANTA* L. (COLEOPTERA: CARABİDAE)'DA
TESPİT EDİLEN BAKTERİLERİN TANIMLANMASI VE PATOJENİK ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ

Ömür AYAR

Karadeniz Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mustafa YAMAN

2019, 64 Sayfa

Calosoma sycophanta L. (Coleoptera, Carabidae) böcek yetiştirme laboratuvarlarında yetiştirilir ve *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff., 1775) / *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams, 1924 (Lepidoptera: Notodontidae) tarafından istila edilen ormanlara salınır. Ancak üretim sırasında bu avcı böceğin mikroorganizmalar tarafından enfekte edilmesi, *C. sycophanta*'nın seri üretimini etkileyen en temel etkidir. Bu çalışmada, 2015-2018 yıllarında yetiştirme laboratuvarlarında *C. sycophanta*'nın bakteriyel patojenleri incelendi. 3 yıl boyunca 302 bakteriyel izolat elde edildi ve VITEK bakteriyel teşhis sistemleri kullanılarak tanımlandı. Tüm patojenler, yetiştirme laboratuvarlarındaki avcı böcekte ilk kez kaydedildi. Tanımlanan türlerin çoğu entomopatojenik türlerdir. En fazla izole edilmiş altı bakteri, *C. sycophanta*'nın larvaları ve erginleri üzerinde insektisit potansiyeli açısından test edildi ve 16S rDNA analizi kullanılarak ayrıca tanımlandı. Bu bakterilerin hepsinin erginlerde veya larvalarda patojenik olduğu bulundu. *Streptomyces albogriseolus*, *Proteus penneri*, *C. sycophanta* erişkinlerinde sırasıyla % 33,33 ve % 29,52 mortaliteye sahiptir. *S. albogriseolus*, *P. penneri*, *P. vulgaris*, *P. putida*, *P. rettgeri* ve *P. vermicola*, *C. sycophanta* larvalarında ise sırasıyla % 29,41, % 26,66, % 40, % 24, % 20 ve % 20 mortaliteye sahiptir. Sonuçlar *C. sycophanta* üretim laboratuvarlarının, böceğin yetiştirilmesi açısından bakteri hastalıkları riski altında olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Bakteri, *Calosoma sycophanta*, Coleoptera, *Thaumetopoea pityocampa*

Master Thesis

SUMMARY

DETERMINATION OF MICROSPORIDIUM PATHOGEN DISTRIBUTION IN THE
MASS-REARING LABORATORIES OF *CALOSOMA SYCOPHANTA* L.
(COLEOPTERA: CARABIDAE)

Ömür AYAR

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Biology Graduated Program
Supervisor: Prof. Dr. Mustafa YAMAN
2019, 64 Pages

Calosoma sycophanta L. (Coleoptera, Carabidae) is reared in insect rearing laboratories and released to forest infested by *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff., 1775) / *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams, 1924 (Lepidoptera: Notodontidae). However, this predator is infected by microorganisms. This is the main factor effecting mass production of *C. sycophanta*. In this study, the bacterial pathogens of *C. sycophanta* in the rearing laboratories in the years 2015-2018 were studied. During three years 302 bacterial isolates were isolated and identified using VITEK bacterial identification systems. All pathogens were recorded from the predatory beetle in the rearing laboratories for the first time. The majority of identified species were entomopathogenic species. Six most isolated bacteria were further identified using 16S rDNA analysis and tested for insecticidal potential on the larvae and adults of *C. sycophanta*. All of them were found to be pathogenic on the adults or larvae. *Streptomyces albogriseolus*, *Proteus penneri* have % 33,33 and % 29,52 mortality on the *C. sycophanta* adults, respectively. *S. albogriseolus*, *P. penneri*, *P. vulgaris*, *P. putida*, *P. rettgeri* and *P. vermicola* have % 29,41, % 26,66, % 40, % 24, % 20 and % 20 mortality on the *C. sycophanta* larvae, respectively. Results show that the rearing laboratories are under the risk of bacterial diseases in the term of mass production of *C. sycophanta*

Key Words: Bacteria, *Calosoma sycophanta*, Coleoptera, *Thaumetopoea pityocampa*

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. <i>Thaumetopoeo pityocampa</i> larvaları.....	5
Şekil 2. <i>Calosoma sycophanta</i> L.'nin ergini.....	9
Şekil 3. <i>Calosoma sycophanta</i> L.'nin yumurtaları.....	10
Şekil 4. <i>Calosoma sycophanta</i> L.'nin 1. ve 3. evredeki larvaları	11
Şekil 5. <i>Calosoma sycophanta</i> L. pupasının ilk hali.....	12
Şekil 6. Türkiye'de yıllara göre <i>Calosoma sycophanta</i> L. üretim miktarları	13
Şekil 7. <i>Calosoma sycophanta</i> L.'nin toplandığı bölgeler-laboratuvarlar	29
Şekil 8. Deney düzenekleri.....	40
Şekil 9. <i>Streptomyces albogriseolus</i> çizgi ekimi.....	44
Şekil 10. <i>Streptomyces albogriseolus</i> sıvı besiyer	44
Şekil 11. <i>Pseudomonas putida</i> çizgi ekimi	45
Şekil 12. <i>Providencia rettgeri</i> çizgi ekimi	45
Şekil 13. <i>Providencia vermicola</i> çizgi ekimi	46
Şekil 14. <i>Proteus vulgaris</i> çizgi ekimi	46
Şekil 15. <i>Proteus penneri</i> çizgi ekimi	47
Şekil 16. Bakteri izolatlarının <i>Calosoma sycophanta</i> erginlerindeki mortalite oranı	48
Şekil 17. Bakteri izolatlarının <i>Calosoma sycophanta</i> larvalarındaki mortalite oranı	48
Şekil 18. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> larvalarındaki mortalite oranı	50

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Gram negatif kartı kuyucuk içerikleri	35
Tablo 2. Gram pozitif kartı kuyucuk içerikleri.....	36
Tablo 3. Bacil kartı kuyucuk içerikleri.....	37
Tablo 4. <i>Calosoma sycophanta</i> 'dan izole edilen bakteriler	42
Tablo 5. <i>Calosoma sycophanta</i> erginlerinde beslenme ve yumurtlama verimliliği	49



KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
API	: Standart Manuel Tanımlama Yöntemi
mm	: Milimetre
cm	: Santimetre
ha	: Hektar
km ²	: Kilometre Kare
m ³	: Metre Küp
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
GN	: Gram Negatif
GP	: Gram Pozitif
gr	: Gram
M.Ö.	: Milattan Önce
ml	: Mililitre
°C	: Celsius
OGM	: Orman Genel Müdürlüğü

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Ormanlar; tohum halinden olgunlaşımaya kadar, biyotik veya abiyotik etkenlerin oluşturduğu birçok tehlikeyle karşılaşabilmektedirler (Çanakçıoğlu, 1985). Abiyotik faktörlerin, ormanlarda yaptığı zararlı etkileri; iklim faktörlerinin zararları ve toprak faktörlerinin zararları olmak üzere iki kısımda toplanır. Yağmur, kar, rüzgar, sıcaklık, nem gibi faktörlerin ekstrem durumları iklim faktörlerinin zararları içerisinde yer alır. Su, su noksanlığı, uçucu kumullar gibi faktörlerin ekstrem durumları ise toprak faktörlerinin zararları içerisinde yer alır (Bilgili, 2004). Ormanlarımızın varlığını tehdit eden ve devamlılığını tehlikeye sokan en önemli biyotik faktörlerin başlıcaları ormanda otlatma, orman yangınları, zararlı orman böcekleri, mantarlar, zararlı bitkiler ve bizzat insanın kendisidir (Baş, 1972). Bu faktörlerin hepsi ormanlar için oldukça tehlike arz etmesine rağmen özellikle zararlı böcekler, iklimsel faktörlerin değişiklik göstermesi nedeniyle bazı zamanlarda kitle üremesi yaparak ormanlık alanlarımızda büyük tahribatlara yol açabilmektedirler. Türkiye’de 2017 yılında meydana gelen orman yangınlarında 119 bin 92 ha’lık büyük bir orman sahası zarar görmüştür (OGM, 2017). Böcekler ise orman yangınlarının neden olduğu zararın beş katından daha çok zarara yol açabilmektedir. Bu da zararlı böceklerin ormanlar için ne denli bir tehlike oluşturduğunu göstermektedir. Fakat böceklerin neden olduğu zararlı etki hemen anlaşılamadığı için toplumda orman yangınları kadar önemsenmemektedir. Zararlı böcek popülasyonları birçok faktörün etkisiyle salgına neden olabilecek seviyelere ulaşabilmektedir. Bu durumda böcekler, bitki özsuğunu emip, yapraklar, sürgünler ve tomurcukları yiyerek, arız olduğu ağaçlara zarar verip kurumalarına yol açarlar.

Ormanlarımızda 50 ve üzerinde türün bu zararlarda etkili olduğu bilinmektedir. Son 5 yıl içerisinde zararlı böcekler ve neden olduğu hastalıklar 2 milyon 942 bin m³ ağaçların hastalanmasına ve kurummasına neden olmuş ve 3 milyon 400 bin ha alanda ibrelili ve yapraklı ormanlar zarar görmüştür. Sadece 2009 yılında 1.108.968 m³ orman emvali, böcek zararlarından dolayı tahrip olmuştur (OGM, 2012). 2018 yılında ormanlarımızda görülen zararlı türlere karşı 261.243 ha alanda mücadele gerçekleştirildi (OGM, 2018). Her yıl 10-12 milyon lira harcama yapılarak, yaklaşık 500-800 bin ha orman sahasında mücadele

çalışmaları sürdürülmektedir. 2002 yılıyla birlikte küresel ısınma ve iklimsel değişiklikler sonucu ormanlarda zarara yol açan türlerle mücadelede, türe özgü mücadele ajanları vasıtasıyla hedef zararlının dışındaki canlılara zarar vermeyen biyolojik mücadele çalışmalarına ağırlık verilmektedir. Bu uzmanlık gerektiren bir konu olduğu için kullanılacak ajanın dikkatlice seçilmesi ve türe özgü olması çok önemlidir. Bu nedenle zararlıların patojenleri üzerine yapılan çalışmalarda, patojenler arasından türe özgü ve öldürücü etkisi yüksek olanlar araştırılmaktadır.

Gelişmiş birçok ülkede zararlı böceklerle karşı yapılan mücadelede böceklerde hastalık oluşturan organizmalar mücadele ajanı olarak kullanılmaktadır. Örneğin, entomopatojenlerden bir virüs olan Bakülovirüsler, % 100'e varan ölüm oranı ve yalnızca çoğalabildikleri bir konakta enfeksiyon yapmalarından dolayı çevredeki diğer omurgalı ve omurgasız hayvanlara zararsız ekolojik bir mücadele ajanı olarak kullanılırlar. Ayrıca doğal ortamda gelecek yıllardaki nesillere vertikal taşınımından dolayı süreklilik gösteren bir mücadele ajanı olmalarından dolayı gelişmiş bütün ülkelerde ticari olarak üretilip satılmaktadır (Hunter-Fujita vd., 1998). Coğrafik bölgelerdeki farklılıklardan dolayı patojenler farklı oranda öldürücü etki gösterebilmektedir. Bu nedenle araştırılmamış coğrafik bölgelerden entomopatojen tespitleri son yıllarda en çok tercih edilen konular olmaktadır (Murillo vd., 2001). Ülkeler daha yüksek ölüm oranı gösteren kendi izolatını tespit edip kullanabilmek için çalışmalarını sürdürmektedir. Ülkemizde de sınırlı sayıda yapılan bu tür çalışmalarda bu yargıyı doğrular nitelikte olup, az sayıda çalışmaya rağmen oldukça yüksek oranda yeni entomopatojenik tür bulunmuştur (Yaman ve Radek, 2003; Yaman vd., 2009; Yaman, 2012).

Bu kapsamda tezin amacı: Ülkemizde böcek zararlıları içinde önemli bir yere sahip olan çam kese böceği *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff., 1775) / *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams, 1924 (Lepidoptera: Notodontidae) ile mücadelede kullanılan *Calosoma sycophanta* L. (Coleoptera: Carabidae)' da hastalık oluşturan entomopatojenik bakterilerin varlığının araştırılması ve bu patojenlerin tanımlanmasıdır. Elde edilecek bu entomopatojenlerin tespit edilen böcekte ve diğer bazı zararlı böceklerde insektisidal etkilerinin belirlenmesi ve içlerinden etkili olanların zararlılar ile mücadelede kimyasal insektisitlere alternatif biyolojik mücadele ajanları olarak sunulması amaçlanmaktadır.

1.2. *Thaumetopoeo pityocampa* (Den. & Schiff.)

Alem	: Animalia
Şube	: Arthropoda
Alt Şube	: Hexapoda
Sınıf	: Insecta
Alt Sınıf	: Pterygota
Takım	: Lepidoptera
Aile	: Notodontidae
Alt Aile	: Thaumetopoeinae
Cins	: <i>Thaumetopoea</i>
Tür	: <i>Thaumetopoeo pityocampa</i> (Den. & Schiff.)

Böcekler, Türkiye'deki iğne yapraklı ormanlarda zarara yol açan en önemli biyolojik faktörlerdir. Çam kese böcekleri de bu zararlılar içerisinde önemli bir yer tutar (Ertuğrul, 2002). Yılda bir döl veren çam kese böceğinin, biyolojik dönemleri ergin, yumurta, larva ve pupa dönemlerinden oluşur. Pupa haricindeki dönemlerde böcek toprak dışında yaşar. Erginlerinin kül rengindeki ön kanatlarının üzerinde zikzak şeklinde görünen enine çizgiler vardır. Arka kanatları ise beyaz olup kant açıklığı yaklaşık 4 cm'dir. Pullarla kaplı yumurtaların içerisinde 4-6 hafta sonunda çıkan tırtıl halinde ki larvalar böceğin en uzun yaşadığı dönemi oluşturur. 5 kez gömlek değiştiren tırtıllar, büyüdükçe beslenmeleri arttığından daha fazla zarara neden olurlar (Özkağanç, 2002; Kızıl, 2013). Ağaçlarda yaptıkları zararın yanında insanlarda ve diğer memelilerde alerjik reaksiyonlara da neden olurlar (Buxton, 1983; Lamy vd., 1986; Novak vd., 1987; Lamy, 1990; Werno vd., 1993; Vega vd., 1997; Kocatürk, 1999; Kozer vd., 1999; Conrath vd., 2000; Ekerbiçer vd., 2002; Triggiani ve Tarasco, 2002). Özellikle insanlarda kaşıntıya ve alerjiye yol açan böceğin kılları larvanın 3. safhasında oluşur.

1.2.1. Yayılışı ve Zararları

Çam kese böceği dünyada Cezayir, Filistin, Almanya, Fransa, İspanya ve İsviçre gibi ülkelerin ormanlarında oldukça ciddi zararlara neden olmuştur (Schimitschek, 1953; Beşçeli, 1969; Tosun, 1975; Battisti, 1988; Devkota ve Schmidt, 1990; Mendel, 1990; Atakan, 1991; Kitt ve Schmidt, 1993). Türkiye’de ise bu zararlı Marmara, Ege, Akdeniz ve Karadeniz bölgelerinde çam ve sedir türlerinin yayılış gösterdiği bölgelerde bulunmaktadır. Deniz seviyesinden 1800 m yükseklikteki ormanlarda bu zararlı ile sıklıkla karşılaşmaktadır (Avtzis, 1998; Çanakçıoğlu ve Mol, 1998). Ayrıca sıcak havayı seven böcek, özellikle küresel ısınma ile birlikte yayılışlarını arttırmıştır (Battisti vd., 2005; Rozensweig vd., 2007). Bu nedenle yaz aylarında hava sıcaklığının artması ile etkilerini de daha bariz bir şekilde göstermektedir. Çam kese böceğine ait Türkiye’deki ilk kayıt 19. yy başlarında İstanbul adalarında mücadele edildiğine dairdir (Çanakçıoğlu ve Mol, 1998).

Yumurtalarını çoğunlukla akşam saatlerinde bırakan çam kese böcekleri özellikle bunun için seyrekleşmiş meşçereleri ve ağaçlandırma sahalarını daha çok tercih ederler (Özçankaya ve Can, 2004). Primer zararlı olan böcekler larva (Şekil 1) halindeyken ağaçların tomurcuklarına zarar verip iğne yapraklarını yiyerek ağaçlarda zarara neden olurlar. Bu durum ağaçların vejetasyon dönemine daha az yaprakla girmesine ve bunun neticesinde de büyümenin azalmasına neden olur (Carus, 2004). Bunun haricinde eğer kitle halinde ürerlerse ağaçlar üzerinde hem daha yıkıcı zararlara neden olurlar hem de meşçereyi savunmasız duruma düşürerek sekonder zararlıların saldırılarına açık hale getirirler.



Şekil 1. *Thaumetopoeo pityocampa* larvaları

Çam kese böceği Türkiye’de en çok Kızılçam (*Pinus brutia*), Karaçam (*Pinus nigra*), Halep çamı (*Pinus halepensis*) ve Sarıçam (*Pinus sylvestris*) gibi iğne yapraklı ağaçlarda yayılış gösterirler (Özkaçanç, 2002). Olgun ağaçlarda çok etkili olamayan böcek, özellikle doğal gençleştirme alanlarındaki ağaçlarda sık sık salgınlar oluşturup, bodurluklara ve şekil bozukluklarına yol açmaktadır (Onaran ve Katı, 2010). Çam kese böceğinin saldırılarına maruz kalan genç kızılçamların yaprakları yendiğinde büyümesi % 68 oranında azalabilmektedir (Babur, 2002). Yine Doğu Akdeniz bölgesinde yapılan bir çalışmada sağlıklı ağaçların çam kese böceği tarafından zarara uğramış olan ağaçlara göre çap artımının % 11,89 ve boy artımının ise ortalama % 8,60 oranında fazla olduğu belirlenmiştir (Kanat vd., 2010). Ağaçlarda meydana gelen bu artım kayıpları ekonomik olarak da ciddi sorunlara neden olmaktadır.

Türkiye’de çam kese böceği ile mücadele kapsamında birçok metot kullanılmış fakat tam olarak bir başarı elde edilememiştir. Kullanılan feromon tuzakları, mikrobiyal ajanlar, predatör böcekler ve keseleri toplayıp yakma gibi uygulamalar tek başına yetersiz kalmıştır. Bu durum da entegre mücadeleyi zorunlu kılmıştır. Biyolojik mücadele çam kese böceğinin salgınlarını baskı altına almada en başarılı sonuçları veren yöntemdir (Kanat vd., 2005). Bu amaçla son yıllarda predatör özellikle olan canlılar, zararlıya karşı sıklıkla kullanılmaktadır.

Türkiye ve Avrupa’da henüz kesin bir başarı elde edilememiş çam kese böceği *Thaumetopoea pityocampa* (Schiff.) salgınlarına karşı predatör böcek, *Calosoma*

sycophanta L. (Coleoptera: Carabidae) kullanılmaktadır. Kitle halinde üretimleri gerçekleştirilen *C. sycophanta* ayrıca yaprak zararlısı, sünger örücü (kır güvesi) (gypsy moth) *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae)'a karşı da doğal bir düşman olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla Avrupa'dan Kuzey Amerika'ya ihraç edildikleri bilinmektedir (Ferrero, 1985; Weseloh vd., 1995; Schafer vd., 1999).

1.3. Coleoptera Takımının Genel Özellikleri

Coleoptera takımı böcekler sınıfı içerisinde ki en kalabalık takımdır. 350.000'den fazla tanımlanan türleriyle, dünyada var olan organizmalar arasında en fazla tür barındıran takım olarak bilinmektedir (Caterino vd., 2002).

Coleoptera takımının çoğu ergin üyeleri vücutlarının belli kısımlarını kaplayıp koruyan sert, kalın bir dış iskelete sahiptir. Bu böcekler büyüklükleri bakımından oldukça çeşitlilik gösterirler. Boyları genellikle 1 mm ile 5 cm arasındadır. Bununla beraber 15 cm'ye ulaşan tropik türleri de vardır. Coleoptera takımına ait böceklerin en karakteristik özellikleri kanat yapılarında görülmektedir. Büyük bir çoğunluğu iki çift kanat taşıyıp, ön kanatları kabuksu yapı kazanmıştır. Bu kanatlar sırt kısmında orta çizgi boyunca birbiriyle birleşerek arka kanatların ve karın bölgesinin üzerini örterler. Elytra olarak bilinen bu ön kanatlar böceğin dış iskeleti kadar serttir ve herhangi bir darbeye karşı vücudu korurlar. Ayrıca bir kavga anında ön kanatlar aerodinamic dengeyi sağlama görevi de yaparlar. Arka kanatlar ise ön kanatların altında katlanmış şekilde bulunurlar. Bu kanatlar uzun ve zarsı yapıda olup uçuş organı olarak kullanılırlar.

Coleoptera üyelerinin çene yapıları çok iyi gelişmiş olup, odunları çiğneyebilecek ve hatta sert bitki tohumlarını parçalayabilecek sağlamlıktadır. Takım olarak oldukça geniş bir besin tercihleri bulunmaktadır. Takımın otçul türleri kök, gövde, yaprak ve diğer bitki organları ile beslenirken, toprak içerisinde ya da bitki üzerinde yaşayan predatör türler ise birçok omurgasızla beslenirler. Ayrıca leşlerle beslenen ve parazit olarak yaşayan türleri de vardır. Tüm karasal ve tatlı su habitatlarında yaşayabilir ve birçok yaşam tarzı sergilerler. Karasal habitatlardaki türlerin bacakları genellikle yürüyücü ve koşucu tiptedir. Sularda yaşayan türlerinde ise yüzücü bacaklar bulunur. Holometabol başkalaşım geçirirler. Larvalar şekilleri bakımından familyalar arasında farklılık gösterir. Çoğunda campodeiform veya scarabeiform larva görülürken, vermiform ve elateriform larvaya sahip olanları da vardır. Böceklerin bir kısmı kışı gelişmiş larva halinde, bir kısmı ergin halde, bir kısmı da toprak

veya odunlar içinde pupa halinde geçirir. Ayrıca kışı yumurta halinde geçiren de birkaç türü vardır (Salman, 1992; Çanakçıoğlu, 1993).

Coleoptera takımı; Heterpogastera, Haplogastera ve Adephaga adında 3 alt takıma sahiptir.

1.3.1. Adephaga Alt Takımının Genel Özellikleri

Calosoma sycophanta L.'nin da içinde bulunduğu Carabidae familyası da bu alt takıma aittir. Anten yapıları basit ve iplik şeklindedir.

1.3.2. Carabidae Familyasının Genel Özellikleri

Coleoptera takımı içerisinde yer alan Carabidae familyası sahip olduğu 40.000 tür ile takımın en büyük familyasını oluşturmaktadır. İçerisinde bulunan türlerin beslenme şekilleri familyayı önemli kılmaktadır. Çünkü türlerinin bazılarının omnivor, bazılarının ise fitofag olmasına karşın, çoğu türleri karnivordur (Kromp, 1999). Dünya genelinde 150 kadar türünün tarımsal alanlarda yüksek miktarlarda ürün kayıplarına neden olduğu bilinmektedir (Lodos, 1989).

Carabidae familyası üyelerinin çoğu yırtıcıdır. Boyları 4 mm ile 3,5 cm arasında değişir. Bir kısmı uçmaz. Şekil ve renk bakımından farklılık gösterirler. Genellikle türleri parlak siyah renktedir. Çoğunlukla kaya, taş, ağaç kütüğü ve yaprak yığınları altında bulunurlar (Salman, 1992). Carabidae familyasında ormancılık bakımından önem taşıyan *Calosoma*, *Procerus* ve *Carabus* olmak üzere üç cins bulunur. Biyolojik mücadelede sıkça kullanılan *Calosoma sycophanta* L. Carabidae familyasına ait predatör bir böcektir.

1.3.3. *Calosoma sycophanta* L.'nin Sistematikteki Yeri

Alem	: Animalia
Şube	: Arthropoda
Alt Şube	: Hexapoda
Sınıf	: Insecta
Alt Sınıf	: Pterygota

Takım	: Coleoptera
Alt Takım	: Adephaga
Aile	: Carabidae
Alt Aile	: Carabinae
Cins	: <i>Calosoma</i>
Tür	: <i>Calosoma sycophanta</i> L.

1.3.4. *Calosoma sycophanta* L.'nin Morfolojisi

1.3.4.1. Ergin

Calosoma sycophanta L. (Coleoptera: Carabidae), ormanlarda zarara yol açan çam kese böceği *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) ile *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams gibi zararlı türlere karşı mücadelede kullanılan en önemli predatör böcektir. Erginleri uzun ömürlü olup 3-4 yıla kadar yaşamlarını sürdürebilmektedirler. Ortalama boyları 30-40 mm'dir. Prognath tipi başa sahip olup gözleri bileşik göz tipindedir. Çiğneyici ağız yapısına ve 11 segmentten oluşan filiform şeklinde antenlere sahiptirler. Familyanın da karakteristik özelliği olan ön kanatlar kitinleşerek 'Elytra' şeklini almıştır. Elytra parlak ve yeşilimtrak-kırmızı renktedir. Bu sert kanatlar üzerinde de sıralı halde küçük çukurlar bulunur. Genellikle koşarak hareket eden böcek, kanatlarını pek kullanmamaktadır. Böceğin bacakları siyah olup birinci çift bacakları yakalamayı, üçüncü çift bacakları ise koşmayı sağlar. Tarsusları 5 adet tarsiteden oluşmaktadır. Aşağıda *C. sycophanta* L. ergini gösterilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. *Calosoma sycophanta* L.'nin ergini

1.3.4.2. Yumurta

Calosoma sycophanta L. yumurtaları elipsoidal şeklinde olup sarı-beyaz tonunda bir renkte görülür (Şekil 3). Yumurtalar 4-6 mm uzunluğunda, yaklaşık 1,5-2 mm genişliğinde ve ortalama 0,01 gr ağırlığında olmaktadır. Uygun bir neme sahip toprakta yumurtadan çıkış süresi 4 ile 7 gün arasında değişmektedir.



Şekil 3. *Calosoma sycophanta* L.'nin yumurtaları

1.3.4.3. Larva

Yumurtalardan çıkmış 1-2 günlük *C. sycophanta* larvaları beyaz-sarı renkte olup boyları yaklaşık 0,7-0,8 cm, ağırlığı ise 0,01 gr civarındadır. Larvalar, 1-2 gün içerisinde beslenme ile birlikte 1,4-1,6 cm boy ve 0,11-0,16 gr ağırlığa eriştiğinde ilk gömlek değiştirmelerini yapmaktadırlar (Şekil 4). Larvalar 3 defa gömlek değiştirirler. Bunlardan ilk larva evresi 7-11 gün, ikinci larva evresi 8-12 gün, üçüncü larva evresi ise 15-18 gün sürmektedir. Larvalar üçüncü gömlek değişimlerini yaptıktan sonra pupa evresine geçerler. 10 tane segmente sahip larvaların, bir çift anteni ve göğsünde de 3 çift bacağı bulunmaktadır.



Şekil 4. *Calosoma sycophanta* L.'nin 1. ve 3. evredeki larvaları

1.3.4.4. Pupa

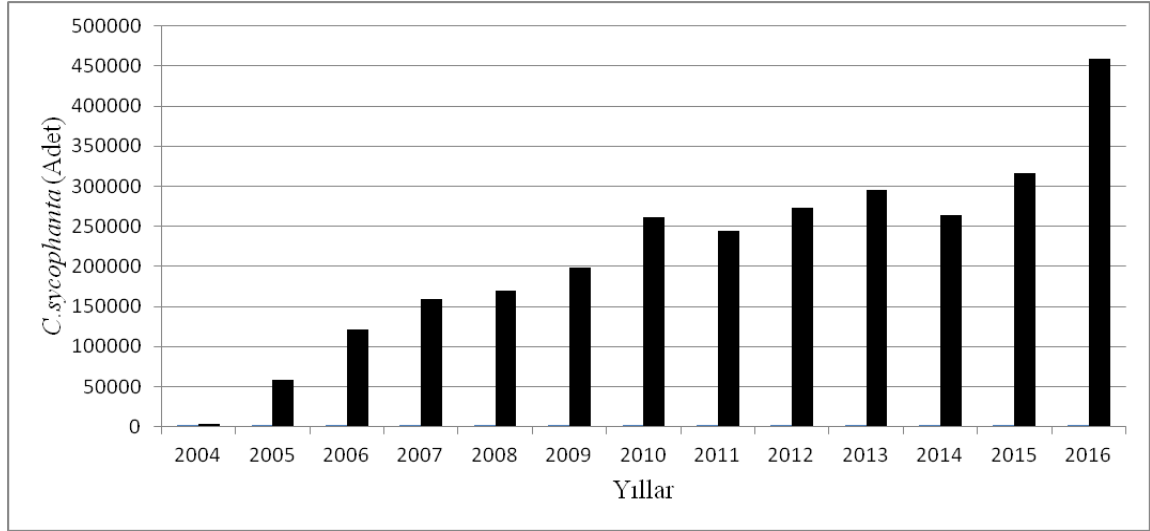
Larvalar, son gömlek değişimlerini tamamladıktan sonra pupa evresine geçerler. Serbest pupa tipinde olup antenler, bacaklar ve kanat izleri vücudun üstünde serbest bir şekilde bulunur. Boyları 2-3,5 cm arasında değişmekte olan pupaların, baş ve göğsü, karın tarafına doğru katlanmış bir şekilde durmaktadır. Pupalar genel olarak kirli açık sarı renktedirler. Sırtlarında 5 sıra segment ile birbirine paralel olarak bulunan kahverengi tüycüklere sahiptirler. Bu tüycüklerin uç kısımlarında dik bir şekilde durup 5 segmenti örten şerit halinde parlak ve koyu kahverengi tüycükler bulunur. *C. sycophanta* ortalama 12,5 gün süren pupa dönemini toprak içerisinde geçirmektedir. Aşağıdaki şekilde *C. sycophanta* pupasının ilk hali gösterilmektedir (Şekil 5).



Şekil 5. *Calosoma sycophanta* L. pupasının ilk hali

1.4. *Calosoma sycophanta* L.'nin Türkiye'deki Yetiştirme Laboratuvarlarında Kitlesel Üretimi

Türkiye'de önemli bir zararlı olan çam kese böceğine karşı biyolojik mücadelede kullanılan *Calosoma sycophanta*, farklı bölgelerdeki Orman Bölge Müdürlüklerine bağlı laboratuvarlarda kitle halinde üretimi yapılmaktadır. Üretim miktarları çam kese böceği ile mücadelede gerek duyulan ihtiyaçla birlikte farklılık gösterebilmektedir. Toplam üretim miktarları göz önüne alındığında, en fazla *C. sycophanta* üretiminin Akdeniz ve Ege Bölgesi'nde ki laboratuvarlarda yapıldığı görülmektedir. Bu bilgiler ışığında 2004 ve 2016 yılları arasında üretimde ortaya çıkan farklılıklar Şekil 6'daki tabloda gösterilmektedir.



Şekil 6. Türkiye’de yıllara göre *Calosoma sycophanta* L. üretim miktarları (OGM, 2016)

Calosoma sycophanta L.’nin kite üretimi yapılarak çam kese böceğine karşı başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Şubat sonu gibi topraktan çıkan avcı böcekler sürekli beslenme eğilimi içerisindeyler. Böceğin gerek erginleri gerekse larvaları hemen çam kese böceği ile beslenmeye başlarlar. Özellikle ergin bireylerinin bir günde 12 civarında çam kese böceğini yiyebildiği tespit edilmiştir (OGM, 2017). 3-4 yıllık yaşam sürelerinde yaklaşık 800 civarında çam kese böceği larvasını yiyebilmektedirler.

1.5. Zararlılarla Mücadele Yöntemleri

Orman ve tarım ürünlerinde zarara neden olan organizmaların (böcek, akar, nematod, kemirgen, kuş vb.) tanımlanmasını, yayılış alanlarını, zarar seviyelerini ve bunların yararlı olanlarını tespit etmek ayrıca önemli zararlıların biyo-ekolojileri, epidemiyolojileri ve neden oldukları ürün kayıplarını inceleyerek zararların önlenmesine veya azaltılmasına yönelik mücadele yöntemlerini ortaya koymak amacıyla yapılan çalışmalardır.

Orman ve tarım ürünlerinin varlığı ve sürekliliği açısından tehlike oluşturan en önemli etmenlerden biri de böceklerdir. Bilinen hayvan türlerinin yaklaşık olarak dörtte üçünü oluşturan böcekler, hayvanlar âlemi içerisinde sayıca en büyük grubu meydana getirirler. Böceklerin fazla ve yaygın olması günlük yaşamı birçok yönden etkilemektedir (Eroğlu, 2016). Özellikle tarım ve orman ürünleri üzerinde zarara neden olan böcek türlerinin her yıl yaptığı zararlar milyarlarca lirayı bulan ürün ve iş gücünün boşa harcanmasına neden olmaktadır.

Ormanların korunması nitekim zarara neden olan etmenlerin zararsız bir hale getirilmesi ile ancak mümkün olabilir. Bunu gerçekleştirebilmek için öncelikle zararlı etmenlerin iyice araştırılıp öğrenilmesi ve sonrasında ise bunlara sebep olan nedenlerin ortadan kaldırılması gerekmektedir. Ormanları tehdit eden zararlılara karşı bilinçli ve kapsamlı bir mücadele yapmak gerekir. Bu nedenle birçok mücadele yöntemi ve teknikleri geliştirilip kullanılmıştır. Bunlar kültürel mücadele, fiziksel-mekanik mücadele, biyoteknik mücadele, kimyasal mücadele ve biyolojik mücadele başlıkları altında toplanabilir (Uygun vd., 2010)

1.5.1. Kültürel Mücadele

Kültürel uygulamalar birincil yapılması gereken işlemler olup gerek ucuz olması gerekse uzun vadede çevreye ve canlılara en az zarar veren yöntem olmasından dolayı sıklıkla kullanılmaktadır. Toprak bakımı ve işlenmesi, gübrelenmesi, bitki nöbetleşmesi, yabancı ot ve atıkların temizlenmesi şeklinde tarımda yapılacak işler bu mücadele kapsamına girer (Demirbağ vd., 2008). Kültürel mücadelede önceden alınacak tedbirlerle bitkilerin ve ürünlerin zarar görmemesi amaçlanır. Bu amaçlar doğrultusunda ormanların karışıklılığını ve kapalılığını düzenlemek, yeni meşcereler kurmak ve yetiştirmek ile kesim tekniği yöntemlerine uymak, toprak bakımı yapmak, dayanıklı türler yetiştirmek ve gıda kaynaklarını değiştirmek gibi önlemler alınabilir.

1.5.2. Fiziksel-Mekanik Mücadele

Fiziksel mücadele yönteminde zararlı etmenlerin el, araç veya makinelerin kullanılmasıyla toplanarak öldürülmesi amaçlanmaktadır. Ormanlarda ve tarım alanlarında zarara neden olan böceklerin yumurta, larva, pupa ve erginlerini toplayarak yok etmek, tuzak ağacının kullanılması ile yakalamak, suya daldırmak, yakmak, radyoaktiviteden ve elektrikten yararlanmak gibi işlemleri içeren mücadele yöntemidir.

1.5.3. Biyoteknik Mücadele

Doğal veya yapay maddeler kullanılarak zararlıların yaşayışı ve davranışları üzerine etkili olmak için yapılan mücadeledir. Bu yöntem özellikle ormanlar için büyük tehdit oluşturan kabuk böceklerine karşı mücadelede sıklıkla kullanılmaktadır. Mücadele esnasında çevreye herhangi bir zarar verilmez. Böcekler nesillerinin devamlılığını sağlamak için feromon salgılayarak bir araya gelirler. Bu yöntemle böcekler, hazırlanan feromon tuzaklarına çekilerek yakalanmakta ve imha edilmektedirler. Ayrıca bu mücadelede feromon tuzaklarının yanı sıra yapışkan tuzaklar, ışık ve su tuzakları da kullanılmaktadır.

1.5.4. Kimyasal Mücadele

Toksik etkiye sahip sentetik ya da doğal olarak elde edilmiş kimyasallar kullanılarak, bitkilerde zarara neden olan organizmalara karşı yapılan mücadele yöntemidir. Bu mücadelede pestisit adı verilen ürünler kullanılır. Bu ürünlerin zararlı canlıda solunumu durdurmak, sinir sistemini bloke etmek, sindirim sistemini bozmak ve deri değişimini durdurmak gibi etkileri vardır. Böylece metabolizmanın doğal bir sürecini engelleyerek organizmanın ölümüne neden olurlar. Fakat yoğun ve bilinçsiz bir şekilde kimyasal pestisit kullanımı birçok zararı da beraberinde getirmektedir.

Yoğun ve bilinçsiz olarak uygulanan kimyasal pestisitler, kalıntıları ile çevre ve insan sağlığı üzerinde tehlike oluşturacak sorunlara neden olmaktadır. Özellikle toprak, su, hava ve tarımsal ürünlerde pestisit kendisi ya da dönüşüm ürünleri birikebilmektedir. Bu durum herhangi bir zararı olmayan hatta yararlı tür bile olabilen hedef dışı canlıların da zarar görmesine yol açmaktadır. Uygulanan kimyasalların % 0,015-6'sı mücadele edilen zararlıya etki ederken, % 94-99,9'lük kısmı ise ekosistemde hedef olmayan canlılara etki etmekte ve toprağa, sulara karışarak çevresel sorunlara yol açmaktadır (Yıldız vd., 2005). Doğada tüm canlılar bir denge halindedir. Kimyasal pestisitlerden dolayı hedef dışı canlıların yok edilmesi sonucu daha önce ekosistemde herhangi bir zararı olmayan canlı, doğal dengenin bozulması ile ekolojik ve ekonomik bir zararlı haline gelebilir. Yoğun ve yüksek oranda insektisit kullanımı, doğadaki doğal dengenin bozulmasına ve zarara neden olan türlerin bu kimyasallara karşı zamanla direnç kazanmasına neden olmuştur (Uygun vd., 2010). Bu durumla alakalı yapılan çalışmalar, şimdiye kadar 450 civarında zararlı böcek türünün insektisitlere karşı direnç geliştirdiğini ortaya çıkarmıştır (Kence ve Kence, 1992).

Zararlıların insektisitlere karşı sağladığı bu direnç durumu, hem kimyasalların etkilerinin azalmasına, hem de yoğun ilaçlama sonucu ürünlerde biriken pestisit kalıntılarının artmasına sebep olmuştur. Ayrıca insektisitlerin yeraltı su kaynaklarına geçmesi ve havada toksikant olarak birikmesiyle ekolojik ve ekonomik bir çok sorunun oluşmasına neden olabilmektedir (Zeren ve Erem, 2000). Bu sorunların hepsi hem çevre ve insan sağlığını etkilemekte hem de özellikle uluslararası pazarlarda sorun teşkil etmektedir. Yiyecekler ve yemler konusunda AB tarafından kurulan Hızlı Alarm Sistemi (Rapid Alert System) sonuçlarına göre, kimyasal pestisit kalıntısı alanında ürünlerimizin büyük bir kısmı AB kriterlerine uygun bulunmamaktadır (Delen vd., 2005). Nitekim yarardan çok zararları olduğu bilinen bu kimyasal pestisitler yerine çevreye dost, doğada doğal olarak var olan alternatif yöntemlerin uygulamaya geçirilmesi gerekmektedir. Özellikle bu yöntemler içerisinde de biyolojik mücadelenin önemi git gide daha da artmaktadır.

1.5.6. Biyolojik Mücadele

Doğal düşmanlar, antogonistler, rekabetçiler ve çoğalabilen biyolojik varlıkların kullanılmasıyla zararlılara karşı yapılan mücadele yöntemidir (FAO, 1996). Ormanlarda ve tarımda zararlılarla mücadele kapsamında kimyasal madde kullanımına getirilen sınırlama alternatif çözüm arayışlarına olanak sağlamıştır. Bunun neticesinde doğal düşmanların kullanıldığı biyolojik mücadele önem kazanmıştır. Çünkü çevreye ve insanlara zarar veren kimyasal maddeler yerine en iyi alternatif yöntem biyolojik mücadelenin kullanılmasıdır.

Biyolojik mücadelenin geçmişi çok eski tarihlere kadar gitmektedir. Her ne kadar bugünkü gibi kapsamlı bir biyolojik mücadele olarak kabul görülmesi de doğal düşmanların popülasyonlarını arttırmak için habitatlarını düzenleme çalışmaları ilk kayıtlara örnek verilebilir. Eski Mısır'da farelere karşı kedilerin kullanıldığı, Çin'de M.Ö. 300 yıllarında turunçgil bahçelerinde *Oecophylla smaragdina* (Fabricus) (Hymenoptera: Formicidae) adlı avcı karıncaların kullanıldığı bilinmektedir (Eroğlu, 2016). Yine avcı karıncaların 1200'lü yıllarda Yemen'de palmye ağaçlarındaki zararlılara karşı ve Arabistan'da hurma ağaçlarına arız olan zararlı bir karınca türüne karşı kullanıldığı bilinmektedir (Oğurlu, 2000).

Türkiye'de ise biyolojik mücadele ile ilgili ilk kayıtlardan biri 1912 yılında Süreyya Özek tarafından Fransa'dan İstanbul civarındaki Elma pamuklu bitine karşı *Aphelinus mali* (Hold.)'nin ve Mersin'de Torbalıkoşnil'e karşı *Rodolia cardinalis* (Muls.)'in getirilip kullanılmasıdır (Eroğlu, 2016). Diğeri ise 1910'lu yıllarda incir güvesi *Ephesia cautella*

Wlk. (Lepidoptera, Pyralidae)'nin parazitoiti olan *Bracon hebetor* Say. (Hymenoptera, Braconidae)'nin İzmir'de bol ve yoğun bulunduğuna dair bilgidir. Bu parazitoit 1931-1948 yılları arasında Ege Bölgesi'nde ki incir depolarında kullanılması amacıyla Almanya'dan birkaç kez daha getirilmiştir. Bir başka kayıt ise 1912 yılında Çukurova ve Ege Bölgesi'nde ki turuncgillerde zarara neden olan torbalı koşnil, *Icerya purchasi* (Mask.)'a karşı doğal yaşam alanından ülkemize getirilen *Rodolia cardinalis* (Muls.)'in kullanılmasıdır. Torbalı koşnile karşı avcı böcekler kullanılarak iyi sonuçlar elde edilmiştir. Günümüzde de biyolojik ve biyoteknik mücadele yapan üreticilerimiz 2010 yılından beri desteklenmektedir (Tarım Orman, 2014). Biyolojik mücadele, kimyasal mücadelenin tüm olumsuz yönlerini ortadan kaldırması bakımından son yıllarda tercih edilmesi gereken bir mücadele yöntemi haline almıştır (Yılmaz, 2004).

İnsanın herhangi bir etkisi söz konusu olmaksızın doğada kendiliğinden oluşan baskı doğal biyolojik mücadele olarak adlandırılırken, zararlı organizmalara karşı insanlar tarafından doğal düşmanların kullanılması uygulamalı biyolojik mücadele olarak adlandırılmaktadır (Van den Bosch vd., 1982). Orman ve tarımsal ekosistemlerde insanların bir etkisi olmadan canlılar arası etkileşim sonucu meydana gelen doğal biyolojik mücadele ile tarımsal ürünlerde zarar yapan 100.000 civarındaki zararlı türün % 95 oranında baskı altına alınabildiği bildirilmektedir. Sadece bu durumun bile ekonomiye yıllık 400 milyon avrodan daha fazla katkısı olacağı düşünülmektedir (Costanza vd., 1997). Doğal düşmanların kullanılması kapsamında üç temel biyolojik mücadelede yaklaşımı vardır.

1.5.6.1. Klasik Biyolojik Mücadele

Zararlı türün bulunduğu bölgede yaşamayan doğal düşmanın, doğal yaşam alanından getirilerek yerleştirilmesi sonucu yapılan mücadele yöntemidir. Ormanlarda ve tarım alanlarında zarara neden olan bir türün bulunduğu alanda doğal düşmanları yoksa zararlı tür popülasyon sayısını arttırarak hem ekolojik hem de ekonomik zararlara yol açar. Bu nedenle zararlı türün orijini olan ülkeden veya bölgeden doğal düşmanlar alınıp zararlının bulunduğu bölgeye yerleştirilir. Böylece hem oluşacak zararlar önlenir hem de zararlı türün popülasyonu baskı altına alınır. Bu yöntem Klasik Biyolojik Mücadele olarak adlandırılmaktadır.

Klasik biyolojik mücadele amacıyla 196 ülkede zararlı böcek ve akarlar karşı yaklaşık 2000 civarında doğal düşmanın 5000'den fazla yerleştirme çalışması yapılmıştır.

120 yıldır süre gelen bu çalışmalarda uygulamalardan kaynaklı olumsuz bir etkinin nadiren görüldüğü belirtilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmalar, bu doğal düşmanların 165'in üzerinde zararlı türü devamlı olarak baskı altında tutabildiğini göstermiştir (Van Lenteren vd. 2006). Klasik biyolojik mücadele uygulamalarının tüm dünyada 3500 milyon ha'da yapıldığı ve bunun tüm kültüre açılmış alanların % 10'unu oluşturduğu düşünülmektedir.

1.5.6.2. Koruyucu Biyolojik Mücadele

Doğal olarak ortamda bulunan yararlı türlerin, zararlıların üzerinde doğal baskı unsurları göz önünde tutularak doğadaki popülasyonlarının korunmasını kapsamaktadır. Bu mücadele yöntemi açıkçası var olan doğal dengenin korunmasını veya denge bozulmuş ise yeniden dengenin sağlanmasını amaçlayan uygulamaları içerir. Nitekim doğal ortamda zarara neden olan türlerin birden fazla doğal düşmanları vardır ve zararlılar tarafından baskı altında tutulurlar. Biyolojik mücadelede oldukça öneme sahip bu doğal düşmanların herhangi bir nedenle popülasyonlarında azalma meydana gelebilir. Bu durumda önemli bir etkisi bulunmayan zararlılar bile doğal düşman baskısından kurtuldukları için hızlı bir şekilde çoğalarak ekonomik zarar düzeyinin üstüne çıkarlar ve büyük zararlara neden olabilirler. Bundan dolayı mücadele kapsamında hem zararlılar hem de yararlıların yaşam alanları araştırılmalı ve zararlıların baskı altında tutulmasını sağlayan doğal düşmanların tüm ekolojik istekleri yerine getirilmelidir.

Diğer biyolojik mücadele yöntemlerine (klasik ve kitlesel biyolojik mücadele) göre doğal düşmanların korunması ve desteklenmesi yöntemi geniş alanlarda daha başarılı sonuçlar vermektedir. Zira doğada zararlıları baskı altında tutabilecek çok fazla sayıda doğal düşman bulunmaktadır. Öyle ki, bu doğal düşman niteliğindeki yararlı türler ekosistemlerdeki zararlıların % 99'unu, tarımsal ekosistemlerdeki zararlıların da % 95'ini baskı altında tutabilmektedir.

1.5.6.3. Kitlesel Biyolojik Mücadele

Doğal yaşam alanında olan yararlı türlerin etkinliklerinin artırılması için yapılan uygulamalar aynı zamanda popülasyonlarının artmasını da sağlayacak uygulamalar niteliğindedir. Fakat yapılan uygulamaların yetersiz kalması, doğal düşmanların salındıkları

alana yerleşip ertesi yıla geçememesi ve zararlıyı baskı altında tutabilecek popülasyon düzeyinde olmaması yahut ithal edilen doğal düşmanların sayısının yeterli miktarda olmaması durumlarında ise doğal düşmanlar gruplar hâlinde üretilip doğaya salınır ve böylece popülasyonların sayısı artırılır. Bu yöntem 90 yıldan beri uygulanmakta olup, yerli veya başka ülkelerden ithal edilen 150'den fazla doğal düşman türünün, 100 civarında zararlı türe karşı kullanıldığı bildirilmektedir. 16 milyon ha kültüre açılmış alanlarda uygulanan bu yöntem son yıllarda daha da önem kazanmıştır. Yıllık ticari değeri 300 milyon avrolara ulaşan mücadele yönteminin, Avrupa'da da toplam tarımsal ilaç pazarındaki payı % 1'den % 2'ye yükselmiştir (Van Lenteren vd., 2006).

Kitlesel biyolojik mücadele yönteminde entomopatojenler, predatör ve parazitoidlere göre daha çok tercih edilirler. Çünkü predatör ve parazitoidlerin üretimi entomopatojenlere göre hem daha pahalı hem de daha zordur. Günümüzde birçok entomopatojen biyolojik mücadele kapsamında ticari olarak üretilmekte olup zararlı türlere karşı uygulanmaktadır. Ancak yine de predatör ve parazitoid gibi doğal düşmanlar da av ve konukçuları üzerinde azda olsa üretilmektedir. Bunlar çoğunlukla ekonomik değeri yüksek ürünler ile sera gibi küçük alanlarda kullanılmaktadır. Aslında predatör ve parazitoidler yapay besi ortamında daha ucuza üretilebilirler. Fakat yapay bir besi ortamında üretilen doğal düşmanların doğal ortamda ne denli yararlı olabileceği tartışılmaktadır.

1.6. Biyolojik Mücadelede Yer Alan Gruplar

Doğada var olan böcekler, akarlar, bakteriler, funguslar, virüsler, nematodlar, balıklar, kuşlar, memeliler gibi birçok canlı gruplarında biyolojik mücadelede etkin rol alan doğal düşman niteliğinde türler vardır. Bunlar özellikle klasik biyolojik mücadele kapsamında doğal dengenin sağlanması adına büyük bir öneme sahiptirler. İnsan aktivitesinin olmadığı doğal biyolojik mücadelenin yetersiz kalması durumunda ise zararlılarla mücadeleye insanlar da müdahil olur. Bu durumda biyolojik mücadelenin yapılacağı alanı, uygulayıcısı olan insanlar belirler. Bütün faaliyetlerin uygulayıcı tarafından yönetildiği ve ekonomik bir girdinin gerekli olduğu bu mücadele kapsamında en çok parazitoid, predatör ve entomopatojenler kullanılır. Bunlar zararlıları baskı altına almada başarının en fazla sağlandığı biyolojik etmenlerdir. Özellikle de mikrobiyal kontrol ajanları içerisinde olan entomopatojenler türe özgü etki gösterdiklerinden var olan diğer doğal düşmanlara nispeten daha çok tercih edilirler. EDWIP (The Ecological Database of the World's Insect Pathogens)

ve VIDIL (Viral Diseases of Insect in the Literature Database) verilerine göre 1504 protozoa türü, 411 fungus türü, 168 virüs türü, 146 nematod türü, 52 bakteri türü olmak üzere toplamda 2285 farklı mikroorganizma türünün, 9407 böcek türüyle ilişkili olduğu belirlenmiştir (Braxton vd., 2003).

Biyolojik mücadelede kullanılan etmenler zararlı böceklerde enfeksiyonlara neden olarak, zararlı popülasyonunun baskı altında kalmasını sağlar. Bu durum meydana gelebilecek zararları da en aza indirir. Ayrıca birçoğunun konağa özgü olmasından dolayı doğada herhangi bir yararlı böceğe, hayvanlara, insanlara ve çevreye zarar verici bir durum teşkil etmezler. Bu özellikleri sayesinde, kimyasal mücadele yerine tercih edilmesi gereken bir mücadele yöntemi halini almıştır (Yılmaz, 2004).

1.6.1. Predatörler

Yaşamları boyunca serbest yaşayan, gelişimlerini tamamlayabilmek için birden fazla ava ihtiyaç duyan, avlarını arayıp bulan, avına saldırarak beslenen ve öldüren canlılara predatör canlı denir. Doğada böcekler, akarlar, örümcekler, sürüngenler, balıklar ve kuşlar gibi birçok canlı grubunda predatörlük gösteren türler vardır. Bunlardan biyolojik mücadele kapsamında en çok kullanılanlar predatör böcekler ve predatör akarlardır.

Predatör böceklerin büyük bir çoğunluğu polyfag özellik gösterir. Bu özellikleri sayesinde farklı birçok zararlı türe karşı kullanılabilirler. Erginlerinin yanı sıra larva dönemlerinde de predatörlük gösterirler. Yumurtadan çıkan larvalar hemen beslenmeye başlar. İstisna türleri olmakla birlikte genellikle kendinden küçük avlarla çiğneyerek ya da sokup-emerek beslenirler. Predatör böceklerin kitle üretimleri pahalı ve zordur. Ayrıca yapay ortamlarda üretilen böceklerin ne denli doğada yararlılık göstereceğinin belirlenmesinde yaşanan zorluklarda, predatörlerin kullanımını sınırlandırmaktadır.

1.6.2. Parazitoitler

Bir böcekte yumurtasını bırakarak larval dönemi orada geçiren ve daha sonra böceğin ölümüne neden olan ve çıkıp biyolojisini tamamlayarak ergin hale geçen böceklerle parazitoit denir.

Parazitoitler konukçu canlının belirli bir döneminde parazitlik gösterir. Bu nedenle yumurta, larva ve pupa parazitoitleri olmak üzere 3'e ayrılırlar. Bir de larva-pupa parazitoitleri vardır ki onlarda konukçu olan canlının herhangi bir döneminde yumurtalarını bırakır ve ergin olan parazitoit konukçunun bir sonraki döneminden dışarı çıkar. Ayrıca bazı parazitoitler sadece konukçulara değil başka parazitoitlere de saldırabilir. Bunlara hiperparaziot denir. Biyolojik mücadelenin yapıldığı ortamlarda diğer parazitlere saldırdığı için hiperparazitoitlerin bulunması istenilmeyen bir durumdur.

Bir türe veya ancak birkaç akraba türe saldıran parazitoitlerin konukçu spektrumu oldukça dardır. Üretimlerinin de kolay ve ucuz olmasından dolayı klasik mücadele ile çoğaltılarak salım yapılan biyolojik mücadele uygulamalarında en çok tercih edilen canlı grubunu meydana getirirler. Büyük bir çoğunluğu Hymenoptera takımına ait olan parazitoitlerin ve bir bölümü de Diptera takımında bulunur.

1.6.3. Entomopatojenler ve Mikrobiyal Mücadele

Biyolojik mücadelede özellikle böceklere karşı kullanılan entomopatojenler; bakteriler, funguslar, virüsler, protozoalar ve nematodları içermektedir. Bunlar genellikle doğada var olan hastalıklı böceklerden izole edilirler. Doğal ortamda önce böceklerin hastalanmasını sağlayan ve sonra onları öldüren orijini bakteri, virüs, mantar, nematod veya protozoa olan birçok mikroorganizma vardır (Lipa, 1975). Entomopatojen olarak adlandırılan bu mikrobiyal mücadele ajanları zararlı böceklere karşı kullanılarak böceklerin hastalanmasına ve ölmesine neden olurlar. Bu sayede zararlı popülasyonlarını dengede tutarak meydana gelebilecek zararlarının en aza indirilmesine olanak sağlar. Entomopatojenler konağa özgü olduklarından dolayı sadece hedeflenmiş organizma üzerinde etkili olurlar. Herhangi bir faydalı canlıya, hayvanlara, insanlara zarar vermediği gibi ekosistemde de herhangi bir kirliliğe neden olmazlar. Ayrıca konvansiyonel pestisitlerle birlikte kullanılabilmeleri ve hasat döneminde dahi hedef dışı organizmalara zarar vermeden uygulanabilmeleri bu mikrobiyal ajanların biyolojik mücadelede sıklıkla kullanılmasına olanak sağlar. Lakin olumsuz hava şartlarından oldukça fazla etkilenirler. Bu nedenle mikrobiyal ajanların uygulanma zamanı iyi seçilmelidir ki maksimum etki sağlasınlar (Agrios, 2005; Uneke, 2007).

Entomopatojenler kitle üretimi yapılarak biyolojik insektisit olarak da kullanılabilirler. Uygulanmaları sırasında çoğunlukla standart ilaçlama aletlerine ya da sulama suyuna

kariştirilirlar. Biyolojik insektisit olarak kullanılanlardan en önemlisi Dünya Sağlık Örgütü tarafından da kabul edilen *Bacillus thuringiensis* ajanıdır. Hali hazırda birçok zararlı böcek türüne karşı uygulanmaktadır. Fakat ticari olarak üretilen bu insektisitlerin henüz kullanımı istenilen seviyeye ulaşmamıştır. Dünya ilaç piyasasında ancak % 2-5'lik gibi küçük bir paya sahiptirler (Ridgway ve Inscoc, 1998).

1.6.3.1. Entomopatojen Bakteriler

Bakteriler basit yapılu olup, zarla çevrili nukleus, mitokondri, kloroplast, endoplazmik retikulum ve golgi gibi organelleri bulunmayan, prokaryotik, mikroskobik, tek hücreli canlılardır. O kadar yaygındırlar ki neredeyse dünyada bulunmadıkları yer yoktur. Özellikle canlılar aleminin dengesini sağlamada çok önemli görevleri vardır.

Entomopatojen bakteriler halen ormanlarda ve tarımsal alanlarda zarara neden olan böceklerle karşı en fazla kullanılan mikroorganizmalardır. Böceklerde kitlesel ölümlere neden olarak, zararlıların baskı altına alınmasında büyük rol oynarlar (Çanakçioğlu, 1989). Entomopatojen bakteriler spor oluşturup oluşturmamaya göre ikiye ayrılırlar. Her ikisinden de böceklerde patojen olan türler olmasına rağmen, biyolojik mücadelede çoğunlukla spor oluşturan ve fakültatif aerob bakterilerin kristal taşıyanları kullanılır. Çünkü yapılan araştırmalarda spor oluşturan bakterilerin oluşturmayanlara göre kuraklık ve yüksek sıcaklık gibi kötü koşullara karşı daha dayanıklı olduğunu göstermiştir. Beslenme yoluyla böceklerle bulaşan bakteriler, böceğin vücudunda sporangium içinde endosporlar ve protein yapıda olan endotoksinler oluşturur. Bu toksin maddeler ve bakterilerin vücudunda birikmesi böceğin ölümüne neden olur. Mikrobiyal ajan olarak kullanılan bakterilerin çoğunluğu *Bacillus* ve *Coccobacillus* cinsleri içerisinde bulunur.

Spor oluşturan bakterilerden *Bacillus thuringiensis* bilinen en yaygın böcek patojenidir. Spor oluştururken aynı zamanda birçok böcek çeşidine karşı insektisit etki gösteren Cry ve Cyt kristal proteinlerini de üretir. Kristal proteinlerin etkilerini gösterebilmeleri için buldukları ortamda çözümleri gerekmektedir. Bunlar normal şartlarda ileri derecede bir çözülme göstermediklerinden hedef dışı diğer canlılara zarar vermezler. Ne zaman ki Lepidoptera larvalarının orta bağırsağı gibi ortamın pH'nın yaklaşık olarak 9,5 üzerinde olması durumunda çözünürler (Eroğlu, 2016). Çözünen proteinler hedef böceklerin orta bağırsak membranlarındaki reseptöre bağlanarak etki ederler (Bravo, 2005). Proteinlerin reseptöre bağlanarak aktivite göstermesi biyolojik mücadelede güvenli bir

şekilde kullanılmalarına olanak sağlar. Nitekim birçok zararlı böcek takımına ait türlerde etkili olan yeni suşlar izole edilerek, *B. thuringiensis*'in kullanım alanları arttırılmıştır (Lacey vd., 2001). Öyle ki *B. thuringiensis* kökenli ürünler ticari olarak kullanılan en önemli böcek patojeni olup, dünyada ki biyopestisit pazarının % 95'lik kısmına sahiptir (Gaugler, 1997). *B. thuringiensis* en fazla Lepidoptera tırtılları gibi bitki zararlılarında olmak üzere, sivrisinek larvaları ve Afrika'da nehir körlüğü hastalığının taşıyıcısı olan karasineklerin kontrolünde sıklıkla kullanılırlar (Eroğlu, 2016).

1.6.3.2. Entomopatojen Virüsler

Virüsler böcekler de dahil bütün canlılarda hastalık meydana getirebilirler. Yapılan araştırmalarda virüslere ait en az 16 familyanın zararlı böcekler üzerinde etkilerinin olduğu saptanmıştır (Tanada ve Kaya, 1993). Özellikle virüslerin büyük bir kısmı Lepidoptera (% 83), Hymenoptera (% 10) ve Diptera (% 4) takımları ile bağlantılıdır. Biyolojik mücadele kapsamında virüslerin böcekleri enfekte ederek zararlı böcek salgınlarını kontrol altına aldıkları bilinmektedir (Steinhaus, 1956). Virüsler böceklere ağız yoluyla bulaşır. Böcek tarafından yenilen virüs, böceğin vücudunu bağırsak yoluyla işgal ederek enfeksiyonu başlatır.

Zararlı böceklerle mücadele kapsamında virüsler içerisinde en çok kullanılan bakülovirüslerdir. Virüslarının oldukça yüksek olması, ticari olarak üretilibilmeleri ve sadece artropodları enfekte etmelerinden dolayı biyolojik mücadele açısından önem kazanmışlardır. Büyük çoğunluğunun Lepidoptera ve Hymenoptera takımlarının içinde yer alan 400'den fazla böcek türünün bakülovirüslerin konukçusu olduğu saptanmıştır. Bakülovirüsler, rüzgar ve yağmur gibi doğal yollarla taşınabildikleri için böceklerle sıklıkla etkileşirler. Ormancılıkta kayda geçen tek bakülovirüs, *Cydia pomonella granulovirus* (CpGV)'tür. Özellikle elma içkurdunun kontrolü için Avrupa ve Amerika'da yaygın bir şekilde kullanımı devam etmektedir (Eroğlu, 2016).

1.6.3.3. Entomopatojen Mantarlar

Funguslar, biyolojik mücadele kapsamında çeşitli canlı gruplarına karşı sıklıkla kullanılan mücadele ajanlarıdır. Bunların içerisinde sadece böcekler ve diğer artropodlarla

etkileşim içinde olan cinsleri içeren ve konağın kütikulasına tutunma, penetrasyon ve konak içerisinde çoğalmaları ile tanınan özelleşmiş bir fungus grubu vardır. Bunlar entomopatojen funguslar olarak adlandırılır. Entomopatojen funguslar, biyolojik mücadelede kullanılan diğer mikroorganizmalara göre daha geniş böcek grupları üzerinde etkilidirler. Lepidoptera, Homoptera, Hymenoptera, Coleoptera ve Diptera takımlarına bağlı birçok türü enfekte edebilirler. Entomopatojenik funguslardan *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* ve *Lecanicillium lecanii* dünyada biyolojik mücadele çalışmalarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Deacon, 1983).

Fungusları diğer böcek patojenlerinden ayıran en önemli özelliklerinden birisi de böceklerde enfeksiyon oluşturabilmek doğrudan vücut örtüsü yoluyla bulaşabilmesidir (Eroğlu, 2016). Böceğin kütikulasına temas ettikten sonra vücut içerisine nüfuz eden entomopatojen funguslar hızlı büyüdüklerinden dolayı konağın hemolenfindeki besinler tükenir. Ayrıca funguslar bu sırada toksik maddelerde üretim salgılayabilir. Nitekim bunların hepsi böceğin ölümüne yol açmaktadır.

Entomopatojen funguslar hedef organizmaya mekanik olarak zarar verebildiğinden, zararlı eğer kimyasal yahut mikrobiyal insektisitlere karşı bir bağışıklık kazanmışsa bunu funguslara karşı kullanamaz (Charnley ve Collins, 2007; Örtücü vd., 2010).

1.6.3.4. Entomopatojen Nematodlar

Böceklerde parazit yaşayıp, ölümlerine neden olan birçok nematod türü vardır. Bunlardan Neotylenchidae, Mermithidae, Rhabditidae, Sphaerularidae, Allantonematidae, Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyaları biyolojik mücadelede sıklıkla kullanılmaktadır. Özellikle de Steinernematidae ve Heterorhabditidae'ler, zararlılara karşı kullanımlarında elde edilen başarılı sonuçlardan dolayı üzerinde en çok çalışılan familyalar durumundadır (Lacey vd., 2001). Böceklerle mücadele kapsamında da nematodlardan sadece bu iki familya kullanılmaktadır (Gaugler, 1997).

Entomopatojen nematodlar, doğal yaşam alanları olan toprakta bulunurlar (Kaya ve Gaugler, 1993). Bu durum toprak içine giren zararlılara karşı yetersiz kalan predatörler ve diğer mikrobiyal ajanlara göre nematodlara avantaj sağlar. Çünkü toprak, kimyasalların, predatörlerin ve diğer mikrobiyal ajanların nüfusunu engelleyici bir role sahiptir. Ayrıca hareket ederek konak aramaları da biyolojik mücadelede nematodları önemli kılmıştır. Kullanılan diğer mikrobiyal ajanlarda böyle bir durum söz konusu değildir.

Entomopatojen nematodlar yüksek bir virülansa sahip olduklarından 24-48 saat gibi çok kısa sürelerde konaklarını öldürebilirler. En çok kullanılan familyalarının in vitro ortamda kolayca üretilmesi, basit ve güvenli bir şekilde uygulanabilmeleri ve hedef dışı canlılar için güvenli olmaları da nematodları iyi bir mücadele ajanı yapmaktadır. Günümüzde entomopatojenik nematodlar ticari olarak üretilen bir ürün haline gelmiş olup birçok tarımsal alanda güvenli bir şekilde kullanılmaktadır.

1.6.3.5. Entomopatojen Protozoalar

Böceklerle etkileşim içinde olan tanımlanmış yaklaşık 15.000 türün 1200'ü protozoalara ait türlerdir. Entomopatojen protozoalar, böcek popülasyonlarını düzenleyerek baskı altına almada önemli bir rol üstlenirler (Maddox, 1987). Genellikle konağa özgü olan entomopatojen protozoalar sadece canlı konukçularda gelişebilir ve bunun yanı sıra ara konukçulara ihtiyaç duyarlar. Böceklerde zayıflamaya neden olan kronik enfeksiyonlar oluşturduklarından ölümcül etkilerinin ortaya çıkması zaman alır. Virülansları diğer mikrobiyal ajanlara göre daha düşüktür. Bu nedenle entomopatojen protozoalar tarafından enfekte olan böceklerin ölümü bazen haftalarca sürebilir (Hoffman ve Frodsham, 1993). Böceklere ağız ve sindirim sistemi ile bulaşarak, bağırsak hücrelerine yerleşir ve enfeksiyonu başlatırlar.

Biyolojik mücadelede en fazla kullanılan entomopatojen protozoalar *Gregarine* cinsine ve *Microsporia* ordosuna ait türlerdir. Özellikle mikrosporlar böceklerle mücadelede yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Konağın immün sistemine karşı dirençli olmaları önemli avantajlarından. *Microsporia* ordosuna ait bir tür olan *Nosema locustae* çekirge kontrolü için kullanılan tek ticari üründür (Henry ve Oma, 1981).

1.7. Bakterilerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler

1.7.1. Nümerik Taksonomi Yöntemi

Nümerik taksonomi, biyolojik sistemlerde karakter özelliklerini esas alarak taksonomik birimlerin (OTU; Operational Taxonomic Unit) sayısal yöntemlerle gruplandırılmasına yarayan bir sınıflandırmadır. Günümüzde organizmaların karakter

durumu verilerine göre sayısal olarak kodlanmış matematiksel prosedürlerin uygulanmasını ifade eder. Çoğunlukla bu yöntem mikrobiyoloji alanında kullanılır. Bakterilerin sistematik çalışmalarında da birçok bilim adamı nümerik taksonomiyi kullanmaktadır (Sneath ve Sokal, 1973; Sneath, 1978; Goodfellow ve Dickinson, 1985; MacDonell ve Colwell, 1985; Sackin ve Jones, 1993).

Bu sınıflandırma, bakterilerin morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik özelliklerinin kullanılabilmesi için sayısal olarak düzenlenerek bilgisayar ortamında karşılaştırılması esasına dayanır. Yöntemin güvenilirliğini arttırmak amacıyla sayısal olarak düzenlenen ortalama 100-200 adet veriden oluşan karakterlerin karşılaştırılması yeterlidir (Sackin ve Jones, 1993; Johansson, 1999).

Nümerik taksonomi yönteminde kullanılan karakterler için iki durum vardır. Birincisi yokluk durumu ikincisi ise bir karakterin varlığı durumudur. Burada yokluğu 0, belirli bir karakterin varlığını ise 1 temsil etmektedir. Tüm karakteristik özellikler ve taksonomik birimler, bir veri matrisi şeklinde düzenlenir. Organizmaya ait karakterler dikkate alınarak, taksonomik birimlerin benzerlik oranları hesaplanır.

1.7.2. Yağ Asitleri Profillerine Göre Bakterilerin Tanısı ve Karakterizasyonu Yöntemi

Aynı çevresel şartlarda aynı genetiğe sahip mikroorganizmaların yağ asidi sayıları ve çeşitleri de aynıdır. Bu nedenle yağ asitleri mikroorganizmaların tanısında ve sınıflandırılmasında kullanılacak bir etken olarak karşımıza çıkar (Şahin, 2003). Bu tanımlamayı yapmak için özel sistemler geliştirilmiştir. Bunlardan biri bilgisayar destekli olarak çalışan Mikrobiyal İdentifikasyon Sistemi (MIS)'dir. Bu sistem mikroorganizmaların sitoplazma ve hücresel membranlarında bulunan yağ asitlerini tanımayı sağlar. Yağ asitlerinin sayısı, çeşitleri ve bulunduğu miktar ölçülerek sınıflandırmada kullanılır. Bu sınıflandırma özellikle bakterilerin, aktinobakterilerin ve gelişmiş fungusların çok kısa sürede tanımlanabilmelerine olanak sağlar (Miller ve Berger, 1985; Sasser, 1990; Dunfield vd., 1999; Buyer, 2002).

1.7.3. Metabolik Enzim Profilleri ve Biyokimyasal Özelliklerine Göre Bakterilerin Tanımlanması Yöntemi

Canlılar karbon kaynaklarını kullanırken farklılıklar gösterir. Mikroorganizmaların, basit şekerler, alkoller, aminoasitler gibi çeşitli karbon kaynaklarını kullanırken göstermiş olduğu bu farklılıklar onların tanımlanmasına olanak sağlar. Organizmada var olan metabolik enzim çeşitliliğinden ötürü karbon kaynaklarında ki farklılıklar değişkenlik göstermektedir (Black ve Sweetmore, 1994; Gamo ve Shoji, 1999). Mikroorganizmalarda var olan bu enzim farklılığı, familya kategorisinden başlayarak alt tür kategorisine kadar sürmektedir (Konopka vd., 1998; Yılmaz, 2004).

Mikroorganizmaların tanı ve karakterizasyonu için kullanılan metabolik farklılıkları saptamak için otomatik bakteri tanımlama ve duyarlılık test sistemleri kullanılmakta olup, ticari olarak da piyasada bulunmaktadır. Günümüzde, API ve VITEK teknikleri ile metabolik farklılıklar saptanarak mikroorganizmanın tanı ve karakterizasyonu yapılabilmektedir. Bu teknikler, canlının biyokimyasal özellikleri ile sistemde var olan referans canlılarının karşılaştırılması esasına dayanır.

1.8. Bakterilerin İnsektisidal Özelliklerinin Araştırılması

1.8.1. İzolatların İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi Yöntemi

Mikroorganizmaların zararlı böcekler üzerinde herhangi bir patojenik etkisinin olup olmadığını anlamak için biyoassay deneyleri yapılır. Biyoassay deneylerinin güvenilirliği ve doğruluğu için en hareketli ve sağlıklı böcekler seçilerek, doğal yaşam alanlarıyla aynı özelliklere sahip ortamlar hazırlanır. Deneye başladıktan sonra meydana gelen böcek ölümlerinin uygulanan mikroorganizmalardan mı kaynaklı yoksa başka faktörlerden mi olup olmadığını anlamak için, ölen böcekleri disekte ederek ölüm nedeni bulunmalıdır (Lipa, 1975; Lacey, 1997). Bunlar deney sonuçlarının hata oranını azaltacak metotlardır.

Böceklerde enfeksiyon oluşturacak mikroorganizmalar in vitro olarak ya da ölü ve hastalıklı böceklerden elde edilerek saf kültürleri hazırlanır ve deneylerde kullanılan zararlı böceklerle uygulanır. Mikroorganizmalarla böceklerde enfeksiyon başlatmak için birçok yöntem vardır. Mikroorganizmaların; besin yoluyla böceğe verilmesi, direk kütikula içine bulaştırma, ağız ve çevresi ile anal açıklıklara bulaştırma gibi yöntemler bunlara örnek olarak

verilebilir (Lipa, 1975). Böceklere mikroorganizmaların verilmesi ile deneyler başlatılmış olur. Deney süreleri kullanılan mikroorganizmalara göre belirlenir. Çünkü bazı mikroorganizmaların böcekte oluşturduğu enfeksiyon kısa sürelerde etkisini gösterirken bazıları daha uzun sürelerde gösterir. Örneğin, bakterilerin deney süreleri ortalama 10 gün devam ettirilirken, etkisini daha uzun sürelerde gösteren protozoaların 20-30 gün deneyleri sürdürülür. Deney grupları 10 gün süre ile günlük olarak kontrol edilerek, ölen böceklerin sayısı tespit not edilip ortalama ölüm oranlarının hesaplanması için Abbott (1925) formülü kullanıldı. Bu formül aşağıda ki gibi kullanılmaktadır.

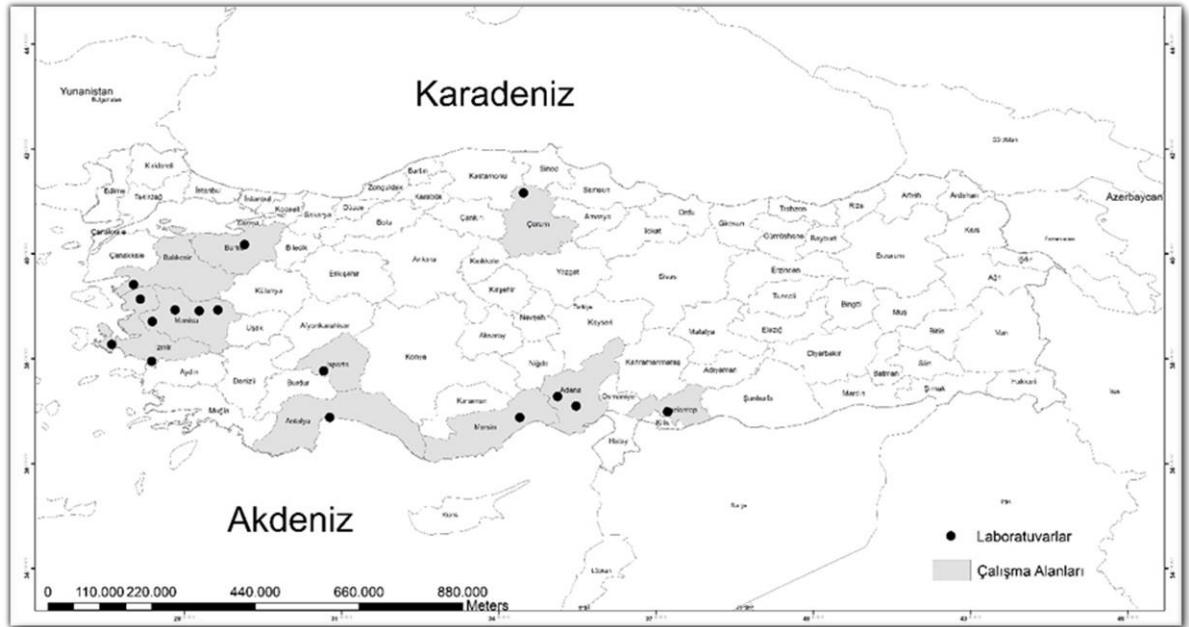
$$(\%) \text{ Ölüm oranı} = \frac{\text{Toplam ölüm oranı (\%)} - \text{Kontrol grubundaki ölüm oranı (\%)}}{(\%) 100 - \text{Kontrol grubundaki ölüm oranı (\%)}}$$

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Böceklerin Elde Edilmesi

Calosoma sycophanta L. ergin ve larvaları 2015-2018 yılları arasında İzmir’de Bergama, Selçuk ve Urla laboratuvarlarından, Adana’da Sarıçam ve Karaisalı laboratuvarlarından, Manisa’da Merkez, Demirci, Gördes ve Akhisar laboratuvarlarından, Balıkesir’de Burhaniye laboratuvarından, Çorum’da Kargı laboratuvarından, Bursa, Antalya, Isparta ve Gaziantep Merkez laboratuvarlarından olmak üzere 10 farklı bölgede ki 16 laboratuvardan toplandı. Ergin böceklerin mart ayının ilk günlerinde kışladıkları topraktan çıkması ile başlayan ve üretimin en yoğun olduğu dönem olan Mart-Nisan-Mayıs aylarında bu laboratuvarlara gidilerek böcekler temin edildi. Şekil 7’deki haritada *C. sycophanta* L. örneklerinin toplandığı laboratuvarlar gösterilmektedir.



Şekil 7. *Calosoma sycophanta* L.'nin toplandığı bölgeler-laboratuvarlar (Uzuner, 2017)

Yapılan arazi çalışmaları sırasında herhangi bir kontaminasyon olmaması için farklı laboratuvarlardan alınan böcekler ayrı ayrı kaplara konuldu. Ayrıca deneylerin güvenilirliği açısından böceklerin taşınırken herhangi bir zarara uğramaması ve enfeksiyon oluşmaması için dikkatli bir şekilde steril kaplara konularak muhafaza edildi. Kapların üzerine böceklerin temin edildiği bölge, alındığı laboratuvar ve tarihi gibi notlar yazılarak karışıklık yaşanmasının önüne geçildi. Taşınma sırasında oluşabilecek nem, açlık gibi durumların önüne geçmek için böcekler en kısa sürede laboratuvara getirilerek çalışmalara başlandı.

2.2. Yöntem

2.2.1. Total Bakteri İzolasyonu

Yetişkin *Calosoma sycophanta* örnekleri 2015-2018 yıllarında Akhisar, Bergama, Gördes, Antalya, Bursa, Demirci, Manisa, Adana, Burhaniye ve Kahramanmaraş bölgeleri olmak üzere 16 farklı laboratuvarından toplandı. Her bir böcek fizyolojik bir çözelti içerisinde (% 0.8 NaCl) disekte edildi ve 40x–400x’lik büyütmelerde mikroskopik olarak incelendi. Bakteriyel hastalık varlığından şüphe edilen *C. sycophanta* örneklerinden 302 adet bakteri izolasyonu yapıldı. İzolasyon aşamasına geçmeden önce, larvalar ve yetişkinler ayrı ayrı % 70’lik etanole yerleştirildi ve 3 dakika boyunca hafifçe çalkalandı. Daha sonra ise yüzey sterilizasyonu için damıtılmış suyla yıkandı (Kuzina vd. 2001; Yaman vd. 2002). Sonrasında ise örnekler, aseptik şartlara dikkat edilerek iki kez daha steril saf suyla yıkandı. Daha sonra böceğin hemosölüne girmek için steril 1 ml’lik iğneler kullanıldı. Hemosölden alınan süspansiyon, Nutrient Agar üzerine yayma plaka ekimi yapıldı ve sonra 32 °C’de 1-2 gün inkübasyona bırakıldı. Bakterilerin renk ve koloni morfolojisine bakılarak saf kültürler hazırlandı.

2.2.2. Saf Kültürlerin Hazırlanması

İnkübasyon aşamasından sonra saf kültürleri hazırlamak için Nutrient Agar (Merck) üzerindeki kolonileri morfolojisine ve rengine göre gruplandırıp birbirinden farklı olanları tekrar çizgi ekim yöntemi ile Nutrient Agar’a ekim yaparak saf kültürler hazırlandı. Bundan sonra örnekler farklı boyama yöntemleri ile boyandı. Boyama sonucunda bakteri şekil ve

renklerine göre ayrılan örnekler koloni ve renk morfolojisi bakımından benzer olanlar gruplandırıldı ve içlerinden biri tür teşhisinde kullanıldı.

2.2.3. Saf Kültürlerin Stoklanması

İlk olarak Nutrient Broth (Merck) kullanılarak % 20'lik gliserol stok hazırlandı. Bunu takiben 1,50 mL'lik ependorf tüplerine gliserol stoktan koyularak 121 °C'de 15 dakika otoklava bırakıldı. Otoklavdan sonra ise daha önceden Nutrient Agar'a ekimleri yapılmış saf kültürlerden steril öze ile alarak tüplere inoküle edildi ve -20 °C'de saklandı. Böylece deneylerde kullanılacak olan ana stoklar hazırlanmış oldu. İzolatlar, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nde saklandı.

2.3. Bakteriyel İzolatların Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

2.3.1. Koloni Morfolojisinin Belirlenmesi

Nutrient Agar (Merck)'e çizgi ekim yöntemiyle ekilen izolatlar 37 °C'de 24 saat inkübasyona bekletildi. İnkübasyon sonucunda kolonilerin rengine, kenar şekline ve büyüklüğüne göre morfolojik olarak değerlendirildi (Saygılı vd., 2006).

2.3.2. Basit Boyama Yöntemi

Smearların boyanması yöntemi, ölü mikroorganizmaların hücre morfolojisi, büyüklüğü ve bakterilerin dizilişlerinin mikroskopik incelenmelerinde çok yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu yöntemde izolatlar, Nutrient Agar (Merck) olan petrilere ekimi yapılarak 37 °C'de 24 saat boyunca etüvde bekletildi. İnkübasyondan sonra kültürlerden bakteriyel smear hazırlandı. Boyamaya geçmeden önce fiksasyon amacıyla smear örnek bulunmayan tarafından birkaç kez alevden geçirildi. Bunu takiben boya olarak Kristal Violet (Merck) solüsyonu ile olarak 1-2 dakika muamele edildi. Sonrasında ise distil su ile yıkanarak ışık mikroskobu altında incelendi (Benson, 1985).

2.3.3. Gram Boyama Yöntemi

Basit boyamada olduğu gibi yine izolatlar, Nutrient Agar (Merck) olan petrilere ekimi yapılarak 37 °C’de 24 saat boyunca etüvde bekletildi. İnkübasyondan sonra kültürlerden bakteriyel smear hazırlandı. Boyamaya geçmeden önce fiksasyon amacıyla smear örnek bulunmayan tarafından birkaç kez alevden geçirildi. Bu aşamadan sonra smear ilk olarak primer boya uygulaması kapsamında kristal violet boyası içinde 1 dakika boyunca bekletildikten sonra distil su ile yıkandı. Zaman geçirilmeden lügol içerisine konularak 3 dakika daha bekletildi ve akabinde alkolle yıkandı. Son aşamaya geçmeden önce smear bir kez daha distil su ile yıkandı. Daha sonra ise 1 dakika boyunca sekonder boya olan safranin ile boyanan smear tekrar distil su ile yıkandı. Kurumaya bırakıldıktan sonra en son renk değişimlerini görmek için mikroskopta gözlemlendi. Pembe renkli olanlar Gram negatif, mor renkli olanlar ise Gram pozitif olarak ayrıldı (Cappuccino ve Sherman, 1992).

2.3.4. Endospor Boyama Yöntemi

Spor oluşumu bakteriler için önemli ve ayırıcı bir özelliktir. Bu amaçla endospor oluşup oluşmadığını belirlemek için bu boyama yöntemi kullanıldı. İlk olarak Nutrient Agar (Merck) üzerine ekimi yapılan izolatlar 37 °C’de 48-72 saat boyunca etüvde bekletildi. Sonrasında bakteriyel smear hazırlanarak fiksasyon amacıyla smear örnek bulunmayan tarafından birkaç kez alevden geçirildi. Fikse edilen smearlar, filtre kâğıdı ile kapatılarak buhar üzerinde 5 dakika boyunca kurumaması şartıyla Malaşit Yeşili (Merck) ile boyandı. Sonrasında distil su ile yıkanarak yaklaşık 1 dakika safranin ile boyandı. Bu son boyama işleminden sonra tekrar distil su ile yıkanarak kurumak üzere bırakıldı. Kuruma gerçekleştikten sonra ise mikroskopta gözlemlendi (Cappucino ve Sherman, 1992).

2.3.5. Kristal Boyama Yöntemi

Daha çok spesifik bir boyama yöntemi olan kristal boyama tekniği, izolatların *Bacillus thuringiensis* bakterisinde bulunan kristal proteinin var olup olmadığını öğrenmek amacıyla yapılmaktadır. Bu boyama yönteminde % 50’lik etanol ve % 7’lik asetik asit solüsyonu içinde % 25 oranında CBB karışımından oluşan Coomassie Brilliant Blue (Merck) boyası

kullanıldı. Diğer boyama yöntemlerinde olduğu gibi yine izolatlar, Nutrient Agar (Merck) olan petrilere ekimi yapılarak 37 °C’de 24 saat boyunca etüvde bekletildi. İnkübasyondan sonra kültürlerden bakteriyel smear hazırlandı. Boyamaya geçmeden önce fiksasyon amacıyla smear örnek bulunmayan tarafından birkaç kez alevden geçirildi. Fiksasyon aşamasından sonra smear, CBB boyası ile 3 dakika boyandı. Sonrasında hemen musluk suyu ile yıkanıp kurumaya bırakıldıktan sonra ışık mikroskobu ile kristal proteinlerin varlığı incelendi (Fadel vd., 1988).

2.4. Bakteriyel İzolatların Özelliklerinin VITEK® 2 Advanced Colorimetry™ Sistemiyle Belirlenmesi

İzolatlar, Nutrient Agar (Merck) olan petrilere ekimi yapılarak 37 °C’de 24 saat boyunca etüvde inkübasyonda bekletildi. Bu işlemlerden sonra izolatların tazeliği bozulmadan Ordu ve Giresun Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlükleri’nde bulunan Vitek® 2 Advanced Colorimetry™ (Biome’rieux) cihazları kullanılarak izolatların biyokimyasal özellikleri belirlendi. Floresan esaslı VITEK® 2 sisteminde 64 kuyucuklu kartların kullanımıyla sıvı dilüsyon bazlı Gram negatif, Gram pozitif, maya ve küf gibi organizmaların tanımlanmaları sağlanır (Verweij vd., 1999; Pincus, 2002). Bu yöntemde sonuçların hızlı ve doğruluğunu arttıran Gram-Negatif (GN), Gram-Pozitif (GP) ve Bacil (BCL) kartları kullanıldı. VITEK® 2 cihazlarıyla kullanımı için tasarlanan kartlardan biri olan Gram-Negatif kartı (GN) birçok Gram-negatif basilin otomatik olarak tanımlanmasını sağlar. Bu kart 47 biyokimyasal test ve bir de negatif kontrol kuyucuğuna sahiptir. GN kartı ile yaklaşık olarak 10 saat gibi bir sürede sonuçlar çıkar. Gram pozitif kartı (GP) ise 43 biyokimyasal teste sahiptir. Özellikle bunlar karbon kaynağı kullanımını, enzimatik aktiviteleri ve direnci ölçmeye yararlar. GP kartı ile de yaklaşık olarak 8 saat gibi bir sürede sonuçlar çıkar. Bacillus Identifikasyon kartı da (BCL) 46 biyokimyasal teste sahiptir. Yine bu kartta karbon kaynağı kullanımını, enzimatik aktiviteleri ve inhibisyon direncini ölçmeyi sağlar. Diğer kartlara göre daha uzun olan tanımlama sonuçları yaklaşık 14 saat gibi bir sürede çıkar. Kartların hepsi tek kullanımlıdır, kullanıldıktan sonra atılabilir. Kartların kuyucuk içerikleri sırasıyla 1, 2, 3 tablolarında gösterilmiştir.

İzolatlar içerisinde 3 mL salin çözeltisi olan polistiren test tüplerine Gram pozitif ve Gram negatifler için steril öze yardımıyla inoküle edildi. Yoğunluğu McFarland No: 0,50-0,60’a eşdeğer olan ve ölçüm ayarları yapılmış McFarland cihazı kullanılarak homojen

organizma süspansiyonunu hazırlandı. Basiller için de yine aynı işlemler yapıldı. Sadece farklılık olarak homojen organizma süspansiyonu hazırlarken yoğunluğu McFarland No: 1,80-2,20'ye eşdeğer olan McFarland cihazı kullanıldı. Bu işlemler Gram pozitif, Gram negatif ve bacil örneklerinin her biri için tekrarlandı. En son ise hazırlanan süspansiyonlar ve kartlar cihazın kasetine yerleştirildi. Yaklaşık olarak 8 saat sonra sonuçlar alındı.



Tablo 1. Gram negatif kartı kuyucuk içerikleri

Test	Anımsatıcı	Test	Anımsatıcı
Ala-Phe-Pro Arilamidaz	APPA	Sakkaroz/Sükroz	SAC
Adonitol	ADO	D-Tagatoz	dTAG
L-Pirolidonil-Arilamidaz	PyrA	D-Trehaloz	dTRE
L-Arabitol	lARL	Sitrat (Sodyum)	CIT
D-Selobiyoz	dCEL	Malonat	MNT
Beta-Galaktosidaz	BGAL	5-Keto-Glukonat	5KG
H ₂ S Oluşumu	H ₂ S	L-Laktat alkalileşmesi	ILATk
Beta-N-Asetil Glikozaminidaz	BNAG	Alfa-Glikosidaz	AGLU
Glutamil Arilamidaz Pna	AGLTp	Sükkinat alkalileşmesi	SUCT
D-Glikoz	dGLU	Beta-N-Asetil- Galaktozaminidaz	NAGA
Gama-Glutamil- Transferaz	GGT	Alfa-Galaktosidaz	AGAL
Fermantasyon/Glikoz	OFF	Fosfataz	PHOS
Beta-Glikosidaz	BGLU	Glisin Arilamidaz	GlyA
D-Maltoz	dMAL	Ornitin Dekarboksilaz	ODC
D-Mannitol	dMAN	Lizin-Dekarboksilaz	LDC
D-Mannoz	dMNE	L-Histidin asimilasyonu	IHISa
Beta-Ksilosidaz	BXYL	Kurmarat	CMT
Beta-Alanin	BAlap	Beta-Glukuronidaz	BGUR
L-Prolin Arilamidaz	ProA	O/129Direnci (comp. vibrio.)	O129R
Lipaz	LIP	Glu-Gli-Arg-Arilamidaz	GGAA
Palatinoz	PLE	L-Malat asimilasyonu	IMLTa
Tirosin Arilamidaz	TyrA	Ellman	ELLM
Üreaz	URE	L-Laktat asimilasyonu	ILATa
D-Sorbitol	dSOR		

Tablo 2. Gram pozitif kartı kuyucuk içerikleri

Test	Anımsatıcı	Test	Anımsatıcı
D-Amigdalın	AMY	Polimiksin B Direnci	POLYB
Fosfatidilinositol	PIPLC	D-Galaktoz	dGAL
Fosfolipazc			
D-Ksiloz	dXYL	D-Riboz	dRIB
Arginin Dihidrolaz 1	ADH1	L-Laktat alkalileşmesi	ILATk
Beta-Galaktosidaz	BGAL	Lactose	LAC
Alfa-Glikosidaz	AGLU	N-Asetil-D-Glikozamin	NAG
Ala-Phe-Pro Arilamidaz	APPA	D-Maltoz	dMAL
Siklodekstrin	CDEX	Basitrasin Direnci	BACI
L-Aspartat Arilamidaz	AspA	Novobiosin Direnci	NOVO
Beta-Galaktopiranosidaz	BGAR	% 6,50 NaCl'de Çoğalma	NaCl % 6,50
Alfa-Mannosidaz	AMAN	D-Manitol	dMAN
Fosfataz	PHOS	D-Mannoz	dMNE
Lösin Arilamidaz	LeuA	Metil-B-D-Glukopiranosid	MBdG
L-Prolin Arilamidaz	ProA	Pullulan	PUL
Beta Glukuronidaz	BGURr	D-Rafinoz	dRAF
Alfa-Galaktosidaz	AGAL	O/129 Direnci (comp. vibrio.)	O129R
L-Pirolidonil-Arilamidaz	PyrA	Salisin	SAL
Beta-Glukuronidaz	BGUR	Sakkaroz/Sükroz	SAC
Alanin Arilamidaz	AlaA	D-Trehaloz	dTRE
Tirosin Arilamidaz	TyrA	Arginin Dihidrolaz 2	ADH2s
D-Sorbitol	dSOR	Optokin Direnci	OPTO
Üreaz	URE		

Tablo 3. Bacil kartı kuyucuk içerikleri

Test	Anımsatıcı	Test	Anımsatıcı
Beta-Ksilosidaz	BXYL	D-Mannitol	dMAN
L-Lizin Arilamidaz	LysA	D-Mannoz	dMNE
L-Aspartat Arilamidaz	AspA	D-Melezitoz	dMLZ
Lösin Arilamidaz	LeuA	N-Asetil-D- Glikozamin	NAG
Fenilalanin Arilamidaz	PheA	Palatinoz	PLE
L-Prolin Arilamidaz	ProA	L-Ramnoz	IRHA
Beta-Galaktozidaz	BGAL	Beta-Glikosidaz	BGLU
L-Pirolidonil-Arilamidaz	PyrA	Beta-Mannosidaz	BMAN
Alfa-Galaktozidaz	AGAL	Fosforil Kolin	PHC
Alanin Arilamidaz	AlaA	Piruvat	PVATE
Tirosin Arilamidaz	TyrA	Alfa-Glikosidaz	AGLU
Beta-N-Asetil-Glikozaminidaz	BNAG	D-Tagatoz	dTAG
Ala-Phe-Pro Arilamidaz	APPA	D-Trehaloz	dTRE
Siklodekstrin	CDEX	Inulin	INU
D-Galaktoz	Dgal	D-Glikoz	dGLU
Glikojen	GLYG	D-Riboz	dRIB
Myo-İnositol	INO	Putresin asimilasyonu	PSCNa
Metil-A-D- Glukopiranosid asitleşmesi	MdG	% 6,50 NaCl'de çoğalma	NaCl % 6,50
Ellman	ELLM	Kanamisin Direnci	KAN
Metil-D-Ksilosid	MdX	Oleandomisin Direnci	OLD
Alfa-Mannosidaz	AMAN	Eskülin hidrolizi	ESC
Maltotrioz	MTE	Tetrazolium Kırmızısı	TTZ
Glisin Arilamidaz	GlyA	Polimiksin_B Direnci	POLYB_R

2.5. 16S rDNA Gen Filogenisi Analizi Yöntemi

İzole edilen tüm bakteriler, sonuçların güvenilirliği açısından ek olarak 16S rDNA analizi kullanılarak tanımlandı. Bu yöntemde DNA ekstraksiyonu için saf bakteri süspansiyonları kullanıldı. Süspansiyonlar hazırlandıktan sonra eşit oranda olacak şekilde bakteri süspansiyonu ve glass bead'ler ependorf tüplerine konularak vorteks üzerinde maksimum hızda 1 dakika boyunca kuvvetlice çalkalandı. İyice karışan çözeltilere proteinaz K eklenerek, etüv içerisinde 3 saat 56 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon aşamasından sonra, birkaç değişiklik yapmak suretiyle Hyliš vd., (2005)'e ve üreticinin talimatlarına uygun bir şekilde DNA izolasyon kiti kullanılarak nükleik asit ekstraksiyonu yapıldı. Son olarak bakteriyel 16S rDNA genlerini sıralamak ve izolatları tanımlamak amacıyla izole edilen bakteriyel DNA'lar Sentegen Biotech Company'ye (Ankara, Türkiye) gönderildi.

2.6. Bakterilerin İnsektisidal Özelliklerinin ve Metabolizma Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması

2.6.1. İzolatların *Calosoma sycophanta* Üzerindeki İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi

Mikroorganizmaların zararlı böcekler üzerinde herhangi bir patojenik etkisinin olup olmadığını anlamak için biyoassay deneyleri yapılır. Biyoassay deneylerinin güvenilirliği ve doğruluğu için en hareketli ve sağlıklı böcekler seçilerek, doğal yaşam alanlarıyla aynı özelliklere sahip ortamlar hazırlanır. Deneye başladıktan sonra meydana gelen böcek ölümlerinin uygulanan mikroorganizmalardan mı kaynaklı yoksa başka faktörlerden mi olup olmadığını anlamak için, ölen böcekleri disekte ederek ölüm nedeni bulunmalıdır (Lipa, 1975; Lacey, 1997). Bunlar deney sonuçlarının hata oranını azaltacak metotlardır.

Böceklerde enfeksiyon oluşturacak mikroorganizmalar in vitro olarak ya da ölü ve hastalıklı böceklerden elde edilerek saf kültürleri hazırlanır ve deneylerde kullanılan zararlı böcekler üzerine uygulanır. Mikroorganizmalarla böceklerde enfeksiyon başlatmak için birçok yöntem vardır. Mikroorganizmaların; besin yoluyla böceğe verilmesi, direk kütikula içine bulaştırma, ağız ve çevresi ile anal açıklıklara bulaştırma gibi yöntemler bunlara örnek olarak verilebilir (Lipa, 1975). Böcekler mikroorganizmaların verilmesi ile deneyler başlatılmış olur. Deney süreleri kullanılan mikroorganizmalara göre belirlenir. Çünkü bazı mikroorganizmaların böcekte oluşturduğu enfeksiyon kısa sürelerde etkisini gösterirken

bazıları daha uzun sürelerde gösterir. Örneğin, bakterilerin deney süreleri ortalama 10 gün devam ettirilirken, etkisini daha uzun sürelerde gösteren protozoaların 20-30 gün deneyleri sürdürülür.

Bu tez çalışmasında 16S rDNA analizi kullanılarak en fazla izole edilmiş 6 bakteri tanımlanmıştır. Bu 6 farklı bakteri izolatının faydalı bir tür olan *C. sycophanta*'nın erginler ve larvalar üzerindeki etkilerini insektisit aktivitesi açısından belirlemek amacıyla deneyler yapıldı. İlk olarak ekim yapılacak olan besiyerleri hazırlandı. Bu amaçla toz halinde bulunan Nutrient Agar (Merck) besiyerinden ölçülere dikkat ederek hassas terazide tartılıp erlen mayerde distil su ile karıştırıldı. İçerisinde agar, su ve karıştırıcı çubuk bulunan erlen mayeri manyetik karıştırıcı üzerine koyarak agarın homojen bir şekilde çözülmesi sağlandı. Bu işlemde sonra besiyeri otoklav ile sterilize edildi. Dökmek için yeterli ısı seviyesine inen besiyeri, steril kabin içerisinde aseptik kurallara dikkat edilerek petrilere döküldü. Besiyerlerin soğuyup katılaşmasından sonra tanımlanmış olan bakteri izolatları, yine steril kabin içerisinde aseptik kurallara dikkat edilerek steril öze ile Nutrient Agar (Merck) olan petrilere ekimi yapıldı ve 37 °C'de 24 saat boyunca etüvde bekletildi. Bundan sonra ikinci olarak asıl deneylerde kullanılacak olan sıvı besiyerleri hazırlandı. Katı besiyeri ile hazırlanış aşamaları aynı olan sıvı besiyeri test tüplerine dökülerek otoklav edildi. Soğuduktan sonra petrilereki taze izolatlar tekrar steril kabin içerisinde aseptik kurallara dikkat edilerek steril öze ile sıvı besiyerlere inoküle edildi ve 37 °C'de 24 saat boyunca etüvde bekletildi. 10'ar tane olmak üzere *C. sycophanta* ergin ve larvaları ayrı ayrı kutulara konularak deney grupları oluşturuldu ve hazırlanan 6 farklı bakteri türünün her biri ayrı ayrı uygulandı. *C. sycophanta*'nın hem erginleri hem de larvaları, *T. pityocampa*'nın hem larvaları hem de pupaları ile beslenmektedirler. Bu nedenle sıvı besiyerde hazırlanan bakteri izolatları enjektör ile *T. pityocampa*'ya enjekte edildi. Kontrol grubunda olanlar ise steril su enjekte edilmiş *T. pityocampa* ile beslendi. Test edilen tüm gruplar laboratuvar koşullarında 24-28 ° C, % 35-45 bağıl nem ve 18:6 fotoperiyotta tutuldu (Şekil 8). Deney grupları 10 gün süre ile günlük olarak kontrol edilerek, ölen böceklerin sayısı tespit edilip ortalama ölüm oranlarının hesaplanması için Abbott (1925) formülü kullanıldı.



Şekil 8. Deney düzenekleri

Ayrıca pozitif kontrol amacıyla izole edilen bakterilerin *C. sycophanta* haricinde özellikle de zararlı böceklerde patojenik etki gösterip göstermediğini belirlemek için çalışmalar yapıldı. Her ne kadar predatör böceklerde enfeksiyon istenmese de zararlı böceklerde bu bakterilerin patojenik etki göstermesi biyolojik mücadele açısından oldukça önemlidir. Çünkü bu durum pozitif kontrolün yapılmasına olanak sağlar. Bu amaçla izole altı bakteri Türkiye’de de önemli bir tarım zararlısı olan patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata*) üzerinde test edilerek gözlemlendi.

Bu amaçla 6 farklı bakteri izolatının zararlı bir tür olan *L. decemlineata*’nın larvaları üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla ilk olarak ekim yapılacak olan besiyerleri hazırlandı. Toz halinde bulunan Nutrient Agar (Merck) besiyerinden ölçülere dikkat edilerek hassas terazide tartılıp erlen mayerde distil su ile karıştırıldı. İçerisinde agar, su ve karıştırıcı çubuk bulunan erlen mayeri manyetik karıştırıcı üzerine koyarak agarın homojen bir şekilde çözülmesi sağlandı. Bu işlemden sonra besiyeri otoklav ile sterilize edildi. Dökmek için yeterli ısı seviyesine inen besiyeri, steril kabin içerisinde aseptik kurallara dikkat edilerek petrilere döküldü. Besiyerlerin soğuyup katılaşmasından sonra tanımlanmış olan bakteri izolatları, yine steril kabin içerisinde aseptik kurallara dikkat edilerek steril öze ile Nutrient

Agar (Merck) olan petrilere ekimi yapıldı ve 37 °C’de 24 saat boyunca etüvde bekletildi. Bundan sonra ikinci olarak asıl deneylerde kullanılacak olan sıvı besiyerleri hazırlandı. Katı besiyeri ile hazırlanış aşamaları aynı olan sıvı besiyeri test tüplerine dökülerek otoklav edildi. Soğuduktan sonra petrilerdeki taze izolatlar tekrar steril kabin içerisinde aseptik kurallara dikkat edilerek steril öze ile sıvı besiyerlere inoküle edildi ve 37 °C’de 24 saat boyunca etüvde bekletildi. Bundan sonra 20’şerli olmak üzere *L. decemlineata* larvaları, hazırlanan her bir bakteri için ayrı ayrı kutulara konuldu. Zararlıının besin kaynağı olan patates yaprakları, bakteri izolatlarına daldırılıp kutu içinde ki patates böceklerine verildi. Ayrıca kontrol grubu oluşturup ona da suya daldırılan patates yaprakları verildi. Birinci günün ardından deney grupları kontrol edilerek besinlerin yenilip yenilmediği kontrol edildi. Test edilen tüm gruplar laboratuvar koşullarında 24-28 °C, % 35-45 bağıl nem ve 18:6 fotoperiyotta tutuldu. Deney gruplarına her gün yeterli miktarda besin verilerek 10 gün süre ile günlük olarak kontrol edildi ve ölen böceklerin sayısı tespit edilip ortalama ölüm oranlarının hesaplanması için Abbott (1925) formülü kullanıldı.

2.6.2. İzolatların *Calosoma sycophanta* Metabolizması Üzerindeki İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi

Biyolojik mücadele açısından oldukça önemli bir predatör böcek türü olan *Calosoma sycophanta* her açıdan değerlendirilmelidir. Çünkü burada sadece amaç predatör böceğin ölmemesi değildir. Üreme ve metabolik durumlarında oluşacak bir sorun da hem mücadele açısından hem de üretiminden dolayı ekonomik olarak zarara neden olacaktır. Çünkü böcek ne kadar sağlıklı ve hareketli ise o kadar fazla çam kese böceği ile beslenecektir. Bu amaçla beslenme durumu ve yumurtlama verimi üzerine deneyler yapıldı. *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas putida* ve *Streptomyces albogriseolus* bakteriyal izolatları *C. sycophanta* erginlerinde denendi, yumurta ve besin yeme durumlarına bakıldı.

3. BULGULAR

Bu tez çalışmasında, üç yıl boyunca Türkiye'deki yetiştirme laboratuvarlarında kitle üretimi yapılan ve biyolojik mücadele kapsamında orman zararlılarına karşı predatör böcek olarak kullanılan *Calosoma sycophanta* L. yetişkinleri ve larvalarında enfeksiyonlara neden olan entomopatojen bakterilerinin varlığı ve ona karşı etkinliğinin belirlenmesi çalışılmıştır.

2015 ile 2018 yılları arasında Akhisar, Bergama, Gerdes, Antalya, Bursa, Demirci, Manisa, Adana, Burhaniye ve Kahramanmaraş gibi Türkiye'nin farklı bölgelerinde bulunan 16 farklı laboratuvardan *C. sycophanta* örnekleri toplanmıştır. Toplam olarak, *C. sycophanta* erginlerinden ve larvalarından 302 bakteri izolasyonu yapılmıştır. Çalışmada tür tayini için rutin olarak kullanılan sitolojik, morfolojik ve biyokimyasal özelliklerin dışında, bakterilerin tür tayinlerinin daha kesin bir şekilde yapılabilmesi için floresan temelli yeni bir teknoloji olan Vitek® 2 sistemi (bioMérieux) kullanıldı. VİTEK® 2 ile yapılan çalışmalar sonucunda 302 bakteri izolasyonu tür seviyesinde tanımlandı. Elde edilen türler, üretim laboratuvarlarına göre gruplandırıldı (Tablo 4). Bu bakterilerden insektisidal etki gösterebilme potansiyeli olan 6 türün *C. sycophanta*'nın üzerinde etkinliği araştırılmıştır. *C. sycophanta*'dan izole edilen bakteriler: *Streptomyces albogriseolus*, *Proteus penneri*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas putida*, *Providencia rettgeri*, *Providencia vermicola* olarak tanımlanmıştır.

Tablo 4. *Calosoma sycophanta*'dan izole edilen bakteriler

Bakteri izolatları	Lokalite
<i>Bacillus megaterium</i>	Akhisar, Gerdes, Bergama, Antalya
<i>Bacillus firmus</i>	Akhisar
<i>Bacillus badius</i>	Bergama
<i>Bacillus coagulans</i>	Akhisar, Bergama
<i>Bacillus cereus</i> / <i>Bacillus thuringiensis</i> / <i>Bacillus mycoides</i>	Gerdes, Adana, Manisa, Bergama, Burhaniye, Bursa, Mersin, Antalya, Kahramanmaraş
<i>Bacillus fortis</i>	Gerdes, Bergama
<i>Brevibacillus choshinensis</i>	Bergama, Akhisar, Manisa, Demirci, Mersin
<i>Staphylococcus sciuri</i>	Akhisar
<i>Enterococcus faecalis</i>	Akhisar
<i>Staphylococcus sciuri</i>	Bergama

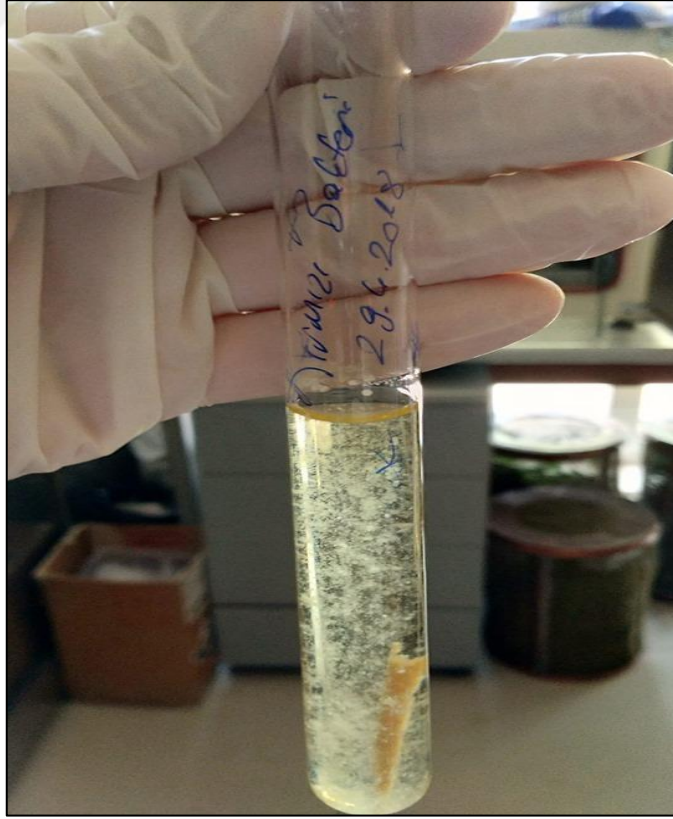
Tablo 4.'ün devamı

<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	Antalya
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Antalya
<i>Pseudomonas putida</i>	Antalya
<i>Pseudomonas luteola</i>	Gerdes, Akhisar, Bergama, Adana, Antalya
<i>Proteus mirabilis</i>	Akhisar, Gerdes Kahramanmaraş, Adana, Antalya
<i>Proteus hauseri</i>	Antalya
<i>Providencia rettgeri</i>	Antalya
<i>Providencia vermicola</i>	Antalya
<i>Streptomyces albogriseolus</i>	Antalya
<i>Sphingomonas spaucimobilis</i>	Antalya
<i>Serratia marcescens</i>	Antalya
<i>Entorobacter cloacea</i>	Antalya
<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	Mersin
<i>Vibrio vulnificu</i>	Akhisar

Morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre tanımlanan ve *C. sycophanta* üzerinde etkilerinin varlığı araştırılan farklı bakteri türünden *Streptomyces albogriseolus* olarak tanımlanan izolatın petri ve sıvı besiyerdeki görüntüsü Şekil 9-10, *Pseudomonas putida* olarak tanımlanan izolatın petri görüntüsü Şekil 11, *Providencia rettgeri* olarak tanımlanan izolatın petri görüntüsü Şekil 12, *Providencia vermicola* olarak tanımlanan izolatın petri görüntüsü Şekil 13, *Proteus vulgaris* olarak tanımlanan izolatın petri görüntüsü Şekil 14, *Proteus penneri* olarak tanımlanan izolatın petri görüntüsü Şekil 15'de gösterilmiştir.



Şekil 9. *Streptomyces albogriseolus* çizgi ekimi



Şekil 10. *Streptomyces albogriseolus* sıvı besiyer



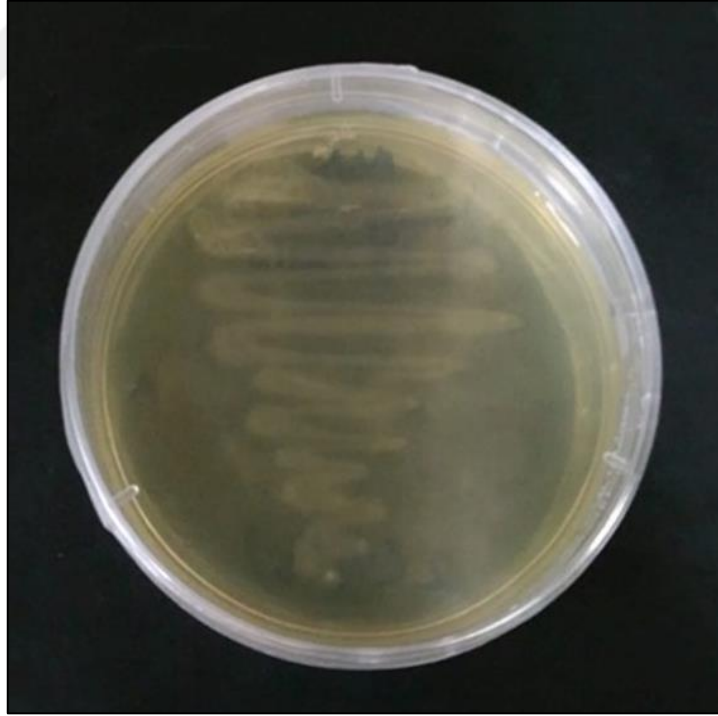
Şekil 11. *Pseudomonas putida* çizgi ekimi



Şekil 12. *Providencia rettgeri* çizgi ekimi



Şekil 13. *Providencia vermicola* çizgi ekimi

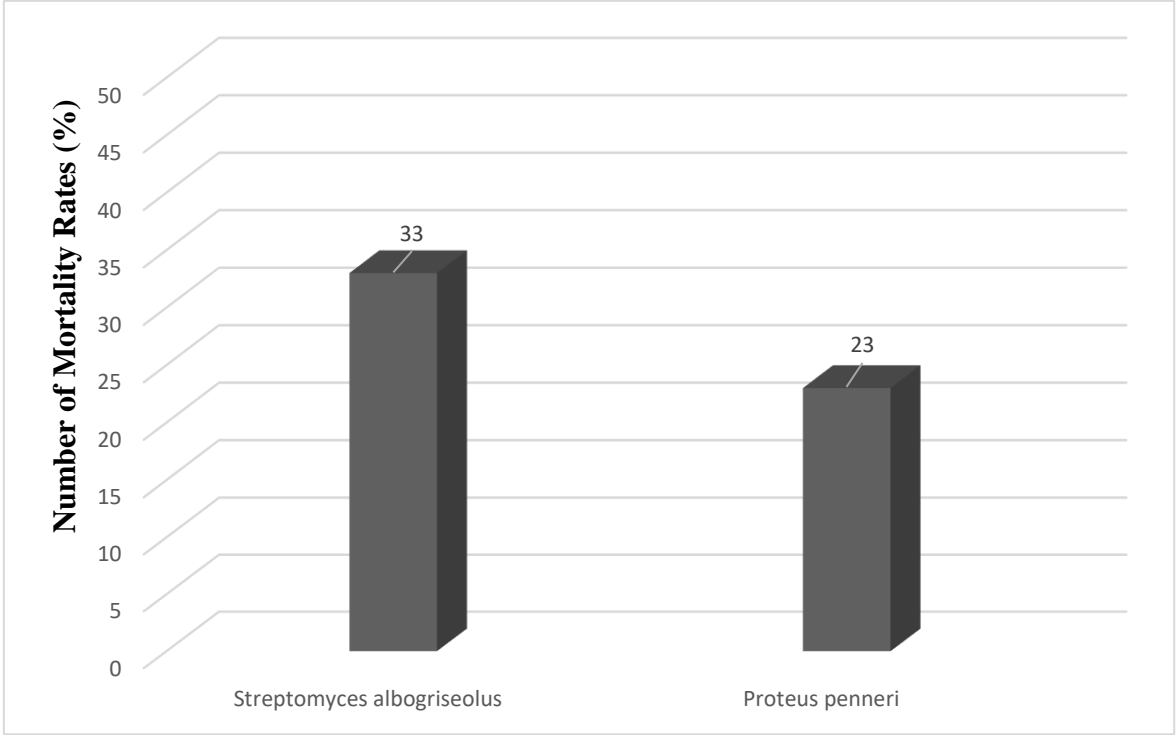


Şekil 14. *Proteus vulgaris* çizgi ekimi

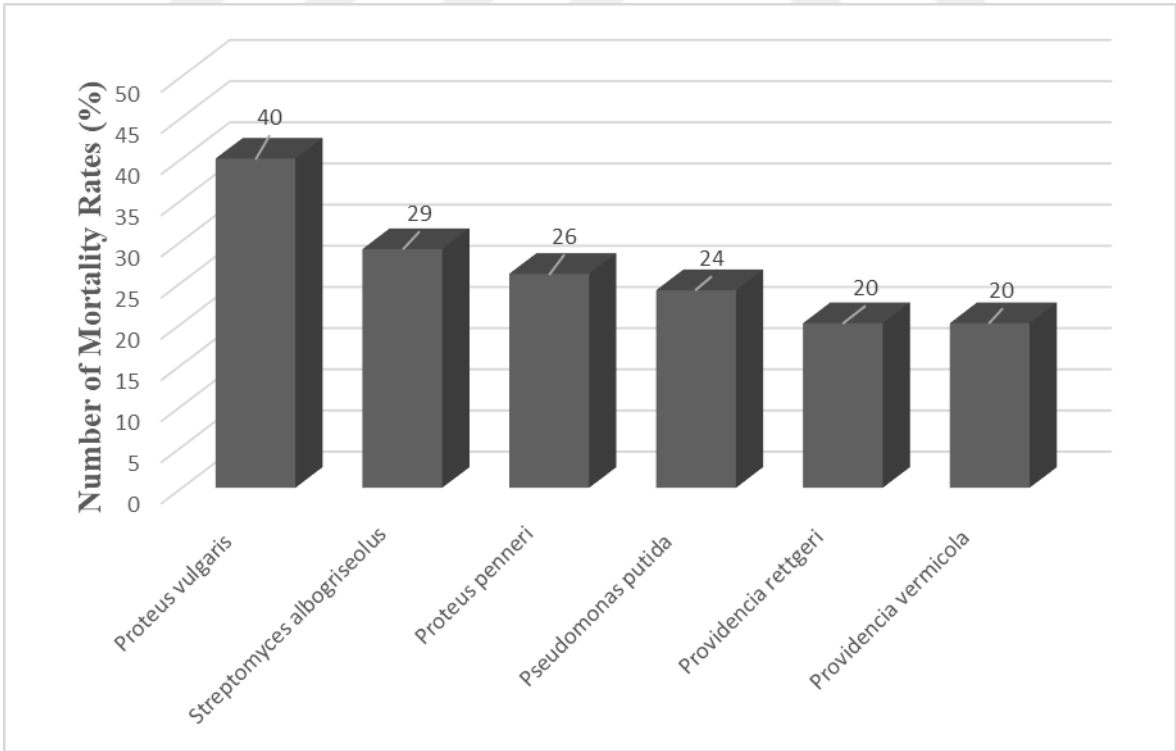


Şekil 15. *Proteus penneri* çizgi ekimi

C. sycophanta'dan izole edilen bakterilerin patojenliğini belirlemek amacıyla yapılan deneylerde, izole altı bakterinin, *C. sycophanta*'nın yetişkinleri ve larvaları üzerinde % 20-40 arasında mortaliteye neden olarak patojenik bir etkiye sahip olduklarını gösterdi. Bakteri izolatlarının *C. sycophanta* üzerindeki patojenik etkileri, Şekil 16 ve 17'de gösterilmiştir. *S. albogriseolus* ve *P. penneri*, *C. sycophanta* erişkinlerinde sırasıyla % 33,33 ve % 29,52 mortalite göstermiştir (Şekil 16). *C. sycophanta* larvalarında ise, *S. albogriseolus*, *P. penneri*, *P. putida*, *P. rettgeri* ve *P. vermicola*, *C. sycophanta* sırasıyla % 29,41, % 26,66, % 24, % 20 ve % 20 mortalite göstermiştir (Şekil 17). Ayrıca deneylerde *C. sycophanta* larvalarında % 40 oranında mortalite gösteren *P. vulgaris*, kullanılan bakteriler içerisindeki en toksik bakteri olarak tespit edilmiştir.



Şekil 16. Bakteri izolatlarının *Calosoma sycophanta* erginlerindeki mortalite oranı



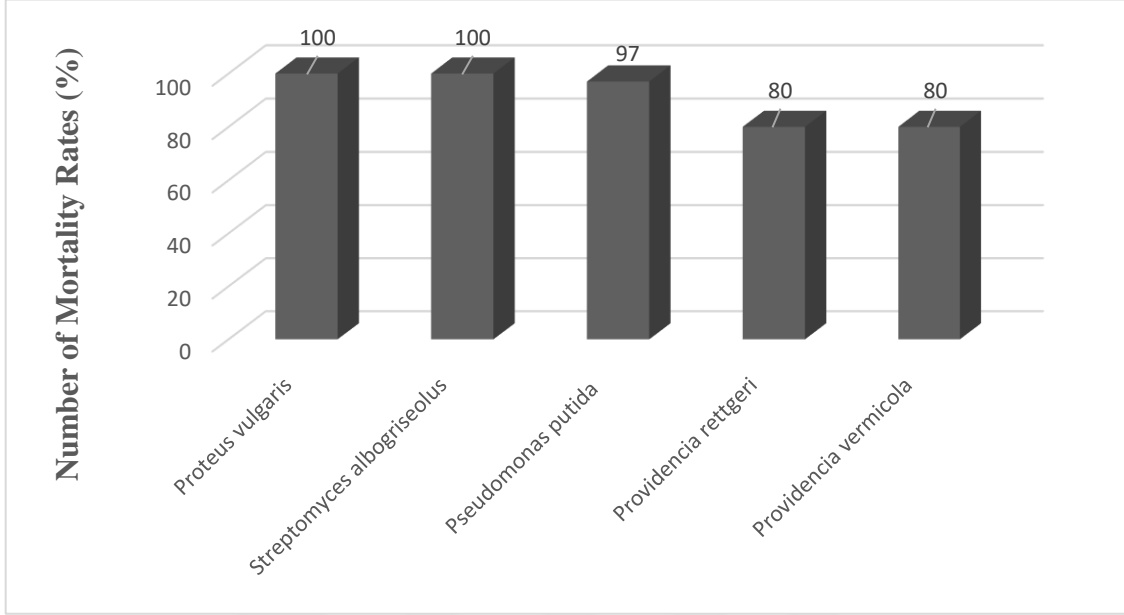
Şekil 17. Bakteri izolatlarının *Calosoma sycophanta* larvalarındaki mortalite oranı

C. sycophanta da ortalama yumurta süresi 4 ile 7 gün arasında değişmektedir. *C. sycophanta* erginleri ile yapılan deneyde *P. vulgaris*, *P. putida* ve *S. albogriseolus* bakterileri uygulandı. Sonrasında gün gün kontrol edilen böceklerde yumurta oluşumu gözlemlenmedi (Tablo 5).

Tablo 5. *Calosoma sycophanta* erginlerinde beslenme ve yumurtlama verimliliği

Başlangıç 19.04.2017	<i>Proteus vulgaris</i> (10 <i>C. sycophanta</i>)	<i>Pseudomonas putida</i> (10 <i>C. sycophanta</i>)	<i>Streptomyces albogriseolus</i> (10 <i>C. sycophanta</i>)	Kontrol (10 <i>C. sycophanta</i>)
20.04.2017	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, bakterili besin yenmedi, tekrarı yapıldı.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.
21.04.2017	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.
22.04.2017	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.
23.04.2017	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.
24.04.2017	Yumurta yok, 1 besin yenmedi.	Yumurta yok, 1 besin yenmedi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.
25.04.2017	Yumurta yok, 1 besin yenmedi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.
26.04.2017	Yumurta yok, 1 besin yenmedi.	Yumurta yok, 2 besin yenmedi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.
27.04.2017	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, 1 besin yenmedi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.
28.04.2017	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, 2 besin yenmedi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.
29.04.2017	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, 1 besin yenmedi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.
30.04.2017	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.
01.05.2017	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.
02.05.2017	Yumurta yok, 1 besin yenmedi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, 2 besin yenmedi.
03.05.2017	Yumurta yok, 1 besin yenmedi.	Yumurta yok, 1 besin yenmedi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.
04.05.2017	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, 1 besin yenmedi.
05.05.2017	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, 1 besin yenmedi.	Yumurta yok, 1 besin yenmedi.	Yumurta yok, 2 besin yenmedi.
06.05.2017	Yumurta yok, 1 besin yenmedi.	Yumurta yok, 1 besin yenmedi.	Yumurta yok, 1 besin yenmedi.	Yumurta yok, besin yendi.
07.05.2017	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, 3 besin yenmedi.	Yumurta yok, besin yendi.	Yumurta yok, 2 besin yenmedi.

Abbott (1925) formülü kullanılarak *Leptinotarsa decemlineata* larvalarındaki mortalite oran sonucu Şekil 18’de gösterilmiştir.



Şekil 18. *Leptinotarsa decemlineata* larvalarındaki mortalite oranı

4. TARTIŞMA

Gelişmiş ülkelerde orman ve tarım alanlarında hem ekolojik hem de ekonomik zararlara yola açan zararlı böceklerle mücadele kapsamında kimyasal kullanımının doğaya zarar vermesinden dolayı alternatif mücadele yöntemleri kullanılmaya başlanmıştır. Bu yöntemlerden en çevreci olan biyolojik mücadele günümüzde oldukça fazla kullanılmaktadır.

Çam kese böceği *Thaumetopoea pityocampa*'ya karşı birçok predatör böcek kullanılmakla beraber bunlardan en önemlisi *Calosoma sycophanta*'dır. Bu predatör böcek, *T. pityocampa*'nın artışı ve yoğunluğunu baskı altında tutabilir (Kanat ve Özbolat, 2006). Bu çalışmada bakteriyel patojenler, predatör böceklerde ilk kez sunulmaktadır. Bugüne kadar *C. sycophanta*'dan bakteriyel patojen kaydı bulunmamaktadır. Çalışma kapsamında, Türkiye'deki yetiştirme laboratuvarlarında *C. sycophanta* ergin ve larvalarından 302 bakteri izolasyonu gerçekleştirdik. 302 bakteri izolasyonu arasından 26 tanesi tür seviyesinde tanımlanmıştır. Bu türlerin tanımlanması için sürekli olarak kullanılan sitolojik, morfolojik ve biyokimyasal özelliklerin dışında, floresan temelli yeni bir teknoloji olan Vitek® 2 sistemi (bioMérieux) kullanılmıştır. Bu cihaz hem daha doğru sonuçların çıkmasına hem de tür tayini çalışmalarının daha hızlı yapılarak uygulama süresinin kısılmasına olanak sağlamıştır. Böylece hata oranı da en aza indirgenmiştir. Çalışmanın sonuçları, *C. sycophanta*'nın bazı bakteriyel izolatlarının *Bacillus*, *Enterococcus*, *Serratia*, *Staphylococcus*, *Streptomyces*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Providencia* ve *Vibrio* cinslerine ait türler olduğunu göstermektedir. Ek olarak, bu türlerin çoğu entomopatojen bakteriler arasında listelenmiştir. Ayrıca, bakteriyel patojenler, birçok bilim insanı tarafından böceklere karşı biyolojik kontrol ajanları olarak test edilmiştir (Kuzina vd., 2001; Yaman, 2003; Yaman vd., 2002, 2010; Aslan vd., 2005; Ertürk vd., 2008). *Streptomyces* cinsine ait türlerin, yapılan filogenetik çalışmalarda da böcek konakları ile ilişkili olduğu kanıtlanmıştır. Bu durum, 16S rDNA gen filogenisi tarafından da desteklenmiştir (Chevrette, 2019).

Biyolojik mücadelede aktif rol oynayan predatör böceklerde patojen organizmaların herhangi bir enfeksiyon oluşturması istenilen bir durum değildir (Yaman vd., 2016). Özellikle de yetiştirme laboratuvarlarında üretilen *C. sycophanta*'nın bakteriyel enfeksiyonları, zararlı ile yapılan mücadeleyi olumsuz etkileyebilecektir. Çünkü predatör

böcekler biyolojik mücadele kapsamında tarım ve orman zararlılarına karşı başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Predatör böcek olan *C. sycophanta* yaşamları boyunca yüzlerce *T. pityocampa* ile beslenir. Eğer ki avcı böcekte önü alınamayan bakteri enfeksiyonları oluşur ise bu zararlı türler ile mücadeleyi zorlaştıracaktır. Bu nedenle, en sık rastlanan altı türün *C. sycophanta* yetişkinleri ve larvaları üzerindeki patojenik etkileri üzerinde çalıştık. Deneyler sırasında özellikle kullanılan larvaların aynı instar olmasına dikkat ettik. Çünkü bakterilerin neden olacağı enfeksiyonlar aynı instarda olmayan larvalarda farklı etki gösterebilir. Ayrıca erginlerde en sağlam ve en hareketli böcekler seçildi. Bu sayede ölümlerin bakteri kaynaklı mı yoksa diğer nedenlerden olup olmadığı durumunu en aza indirdik. İzolatların patojenik etkisini belirlemek amacıyla yapılan deneylerde *C. sycophanta* erişkinleri üzerinde % 33 mortalite oranıyla en yüksek etkinin *S. albogriseolus* bakterisi tarafından yapıldığı görüldü. *C. sycophanta* larvaları üzerinde ise % 40 oranında mortalite ile en yüksek etkiyi *P. vulgaris* bakterisinin yaptığı gözlemlendi. Ayrıca *P. vulgaris* larvalarda neden olduğu % 40 oranında mortalite ile deneyler sırasında kullanılan bakteriler içerisindeki en toksik bakteri olarak tespit edildi. *P. vulgaris*, Enterobacteriaceae familyası içerisinde yer alan, spor ve kapsülü bulunmayan gram negatif bir bakteridir. Böceklerde yüksek ölüm oranlarına sahip olmasının yanı sıra insanlarda da enfeksiyona neden olması bu bakteriyi deneyde kullanılan diğer bakterilerden ayırmaktadır. İnsanlarda idrar yolu enfeksiyonlarına ve böbrek taşı oluşumuna neden olmaktadır (McLean vd., 1988). Bu bakterinin biyolojik mücadele kapsamında zararlılara karşı başarılı bir şekilde kullanılacağından hiç şüphe yoktur fakat insanlarda da patojenik etki gösterdiğinden dolayı çok dikkatli bir şekilde kullanılmalıdır. *P. penneri*, *C. sycophanta* erişkinlerinde % 29,52 mortalite gösterirken, *C. sycophanta* larvalarında % 26,66 mortalite göstermiştir. Bu bakteri de aynen *P. vulgaris* gibi insanlarda da enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Fakültatif anaerobik, gram negatif olan bakteri, invaziv bir patojen olduğundan idrar yollarında ve açık yaralarda enfeksiyona yol açabilirler. Ek olarak, Manisa, İzmir ve Antalya illerinde *C. sycophanta*'da sık sık *Bacillus* cinsine ait türler saptanırken, *Proteus*, *Providencia*, *Streptomyces* cinslerine ait türler sadece Antalya'da bulunmuştur. Bu bakterilerden *Bacillus thuringiensis*, günümüzde biyolojik mücadelede en fazla kullanılan mikrobiyal ajandır. Endüstriyel olarak üretilip ticari olarak da kullanılması önemini arttırmaktadır. *B. thuringiensis* ile üretilen biyoinsektisitler, Lepidoptera, Diptera ve Coleoptera takımlarına ait zararlı böcek türlerini baskı altına almada oldukça başarılıdır.

C. sycophanta etkili bir predatör böcek olup, Türkiye’de *T. Pityocampa*’ya karşı mücadelede üretimi, geliştirilmesi ve kullanımı yüksek oranda desteklenmiştir (Kanat ve Özbolat, 2006). Bu predatör böcek, çam kese böceğinin yanı sıra birkaç Lepidopteran zararlısının da biyolojik kontrolünde etkilidir. *C. sycophanta* gibi yararlı böceklerde çıkabilecek enfeksiyonlar, hem zararlılarla yapılan mücadeleyi aksatacak hem de maddi kayıplara sebep olacaktır. Bu nedenle zararlı böcekleri enfekte eden bakteriler pozitif kontrol açısından olumludur, ancak yararlı böceklerin ölümüyle sonuçlanan istenmeyen enfeksiyonlara da neden olabilirler (Yaman vd., 2010; Bjørson ve Oi, 2014; Yaman vd., 2014). Zararlı böcekleri enfekte eden entomopatojen organizmalar, yararlı böceklere av yoluyla avcı hayvanlara bulaşır (Yaman vd., 2010). Bu nedenle, bakteriyel patojenlerin belirlenmesi ve yırtıcı böceklere bakteriyel patojen aktarımı büyük öneme sahiptir. Bununla birlikte, yırtıcı böceklerin sağlıklı olduğu konusunda az sayıda çalışma vardır (Yaman vd., 2010; Bjørson ve Oi 2014; Yaman vd., 2014).

Patojenler *C. sycophanta*’da kaydedilmiş ilk bakteriler olduğundan dolayı popülasyonlarında yeni bakteri patojenlerinin izolasyonu hakkında daha fazla bir bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışmada da, dört yıl boyunca sağlıklı koşullarda, böceklerin yaşayabileceği en uygun ortamları sağlayarak, Türkiye’deki kitlesel üretim laboratuvarlarında üretilen *C. sycophanta*’nın patojen bakteri izolasyonunu araştırdık. Sonuçlar, üretim ve yetiştirme laboratuvarlarının, *C. sycophanta*’nın seri üretimi döneminde bakteri hastalıkları riski altında olduğunu göstermektedir. Bu durum çam kese böceği ile yapılan mücadelede hem çalışmayı olumsuz etkileyecek hem de üretimden kaynaklı ekonomik olarak zarara yol açacaktır. Ülkemizde de yıllardır mücadele edilen ve henüz net bir başarı elde edilememişken daha dikkatli bir şekilde çalışmalar yürütülmelidir. Özellikle *C. sycophanta*’yı yetiştiren çalışanlara bu konuda büyük iş düşmektedir. Yetiştirme laboratuvarlarının temiz ve steril olmasına dikkat edilmelidir. Çünkü avcı böceklerde oluşacak bakteriyel enfeksiyonlar, hem böceğin beslenmesini ve yumurtlama verimini düşürecek hem de ölümüne neden olacaktır.

Ne yazık ki yararlı böcekler açısından tehlike oluşturan entomopatojenler, aynı zamanda tarım ve orman zararlılarına karşı pozitif kontrol kapsamında başarılı bir şekilde kullanılabilir. Tez çalışması sırasında *C. sycophanta*’dan izole edilen bakteriler, zararlı bir tür olan patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata*) üzerinde kullanılarak gözlemlendi. Burada ki asıl amaç predatör bir böcek olan *C. sycophanta*’da enfeksiyonlara neden olan bakterilerin, zararlı bir böcek olan patates böceğinde de enfeksiyon oluşturup

oluşturmadığının araştırılmasıydı. Patates böceği erginlerinin larvalara göre daha sağlam bir yapıda olmalarından dolayı deney sırasında patates böceği larvaları kullanıldı. Deney sonucunda böceklerde yüksek oranda mortalite görüldü. *C. sycophanta*'da en yüksek mortalite etkisi gösteren *P. vulgaris* ve *S. albogriseolus* bakterileri patates böceğinde de yine en yüksek etkiyi gösteren bakteriler oldu. *C. sycophanta* larvalarında % 40 mortalite gösteren *P. vulgaris*, % 29,41 mortalite gösteren *S. albogriseolus* bakterileri, *L. decemlineata* üzerinde ise % 100'lük gibi çok önemli bir mortalite etkisi göstermiştir. Özellikle bu sonuçlar gösteriyor ki patates böceği larva dönemindeyken bakterilerin kullanılmasıyla yapılacak olan mücadelede başarılı sonuçlar elde edilebilir. Yapılan çalışmalar, bakteriyal izolatların zararlı böcek türlerinin salgınlarını engellemek için de kullanılabilceğini gösterdi. Bu pozitif kontrol açısından oldukça önemlidir. Çünkü zararlılarla mücadelede sadece tek bir yöntem ile başarı yakalamak oldukça zordur. Nitekim deneylerde kullanılan bu bakterilerin biyolojik mücadelede kapsamında pozitif kontrolde hiç şüphesiz başarılı sonuçlar doğuracaktır.

5. SONUÇLAR

Yapılan çalışmalar kapsamında ortaya çıkan sonuçlar şunlardır.

1. Biyolojik mücadele kapsamında oldukça önemli bir yere sahip olan avcı böcek *Calosoma sycophanta* L. (Coleoptera: Carabidae)'da tespit edilen bakterilerin tanımlanması ve patojenik etkilerinin belirlenmesi çalışıldı.
2. Çalışma kapsamında, Türkiye'de yetiştirme laboratuvarlarından temin edilen *C. sycophanta* ergin ve larvalarından 302 bakteri izolasyonu gerçekleştirildi.
3. VİTEK® 2 ile yapılan 302 bakteri izolasyonu arasından 26 tanesi tür seviyesinde tanımlandı.
4. Bu çalışmada predatör böceklerde bakteriyal patojenlerin varlığı ilk kez sunulmaktadır.
5. Bu bakterilerden insektisidal etki gösterebilme potansiyeli olan 6 türün *Calosoma sycophanta*'nın üzerinde etkinliği araştırıldı. *C. sycophanta*'dan izole edilen bakteriler: *Streptomyces albogriseolus*, *Proteus penneri*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas putida*, *Providencia rettgeri*, *Providencia vermicola* olarak tanımlanmıştır.
6. Bu izole altı bakterinin, *C. sycophanta*'nın erginleri ve larvaları üzerinde % 20-40 arasında mortaliteye neden olarak patojenik bir etkiye sahip olduklarını gösterdi.
7. *C. sycophanta* erişkinleri üzerinde % 33 mortalite oranıyla en yüksek etkinin *S. albogriseolus* bakterisi tarafından yapıldığı görüldü.
8. *C. sycophanta* larvaları üzerinde ise % 40 oranında mortalite ile en yüksek etkiyi gösteren *P. vulgaris*, kullanılan bakteriler içerisindeki en toksik bakteri olarak tespit edildi.
9. Manisa, İzmir ve Antalya illerinde *C. sycophanta*'da genellikle *Bacillus* cinsine ait türler saptanırken, *Proteus*, *Providencia*, *Streptomyces* cinsine ait türlere sadece Antalya'da rastlanıldı.
10. *S. albogriseolus* ve *P. penneri*, *C. sycophanta* erişkinlerinde sırasıyla % 33,33 ve % 29,52 mortalite gösterdi.
11. *P. vulgaris*, *S. albogriseolus*, *P. penneri*, *P. putida*, *P. rettgeri* ve *P. vermicola*, *C. sycophanta* larvalarında ise sırasıyla % 40, % 29,41, % 26,66, % 24, % 20 ve % 20 mortalite gösterdi.

6. ÖNERİLER

Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de tarım ve orman zararlılarına karşı yapılan mücadelede, ekolojiye zarar vermesinden ötürü kimyasal kullanımından vazgeçilmeye başlanmıştır. Bunun sonucunda çevreye ve diğer hedef dışı canlılara zararı olmayan biyolojik mücadele önem kazanmıştır. Ülkemizde de bu kapsamda oldukça önemli bir predatör böcek olan *Calosoma sycophanta*’nın, çam kese böceği *Thaumetopoea pityocampa*’ya karşı kullanılmasıyla başarılı sonuçlar elde edilmiştir. *C. sycophanta* gibi yararlı böceklerde çıkabilecek enfeksiyonlar, hem zararlılarla yapılan mücadeleyi aksatacak hem de maddi kayıplara sebep olacaktır.

C. sycophanta’nın, biyolojik mücadelede kullanılmak amacıyla Orman Bölge Müdürlükleri laboratuvarlarında kitle üretimleri yapılmaktadır. Biz de çalışmamızda kitle üretimi yapan laboratuvarlardan temin ettiğimiz bu böceklerde enfeksiyona neden olan bakterilerin tanımlanmasını ve patojenik etkilerinin belirlenmesini çalıştık. Tanımlanan bakterilerin *C. sycophanta*’da enfeksiyonlara neden olup ölümüne neden olduğunu tespit ettik.

Kitle üretimin yapıldığı laboratuvarlarda eğer gerekli hijyen sağlanmaz ise bakteriler de dahil mikrospor, mantar, nematod, virüs gibi birçok mikroorganizma, *C. sycophanta*’da enfeksiyonlara neden olabilir. Bu nedenle üretim laboratuvarlarında ki aseptik koşullar arttırılmalı, sterilizasyona dikkat edilmelidir. Özellikle laboratuvarlarda çalışan işçilerin bu konuda bilgilendirilmeleri, zarar seviyesinin azalmasında yarar sağlayacaktır. Böceklerin üretimini sağlayan işçiler, hijyen kurallarına özen göstermelidirler. Üretime geçilmeden önce anaç bireyler araştırma laboratuvarlarına getirilerek incelenmeli ve üretimi etkileyebilecek mikroorganizmalar tespit edilmelidir. Ayrıca böceklerin uygulanacağı alanlara nakliyesi sırasında da temiz kaplara konulmalı ve nem, beslenme gibi durumlara dikkat edilmelidir.

Bakterilerin yararlı böceklerde ki enfeksiyonu istenmeyen bir durum olsa da zararlı böceklerde yapacağı enfeksiyon biyolojik mücadelede pozitif kontrol açısından oldukça önemlidir. Örneğin ülkemizde *Leptinotarsa decemlineata* gibi zararlılara karşı bakteriyel kontrol ajanlarının kullanımları teşvik edilmelidir. Çünkü çalışmamız sırasında izole ettiğimiz bakterilerin patates böceğinin larvasına karşı yüksek miktarda ölüme neden olduğunu tespit ettik.

7. KAYNAKLAR

- Abbott, W. S., 1925. A Method of Computing of Effectiveness of on Insecticide. Journal of Economic Entomology, 18, 265-267.
- Agrios, G. N., 2005. Plant Pathology, 922, (5th ed.) Elsevier Academic Pres, London.
- Atakan, A., 1991. Orman Bölge Müdürlüklerinde 1. ve 2. Derecede Zararlı Böceklerin Biyolojik Devreleri, T.C. Orman Bakanlığı, Orman Gen. Müd., Orman Koruma ve Yangınla Mücadele Dairesi Başkanlığı, Yayın No: 670, Seri No: 31, Ankara, 338s.
- Avtzis, N. D., 1998. The use of *Bacillus thuringiensis* against *Thaumetopoea pityocampa* (Den & Schiff.) (Lep., Thaumetopoea) in Greece. Proceeding: Population Dynamics Impacts and Integrated Management of Forest Defoliating Insects. USDA Forest Service General Tecnical Report, 311-316.
- Babur, H., 2002. Kahramanmaraş Yöresindeki Kızılcamlarda (*Pinus brutia* Ten.) Çam Keseböceği (*Thaumetopoea pityocampa* (Schiff.)'nın) Zararı ve Bakım Çalışmalarının Çap Artımına Etkisi Üzerine Bir Araştırma. Ülkemiz Ormanlarında Çam Keseböceği Sorunu ve Çözüm Önerileri Sempozyumu. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Yayın No: 96, 37-44.
- Baş, R., 1972. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi Orman Kaynaklarından Optimal Faydalanma ile İlgili Orman Koruması Sorunları B Serisi 22. Cilt 1.Sayı.
- Battisti, A., 1988. Host-Plant Relationships and Population Dynamics of the Pine Processionary Caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* (Denis &Schiffermüller), J. Appl. Ent. 105, 4, 393-402.
- Battisti, A., Stastny, M., Netherer, S., Robinet, C., Schopf, A., Roques, A. ve Larsson, S., 2005. Expansion of Geographic Range in the Prossionary Moth Caused by Increased Winter Temperatures. Ecological Applications, 15, 2084-2096.
- Benson, H. J., 1985. Microbiological Applications, a Laboratory Manuel in General Microbiology. Brock, Fourt Editin, Wm C. Brown Publishers, Dubuque, Iowa.
- Beşçeli, Ö., 1969. Çam Keseböceği (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff.)'nin Biyolojisi ve Mücadelesi, Ormancılık Araş. Enst. Yay. Teknik Bülten Serisi No:35, Ankara, 65-70.
- Black, R. ve Sweetmore, A., 1994. Appropriate Bacterial Identification Systems for Small Plant Pathology Laboratories Overseas Incorporating the Biolog Method. Plant Pathology, 43, 438-441.
- Bilgili, E., 2004. Abiyotik (Cansız) Zararlılar. Orman Koruma Ders Notları. Trabzon.
- Bravo A., Gill S.S., Soberón, M., 2005. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt.toxins and their potential for insect control. Toxicon, 49, 4, 423-435.
- Braxton, S. M., Onstad, D. W., Dockter, D. E., Giordano, R., Larsson, R. ve Humber, R. A., 2003. Description and Analysis of two Internet-Based Databases of Insect Pathogens: EWDIP and VIDIL, Journal of Invertebrate Pathology, 83, 185-195.

- Buyer, J. S., 2002. Identification of Bacteria from Single Colonies by Fatty Acid Analysis. *Journal of Microbiological Methods*, 48, 259-265.
- Buxton, R. D., 1983. Forest management and the Pine Processionary Moth. *Outlook on Agriculture*, 12, 1, 34-39.
- Cappuccino, J. G. ve Sherman, N. 1992. *Microbiology, a Laboratory Manual*. Third Edition, Rockland Community College, Suffern, New York.
- Carus, S., 2004. Impact of Defoliation by the Pine Processionary Moth (*Thaumetopoea pityocampa*) on Radial, Height and Volume Growth of Calabrian Pine (*Pinus brutia*) Trees in Turkey, *Phytoparasitica*, 32, 459-469.
- Caterino, M. S., Shull, V. S., Hammond, P. M. ve Volger, A. P., 2002. Basal relationships of Coleoptera inferred from 18s rDNA sequences. *Zoologica Scripta*, 31, 41-49.
- Charnley, A. K. ve Collins, S. A., 2007. Entomopathogenic fungi and their role in pest control.
- Chevrette, M. G., Carlson, C. M., Ortega, H. E., Thomas, C., Ananiev, G. E., Barns, G. J., Adam, J., Cagnazzo, J., Carlos, C., Flanigan, W., Grubbs, K. J. Horn, H. A., Hoffmann, F. M., Klassen, J. L., Jennifer, Knack, J., Lewin, G. R., McDonald, B. R., Muller, L. R., Melo, G. P., Pinto-Tomás, A. A., Schmitz, A., Wendt-Pienkowski, E., Wildman, S., Zhao, M., Zhang, F., Bugni, T. S., Andes, D. R., Pupo M. T. ve Currie, C. R., 2019. The antimicrobial potential of *Streptomyces* from insect microbiomes. *Nature Communications*.
- Conrath, J., Hadjadj, E., Balansard, B. ve Ridings, B., 2000. Caterpillar setae-induced acute anterior uveitis: a case report, *American Journal of Ophthalmology*, 130, 6, 841-843.
- Costanza, R., d'Arge, R., de Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., O'Neill, R.V., Paruelo, J., Raskin, R.G., Sutton, P. ve M. van den Belt., 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital, 15 May, *Nature*, 387.
- Çanakçıoğlu, H., 1985. Orman Koruma. İstanbul Üniversitesi. Yayın No:2838, Orman Fakültesi Yayın No: 295 İstanbul. 289 s.
- Çanakçıoğlu, H., 1989. Orman Entomolojisi (Genel Bölüm), İst. Üniv. Orman Fakültesi Yayın No: 382, İstanbul.
- Çanakçıoğlu, H., 1993. Orman Entomolojisi (Özel Bölüm) İstanbul Üniversitesi Yayın No:3623, Fakülte Yayın no:412, 458.
- Çanakçıoğlu, H. ve Mol, T., 1998. Orman Entomolojisi Zararlı ve Yararlı Böcekler. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, İstanbul.
- Deacon, J.W., 1983. *Microbial Control of Pests and Diseases*, 31-41, New York.
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C. ve Burçak, A., 2005. Türkiye'de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, Ocak, Ankara, Bildiriler Kitabı: 629-648.

- Demirbağ, Z., Nalçacıoğlu, R., Katı, H., Demir, İ., Sezen, K. ve Ertürk, Ö., 2008. Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele, Ofset Basım., Trabzon.
- Demirsoy, A., 1997. Yaşamın Temel Kuralları. Omurgasızlar/Böcekler. Entomoloji Kitabı. Hacettepe Üniv. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Meteksan A.Ş. Ankara, 932 s.
- Devkota, B. ve Schmidt, G.H., 1990. Larval Development of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) from Greece As Influenced by Different Host Plants Under Laboratory Conditions, J. Appl. Ent., 109, 4, 321-330.
- Dunfield, K. E., Xavier, L. J. C. ve Germida, J. J., 1999. Identification of *Rhizobium leguminosarum* and *Rhizobium* sp. (Cicer) Strains Using a Custom Fatty Acid Methyl Ester (FAME) Profile Library. Journal of Applied Microbiology, 86: 78-86.
- Ekerbiçer, H., Çelik, M., Aral, M. ve Şaşmaz, S., 2002. Çam Kese Böceğinin (*T. pityocampa*) İnsan Sağlığı Üzerine Olumsuz Etkileri, Ülkemiz Ormanlarında Çam Keseböceği Sorunu ve Çözüm Önerileri Sempozyumu, Nisan, Kahramanmaraş, Bildiri Kitabı: 203-211.
- Eroğlu, M., 2016. Biyolojik Mücadele Ders Notu. Yaban Hayatı Ekolojisi ve Yönetimi Bölümü, K.T.Ü., Orman Fakültesi, Trabzon.
- Ertuğrul, B., 2002. Çamkese Böceğinin Dünü, Bugünü ve Yarını. Ülkemiz Ormanlarında Çamkese Böceği Sorunu ve Çözüm Önerileri Sempozyumu. Sütçü İmam Üniversitesi, Nisan, Kahramanmaraş.
- Ertürk Ö., Yaman, M., Aslan, İ., 2008. Effects of four soil originated *Bacillus* spp. on the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). Entomological Research 38: 135-138.
- Fadel, A., Sharif, N. ve Alaeddinoğlu, G., 1988. A rapid and simple method for staining of the crystal protein of *Bacillus thuringiensis*. Journal of Industrial Microbiology, 3, 227-229.
- FAO, 1996. Coda of conduct for the import and release of exotic biological control agents. Publication No. 3, Rome, 19.
- Ferrero, F., 1985. A Precious Forest Auxiliary Insect: *Calosoma sycophanta*. Phytoma 370, 28.
- Gamo, M. ve Shoji, T., 1999. A Method of Profiling Microbial Communities Based on a Most-Probable-Number Assay that Uses Biolog Plates and Multiple Sole Carbon Sources, Applied and Environmental Microbiology, 65, 4419-4424.
- Gaugler, R., 1997. Alternative Paradigms for Commercializing Biopesticides. Phytoparasitica, 25, 179-182.
- Goodfellow, M. ve Dickinson, C. H., 1985. Delineation and description of microbial populations using numerical methods. In Computer-assisted bacterial systematics. Edited by Goodfellow, M.; Jones, D. and Priest, F.G. Academic Press, London, 165-225.
- Henry, J. E. ve Oma, E. A., 1981. Pest Control by *Nosema locustae*, A pathogen of Grasshoppers and Crickets, pp. 573-586, In Microbial Control of Pests and Plant Diseases, 1970-1980, Ed. Burges, H. D., Academic Press, London.

- Hoffman, M. P. ve Frodsham, A. C., 1993. Naturel Enemies of Vegetable Insect Pests. Cooperative Extension, 63, Cornell University, Ithaca.
- Hunter-Fujita, F.R., Entwistle, P.F., Evans, H.F. ve Crook, N.E., 1998. Insect Viruses and Pest Management. John Wiley & Sons, Chichester.
- Hylis, M., Weiser, J., Oborník, M. ve JilíVávra, J. 2005. DNA isolation from museum and type collection slides of microsporidia, Journal of Invertebrate Pathology, 88, 257–260.
- Johansson, C. B., 1999. Bakterilerin Sınıflandırılması. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Editörler: Ustaçelebi, S., Mutlu, G., Cengiz, A.T., Tümbay, E., Mete, Ö., Güneş Kitabevi, Ankara, 1339.
- Kaya, H. K. ve Gaugler, R., 1993. Entomopathogenic Nematodes, Annu. Rev. Entomol, 38, 181-206.
- Kanat, M. ve Özbolat, M., 2006. Mass production and release of *Calosoma sycophanta* L. (Coleoptera: Carabidae) used against the pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Schiff.) (Lepidoptera. Thaumetopoediae) in biological control. Turkish Journal of Zoology 30: 181-185.
- Kence, M. ve Kence, A., 1992. Böceklerde İnsektisit Direncinin Kırılması. Türkiye 2. Entomoloji Kongresi Bildirileri, Ocak, Adana, Bildiriler Kitabı: 273-280.
- Kızıllı, Z., 2013. Farklı Sayıda *Thaumetopoea pityocampa* (Schiff.) (Lepidoptera, Thaumetopoidae) Larvalarıyla Beslenen *Calosoma sycophanta* (L.) (Coleoptera, Carabidae)'nın Yumurta Verimi Üzerine Araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Kitt, J. ve Schmidt, G. H., 1993. Parasitism of Egg-Batches of the Pine Processionary Moth *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams (Lep.,Thaumetopoeidae) in the Mountains of Lahav (Israel), J. Appl. Ent., 115, 5, 484-489.
- Kocatürk, U., 1999. Açıklamalı Tıp Terimleri Sözlüğü. 8. Basım, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
- Konopka, A., Oliver, L. ve Turco, R. F., 1998. The Use of Carbon Substrate Utilization Patterns in Environmental and Ecological Microbiology. Microbiology Ecology, 35, 103-115.
- Kozer, E., Lahat, E. ve Berkovitch, M., 1999. Hypertension and Abdominal Pain: Uncommon Presentation After Exposure to a Pine Caterpillar, Toxicon, 37, 1797–1801.
- Kromp, B., 1999. Carabid beetles in sustainable agriculture: a review on pest control efficacy, cultivation impacts and enhancement, Agric. Ecosyst. Environ., 74, 187-228.
- Kubicek, C. P., Druzhinina, I. ve Mycota, S., 2007. IV: Environmental and Microbial Relationships (2nd edition), Springer-Verlag, Berlin, 159-187.

- Kuzina, L. V., Peloquin, J. J., Vacek, D. C. ve Miller, T. A., 2001. Isolation and identification of bacteria associated with adult laboratory Mexican fruit flies, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *Current Microbiology* 42, 290-294.
- Lacey, L. A., 1997. Bacteria: Laboratory Bioassays of Bacteria Against Aquatic Insects with Emphasis on Larvae of Mosquitoes and Black Flies. In "Manual of Techniques in Insect Pathology (Lacey, L.A., Ed.), 79-88, Academic Press, New York.
- Lacey, L. A., Frutos, R., Kaya, H. K. ve Vail, P., 2001. Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future?, *Biological Control*, 21, 230-248.
- Lamy, M., Pastureaud, M.-H., Novak, F., Ducombs, G., Vincendeau, P., Maleville, J. ve 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.
- Lamy, M., 1990. Contact Dermatitis (Erucism) Produced by Processionary Caterpillars (Genus *Thaumetopoea*), *Journal of Applied Entomology*, 110, 5, 425-437.
- Lenteren, J.C. van, Bale, J., Bigler, F., Hokkanen H.M.T. ve Loomans, A.J.M., 2006. Assessing risks of releasing exotic biological control agents of arthropod pests. *Annual Review of Entomology*, 51, 609-34.
- Lipa, J.J., 1975. An Outline of Insect Pathology, Warsaw, Poland.
- Lodos, N., 1989. Türkiye Entomolojisi IV. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 493, 1-50.
- MacDonell, M.J. ve Colwell, R.R., 1985. The contribution of numerical taxonomy to the systematics of Gram-negative bacteria in Computer-Assisted Bacterial Systematics Edited by M. Goodfellow, D. Jones and F.G. Priest, Academic Press, London, 107-135.
- Maddox, J. V., Fuxa, J. R. ve Tanada, Y., 1987. Wiley Protozoan Diseases. In Epizootiology of Insect Diseases, 417-452, New York.
- McLean, R. J. C., Nickel, J. C., Cheng, K. J. ve Costerton J. W., 1988. The ecology and pathogenicity of urease producing bacteria in the urinary tract. *CRC Crit Rev Microbiol* 16, 37-39, 1988.
- Mendel, Z., 1990. On the Origin of the Pine Processionary Caterpillar *Thaumetopoea wilkinsonii* Tams (Lep., Thaumetopoeidae) in Israel, *J. Appl. Ent.*, 109, 3, 311- 314.
- Miller, L. ve Berger, T., 1985. Bacteria Identification by Gas Chromatography of Whole Cell Fatty Acids. 1-8, In "Hewlett-Packard Application Note, 228-241", Hewlett-Packard, Avondale, Pa. Sasser, M.S. 1990. Identification of by Gas Chromatography of Cellular Fatty Acids. Technical Note 101, Newark, DE, Microbial ID Inc.
- Murillo, R., Munoz, D., Lipa, J. ve Cabellero, P., 2001. Biochemical characterization of three nucleopolyhedrovirus isolates of *Spodoptera exigua* and *Mamestra brassicae*. *Journal of Applied Entomology*, 125, 267-70.

- OGM, <https://www.ogm.gov.tr/ekutuphane/FaaliyetRaporu/Orman%20Genel%20M%C3%BCd%C3%BCrl%C3%BC%C4%9F%C3%BC%202012%20Y%C4%B1%C4%B1%20Faaliyet%20Raporu.pdf>, 16/12/2016.
- OGM, <https://www.ogm.gov.tr/ekutuphane/Yayinlar/T%C3%BCrkiye%20Orman%20Varl%C4%B1%C4%9F%C4%B1-2015.pdf>, 15/01/2017.
- OGM, <https://ogm.gov.tr/SitePages/OGM/OGMHaberler.aspx?l=d48f9a06-6f97-48b9-9ba4-7b9dfae5e8dd&i=14272>, 01/07/2017.
- OGM, <https://www.ogm.gov.tr/ekutuphane/FaaliyetRaporu/Orman%20Genel%20M%C3%BCd%C3%BCrl%C3%BC%C4%9F%C3%BC%202018%20Y%C4%B1%C4%B1%20Faaliyet%20Raporu.pdf>, 14.07.2018.
- Oğurlu, İ., 2000. Biyolojik Mücadele. Süleyman Demirel Üniversitesi, Yayın No: 8, Isparta.
- Onaran, M. A. ve Katı, M., 2010. Çam keseböceği (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff) ile Biyolojik Mücadele, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 12, 2, 21- 27.
- Örtücü, S., Algur, Ö. F., Aydoğan, M. N., 2010. Entomopatojen Fungus Toksinlerinin İnsektisidal Etkileri. 1. Ulusal Palandöken Toksikoloji Sempozyumu, Mayıs, Erzurum, Bildiriler Kitabı, 28 – 30.
- Özçankaya, İ.M. ve Can, P., 2004. Muğla İli Kızılcam Ağaçlandırma Alanlarında Çam Keseböceği (*Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae))' nin Mekanik ve Biyolojik Savaş Olanaklarının Geliştirilmesi Üzerine Araştırmalar. T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı, Ege Ormancılık Araştırma Müdürlüğü, Bakanlık Yayın No: 255, Müdürlük Yayın No: 34, 3-22.
- Özkazanç, O., 2002. Çam Keseböceği, *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptera, Thaumetopoeidae)'nın Akdeniz Bölgesindeki Biyoekolojisi. Ülkemiz Ormanlarında Çam Keseböceği Sorunu ve Çözüm Önerileri Sempozyumu, Kahramanmaraş Sütçü İmam Ün. Yayın No. 96, Kahramanmaraş, 1-12.
- Pincus, D.H., 2002. Microbiology Identification Using The Bio'merieux VİTEK® 2 System. Bio'merieux Inc., Hazelwood, MO, USA.
- Ridgway, R.L. ve M. N. Inscoc., 1998. Mass-Reared naturel enemies for pest control: trends and challenges, in mass-reared naturel enemies: application, regulation, and needs, Ridgway, R.L., M.P. Hoffmann, M.N. Inscoc, and C.S. Glenister, Eds. Thomas Say Publications in Entomology, Entomological Society of America, Lanham, Maryland.
- Rosenzweig, C., Casassa, G., Karoly D.J., Imeson, A., Liu, C., Menzel, A., Rawlins, S., Root, T.L., Seguin, B. ve Tryanowski, P., 2007. Assessment of observed changes and responses in natural and managed systems. Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Parry, M.L., Canziani, O.F., Palutikof, J.P., van der Linden, P.J. and Hanson, C.E. (eds.), Cambridge University Press, Cambridge, UK, 79-131.

- Sackin, M. J. ve Jones, D., 1993. Computer-assisted classification. In Handbook of new bacterial systematics. Edited by Goodfellow, M. & O'Donnell, A.G. Academic Press, London, 281-313.
- Salman, S., 1992. Omurgasız Hayvanlar Biyolojisi, 1, 190-191.
- Saygılı, H., Şahin, F. ve Aysan, Y., 2006. Fitobakteriyoloji. İzmir, İstanbul, Adana, 65-75.
- Schaefer, P.W., Fuester, R.W., Barth, P.E., Simons, E.E., Blumenhal, E.M., Handley, E.M., Finn, T.B. ve Elliott, E.W., 1999. Current distribution and historical range expansion of *Calosoma sycophanta* (Coleoptera: Carabidae) in North America, Journal of Entomological Science, 34, 339-362.
- Schimitschek, E., 1953. Türkiye Orman Böcekleri ve Muhiti, Türkiye Orman Entomolojisinin Temelleri (Çev. A. Acatay), İstanbul Üniv. Yayın No: 556, Or. Fak. Yay. No: 24, İstanbul, 471 s.
- Sneath, P.H.A. ve Sokal, R.R., 1973. Numerical Taxonomy: The Principles and Practice of Numerical Classification. W.H. Freeman, Baltimore.
- Sneath, P.H.A., 1978. Classification of microorganisms. In Essays in Microbiology, Section 9. Edited by J.R. Norris and M.H. Richmond. John Wiley and Sons Ltd., Chichester, 1-31.
- Steinhaus, E.A., 1956. Microbial Control: The Emergence of an Idea. Journal of Agriculture Science, 26, 107-160.
- Tanada, Y. ve Kaya, H. K., 1993. Insect Pathology. Academic Press, New York.
- Tarım Orman Bakanlığı, [https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/Risk %20De%20C49Ferlendirme20Hizmetleri/TuketiciBilgiKosesi/e-bultenler/12.pdf](https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/Risk%20De%20C49Ferlendirme20Hizmetleri/TuketiciBilgiKosesi/e-bultenler/12.pdf), 15.06.2014.
- Tosun, İ., 1975. Akdeniz Bölgesi İğne Yapraklı Ormanlarında Zarar Yapan Böcekler ve Önemli Türlerin Parazit ve Yırtıcıları Üzerinde Araştırmalar. Orman Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü Yayınları, Sıra No. 62, Seri No. 24, İstanbul, 201 s.
- Triggiani, O. ve Tarasco, E., 2002. Efficacy and Persistence of Entomopathogenic Nematodes in Controlling Larval Populations of *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae), Biocontrol Science and Technology, 12, 747-752.
- Uneke, C. J., 2007. Integrated Pest Management for Developing Countries, 203, A Systemic Overview, Nova Publishers.
- Uygun, N., Ulusoy, M. R. ve Satar, S., 2010. Biyolojik mücadele. Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 1, 1-14.
- Van den Bosch, R., Messenger, P. S. ve Gutierrez, A. P., 1973. An Introduction to Biological Control. Division of Biological Control University of California, Berkeley Albany, California.
- Uzuner, S., 2017. Avcı böcek *Calosoma sycophanta* L. (Coleoptera: Carabidae)'da tespit edilen mikrosporidyum patojeninin üretim laboratuvarlarındaki dağılımının belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

- Vega, J. M., Moneo, I., Armentia, A., López-Rico, R., Curiel, G., Bartolome, B. ve Fernández, A., 1997. Anaphylaxis to a Pine Caterpillar. Allergy, 52, 1244– 1245.
- Verweij, P. E., Breuker, I. M. ve Rijs, A. J., 1999. Comparative study of seven commercial yeast identification systems. Journal of Clinical Pathology, 52, 271- 273.
- Yaman, M., Nalçacıoğlu, R. ve Demirbağ, Z., 2002. Studies on bacterial flora in the population of fall webworm, *Hyphantria cunea* Drury. (Lepidoptera:Arctiidae). Journal of Applied Entomology, 126, 470-474
- Yaman, M., 2003. Insect bacteria and hazelnut pests' biocontrol: The state of the art in Turkey. Rivista di Biologia / Biology Forum, 9,: 137-144.
- Yaman, M. ve Radek, R., 2003. *Nosema chaetocnema* sp., a microsporidian (Microspora; Nosematidae) parasite of *Chaetocnema tibialis* (Chrysomelidae, Coleoptera). Acta Protozoologica, 42, 231-237.
- Yaman, M., Radek, R., Tosun, O., Aydın Ç. ve Ertürk, Ö., 2009. First Record of the Insect Pathogenic Alga *Helicosporidium* sp. (Chlorophyta: Trebouxiophyceae) Infection in Larvae and Pupae of *Rhizophagus grandis* Gyll. (Coleoptera, Rhizophagidae) from Turkey Journal of Invertebrate Pathology, 102, 182-184
- Yaman, M., Ertürk, Ö., Aslan, İ., 2010. Isolation of some pathogenic bacteria from the great spruce bark beetle, *Dendroctonus micans* and its specific predator, *Rhizophagus grandis*. Folia Microbiologica 55, 35-38.
- Yaman, M., 2012. Biyolojik Mücadelede Entomopatojenler için Böcek Patolojisi Atlası, Sage Yayıncılık, Trabzon, 186 s.
- Yaman, M., Bekircan, C., Radek, R. ve Linde, A., 2014. *Nosema pieriae* sp n Microsporida Nosematidae A new microsporidian pathogen of the cabbage butterfly *Pieris brassicae* L (Lepidoptera Pieridae). Acta Protozoologica.
- Yaman, M., Eroğlu, M. ve Radek R., 2016. Occurrence of a microsporidium in the predatory beetle *Calosoma sycophanta* L. (Coleoptera: Carabidae), Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 40, 420-424.
- Yılmaz, H., 2004. *Dendroctonus micans*'ın Bakteriyel Florası ve Mikrobiyal Mücadele Ajanlarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, KTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Yıldız, M., Gürkan, O., Turgut, C., Kaya, Ü. ve Ünal, G., 2005. Tarımsal Savaşımında Kullanılan Pestisitlerin Yol Açtığı Çevre Sorunları VI. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ankara
- Zeren, O. ve G. Erem., 2000. Adana ve İçel illerinde pestisit kullanım düzeyi. TMMOB Çevre Bilim & Teknoloji Dergisi, 1, 1, 29-33.
- Werno, J., Lamy, M. ve Vincèdeau, P., 1993. Caterpillar hairs as allergens. The Lancet, 342, 936-93.
- Weseloh, R., Bernon, G., Butler, L., Fuester, R., McCullough, D. ve Stehr, F., 1995. Releases of *Calosoma sycophanta* L. (Coleoptera, Carabidae) near the edge of Gypsy Moth (Lepidoptera, Lymantridae) distribution. Environmental Entomology., 24, 1713-1717.

ÖZGEÇMİŞ

1991 yılında Artvin’de doğdu. 2005 yılında Köprübaşı Merkez İlköğretim Okulundan, 2009 yılında da Köprübaşı Lisesinden mezun oldu. 2009 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünde eğitimine başlayıp, sonrasında 2013 yılında aynı bölümden mezun oldu. Belli bir süre Trabzon Düzköy ilçesinde sözleşmeli biyoloji öğretmenliği yaptı. 2015 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü’nde tezli yüksek lisansa başlayıp halen devam etmektedir.

