

Orijinal araştırma (Original article)

Doğal *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Bacillales: Bacillaceae) izolatlarının *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae), *Ceroplastes rusci* L. (Homoptera: Coccidae) ve *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)'ya karşı toksik etkileri^{1,2}

Toxic effects of some native *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bacillales: Bacillaceae) isolates against *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae), *Ceroplastes rusci* L. (Homoptera: Coccidae) and *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)

**Mehlika ALPER³ Hatice GÜNEŞ^{3*} Hasan Sungur CİVELEK³
Oktay DURSUN³ Ata ESKİN⁴**

Summary

Bacillus thuringiensis (Berliner) (Bacillales: Bacillaceae) is able to exhibit highly specific toxic effect against pests belonging to different orders. The aim of this study is to determine toxic effects of some of the native *B. thuringiensis* isolates obtained from fig related areas of Aydın province in 2008 on the *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae), *Ceroplastes rusci* L. (Homoptera: Coccidae) and *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). For this purpose, the effects of spore-crystal mixtures of 31 native *B. thuringiensis* isolates against *T. urticae* nymphs were investigated. It was found that 42% of the isolates caused mortality between 16% and 30%; however, 58% of the isolates resulted in less than 15% mortality. In addition, the effects of spore-crystal mixtures of 35 native *B. thuringiensis* isolates were examined on nymphs of *C. rusci*. Even though 14% of the isolates exhibited less than 12% mortality, no toxic effect was observed for 86% of the isolates. Finally, the spore-crystal mixtures of 24 native *B. thuringiensis* isolates were tested against the larvae of *C. capitata*. It was found that nearly all isolates did not show any toxic effects on *C. capitata* larvae. These results show that some of the *B. thuringiensis* isolates may have potential to develop biopesticides to retard the nymphal growth of especially *T. urticae*.

Key words: *Bacillus thuringiensis*, *Tetranychus urticae*, *Ceroplastes rusci*, *Ceratitis capitata*

Özet

Bacillus thuringiensis (Berliner) (Bacillales: Bacillaceae), farklı takımlarda yer alan zararlılara karşı yüksek oranda seçici toksik etki gösterebilmektedir. Bu çalışmada, 2008 yılında Aydın ili incirlik alanlarından yapılan örneklemelerden elde edilen doğal *B. thuringiensis* izolatlarından bazılarının, *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae), *Ceroplastes rusci* L. (Homoptera: Coccidae) ve *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) üzerindeki toksik etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, *T. urticae* nimfleri üzerinde 31 doğal *B. thuringiensis* izolatının spor-kristal karışımının etkisi incelenmiştir. Bu izolatlardan %58'nin %15 ve altında, %42'sinin de %16 ile %30 arasında düşük ölüm oranına neden olduğu belirlenmiştir. *C. rusci* nimfleri üzerinde 35 doğal *B. thuringiensis* izolatının spor-kristal karışımının etkisi incelenmiştir. Bu izolatlardan %86'sının hiç toksik etki göstermediği, %14'nün ise %12'nin altında neredeyse yok denecek kadar az toksik etki gösterdiği belirlenmiştir. *C. capitata* larvaları üzerinde ise 24 doğal *B. thuringiensis* izolatının spor-kristal karışımı denenmiştir. Neredeyse tüm izolatların *C. capitata* larvaları üzerinde herhangi bir toksik etki göstermediği bulunmuştur. Bu sonuçlar, bazı *B. thuringiensis* izolatlarının özellikle *T. urticae* nimflerinin büyümelerini geciktirici biyopestisit geliştirilmesinde belli bir potansiyele sahip olabildiklerini göstermektedir.

Anahtar sözcükler: *Bacillus thuringiensis*, *Tetranychus urticae*, *Ceroplastes rusci*, *Ceratitis capitata*

¹ Bu çalışma TÜBİTAK 108T178 numaralı proje tarafından desteklenen çalışmanın bir bölümünü içermektedir

² Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından 11.01.2013 tarihinde kabul edilen doktora tezinin bir bölümüdür

³ Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Muğla

⁴ Marmara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İstanbul

* Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: haticegunes@mu.edu.tr

Alınış (Received):26.03.2013 Kabul ediliş (Accepted): 14.08.2013

Giriş

Günümüzde hızlı nüfus artışının yanı sıra tarıma elverişli toprakların şehirleşme, sanayi, kamu ve turistik yatırımlar gibi tarım dışı amaçlarla kullanılması sonucu tarım alanlarından elde edilen verimi arttırmak için tarım ile ilgili çalışmalara önem verilmesi gerekmektedir (Ünal&Gürkan, 2001). Tarımsal üretimde birim alandan elde edilecek verimin artırılmasında bitki koruma ile ilgili çalışmaların önemli bir yeri vardır. "Tarımsal zararlılar" olarak da bilinen hayvansal kaynaklı organizmalar, tarımsal üretimde önemli kalite ve kantite kayıplarına neden olmaktadır (Öncüer, 2004). Tarımsal zararlıların kontrolünde başarılı bir şekilde kullanılan kimyasal bileşiklerin bir süre sonra doğal denge üzerinde olumsuz etkilere neden olması, günümüzde çevre ile dost, doğal bir alternatif yöntem olan biyolojik savaş ile ilgili çalışmalara hız kazandırmıştır (Öncüer, 1997).

Biyolojik savaşta yararlanılan mikroorganizmalar, entomopatojen olarak da adlandırılan patojen mikroorganizmalardır (Öncüer, 1997). Zararlıların kontrolünde kullanılan en başarılı entomopatojen, *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Bacillales: Bacillaceae) bakterisidir. *B. thuringiensis* günümüzde toplam insektisidal pazarın yaklaşık %2'sini oluşturmaktadır (Bravo et al., 2011).

Sporulasyon süresi boyunca, yüksek miktarda insektisidal parasporal kristal protein üretme yeteneğinde olan *B. thuringiensis* (Schnepf et al., 1998), zararlı popülasyonlarını önemli ölçüde azaltarak doğal dengenin bozulmasını engellemektedir (Walker et al., 2003). Sporlanan hücrede bulunan bu parasporal kristal proteinler *B. thuringiensis*'in biyopestisit ve hedef zararlı için olan özgüllüğünden sorumludur (Van Rie et al., 1990). Genellikle ana hücredeki kristal proteinlerde bulunan Cry (kristal) proteinler (Schnepf et al., 1998), farklı takımlarda yer alan zararlılara karşı yüksek oranda seçici bir insektisidal aktivite gösterirler (Höfte&Whiteley, 1989; Feitelson et al., 1992). Cry protein genlerinin (*cry* genler) genetik çeşitliliği ve dağılımı, *cry* genlerin izole edildikleri bölgelere göre farklılık gösterebilmektedir (Bravo et al., 1998; Uribe et al., 2003). Dolayısıyla, yeni Cry protein genlerini ve farklı zararlı grupları için yüksek oranda toksik etkili yeni Cry proteinleri (Cry toksinleri) tanımlamak için tüm dünyada *B. thuringiensis* suşları izole edilmektedir (Martin & Travers, 1989; Ben-Dov et al., 1997; Bravo et al., 1998; Uribe et al., 2003; Wang et al., 2003; Apaydin et al., 2005; Gao et al., 2008; Seifinejad et al., 2008; Thammasittirong & Attathom, 2008; Patel et al., 2011).

İki noktalı kırmızı örümcek *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae), hem örtü altı yetiştiriciliği hem de tarla koşullarında üretimi yapılan kültür bitkilerinde önemli bir zararlıdır. *T. urticae* başta süs bitkileri olmak üzere yumuşak ve sert çekirdekli meyvelerin yanı sıra sebzelerin de bulunduğu 180 konukçu bitki üzerinde beslenerek zarar yapabilmektedir. *T. urticae* gelişme süresinin kısa ve buna paralel olarak üreme gücünün yüksek oluşu nedeniyle popülasyon yoğunluğunu kısa sürede arttırmakta, bitki öz suyunu emerek yaprakların kurumasına ve dökülmesine neden olmaktadır (Polat ve Kasap, 2011).

Ceroplastes rusci L. (Homoptera: Coccidae) bitki öz suyunu emerek yaptığı zararın yanı sıra tatlımsı madde salgılayarak fumajin oluşumuna yol açmakta ve böylece incirde verim ve kalitenin azalmasına neden olmaktadır (Özsemerci & Akşit, 2003).

Akdeniz meyvesineği (AMS) [*Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)] dünyanın tropik ve subtropik tüm bölgelerine yayılmış ve dış karantina listesinde yer alan önemli bir meyve zararlısıdır. Polifag bir zararlı olup başta turuncgiller olmak üzere kayısı, şeftali, ayva, incir, erik, elma, armut ve Trabzon hurması konukçuları arasında yer almaktadır. Zararlı, turuncgillerin olgunlaşmasından önceki döllerini bu konukçular üzerinde tamamlamaktadır. AMS zararı, larvası tarafından yapılmaktadır. Meyvenin etli kısmında beslenen larvalar, meyvenin bu kısmında bir yumuşama ve çöküntü meydana getirirler. Zarara uğrayan meyveler zamanından önce olgunlaşır ve dökülür (Kahyaoğlu & Gürkan, 2010).

Dünya incir üretiminde ülkemiz ilk sırada yer almaktadır (FAO, 2012). Türkiye'deki incir üretiminin yarısından fazlası ise Aydın İli'nden karşılanmaktadır (Anonymous, 2012). Her ürünün olduğu gibi, önemli

ihracat geliri elde edilen incirin de kaliteli bir şekilde elde edilmesinin en temel koşullarından biri, incirin niteliğini ve niceliğini olumsuz yönde etkileyen incir zararlılarının kontrolünün sağlanmasıdır. İncir zararlıları arasında sayılan *T. urticae* ve *C. rusci* bitki özsuyu ile beslenen iki türdür. Ayrıca, *C. capitata*'nın en çok zarar yaptığı konukçuları arasında incir de yer almaktadır.

Bu çalışmada, *T. urticae*, *C. rusci* ve *C. capitata*'ya karşı öldürücü toksik etkiye sahip *B. thuringiensis* izolatlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Literatürde *T. urticae* ve *C. rusci*'ye karşı doğrudan yüksek oranda toksik etkili *B. thuringiensis* suşları belirtilmemiştir. Ancak, elde edilen doğal *B. thuringiensis* izolatları yeni olduğu için, bu izolatlar arasında etkili izolatlar olup olmadığı merak konusu olduğundan bu çalışma önem arz etmektedir. Bununla birlikte, *B. thuringiensis*'e duyarlı *C. capitata* ile ilgili çalışmalar literatürde mevcut (Gingrich, 1987; Vidal-Quist et al., 2009) olsa da bu çalışma ile ülkemizde *C. capitata*'ya karşı etkili izolatların bulunmasının yanı sıra *C. capitata* ile yapılacak çalışmalara katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Bacillus thuringiensis (Berliner) (Bacillales: Bacillaceae) izolatları

Bu çalışmada kullanılan 37 doğal *B. thuringiensis* (*Bt*) izolatı, 2008 yılında Aydın İli'ne bağlı 8 ilçedeki (Bozdoğan, Germencik, İncirliova, Köşk, Kuyucak, Nazilli, Sultanhisar, Merkez) daha önce *B. thuringiensis*'e dayalı pestisit uygulaması yapılmayan incir bahçelerinden ve incir depolarından alınan meyve-yaprak ve toprak örneklerinden elde edilen *B. thuringiensis* izolatları arasından seçilmiştir. *B. thuringiensis*'in insektisidal etkisi ürettiği kristal proteinlerden kaynaklandığı için, izolatların seçiminde izolatların ürettikleri kristal protein miktarları dikkate alınarak, faz-kontrast mikroskobu incelemelerinde aynı şartlar altında ürettikleri kristal protein varlığı referans suşların (*B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* ve *B. thuringiensis* subsp. *aizawai*) ürettiği kristal protein varlığına benzer olan izolatlar öncelikli olarak bu çalışma için ayrılmıştır.

Bacillus thuringiensis referans suşları *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* (*Btk*) ve *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* (*Bta*), Daniel R. Zeigler (Bacillus Genetic Stock Center, Ohio, USA)'dan sağlanmıştır. Çalışmada kullanılan doğal *B. thuringiensis* izolatlarının elde edildiği ilçeler ve izolatların taşıdığı *cry* gen sınıfları Çizelge 1 ve Çizelge 2'de sırasıyla verilmiştir. Biyoaktivite denemelerinde referans *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* ve *B. thuringiensis* subsp. *aizawai*'nin de *T. urticae*, *C. rusci* ve *C. capitata* üzerindeki öldürücü toksik etkisi araştırılmıştır.

Çizelge 1. *Bacillus thuringiensis* izolatlarının örnekleme yerlerine göre dağılımı

Örnekleme Yerleri	İzolatlar*
Bozdoğan	1T, 2T
Germencik	9T, 10T, 11T, 107T, 158T, 176T, 100MY, 101MY
İncirliova	7T, 8T, 23T, 24T, 26T, 106T, 145T, 153T, 42MY, 43MY, 44MY, 48MY, 49MY, 75MY, 102MY
Köşk	69T, 71T, 11MY, 13MY
Kuyucak	5MY
Nazilli	3T, 113T, 9MY
Sultanhisar	4T, 76MY
Merkez	5T, 6T

*: T: toprak izolatı; MY: meyve-yaprak izolatı

Çizelge 2. *Bacillus thuringiensis* izolatlarının ve referans *Bacillus thuringiensis* suşlarının cry gen içerikleri

cry gen sınıfı	İzolatlar
cry 1	1T, 2T, 7T, 26T ^b , 113T, 5MY, 9MY ^b , 11MY, 75MY, 76MY
cry 4	100MY
cry 9	3T
cry 1, cry 2	5T, 8T, 9T, 11T, 24T ^b , 176T, 43MY, 44MY, 49MY ^b , 101MY, 102MY ^b
cry 1, cry 3	145T ^c , 158T ^a
cry 1, cry 2, cry 3	23T ^a , 106T ^c , 107T, 153T ^c , 13MY, 42MY
cry 1, cry 2, cry 9	6T, 10T
cry 1, cry 2, cry 3, cry 4	69T ^c , 48MY ^b
cry 1, cry 2, cry 3, cry 9	4T, 71T ^c
cry1, cry2	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>
cry1, cry2, cry7, cry8, cry9	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i>

^a: Sadece *Tetranychus urticae* üzerinde biyoaktivitesi belirlenen izolatlar

^b: Sadece *Ceroplastes rusci* üzerinde biyoaktivitesi belirlenen izolatlar

^c: *Ceratitidis capitata*'dan farklı olarak *Tetranychus urticae* ve *Ceroplastes rusci* üzerinde biyoaktivitesi belirlenen izolatlar

***Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Bacillales: Bacillaceae) izolatlarından spor-kristal karışımının elde edilmesi**

Çalışma için seçilen *B. thuringiensis* izolatlarından spor-kristal karışımı Bravo et al., (1998)'in yöntemine göre elde edilmiştir. Buna göre, her bir izolat 37°C'de nütrient ağarda bir gece büyütülmüştür. Daha sonra bu hücrelerden, 100 ml T3 sıvı sporlanma besiyerine ekim yapılmıştır ve besiyerleri çalkalamalı inkübatörde 28°C'de 150 rpm'de en az 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. Parasporal kristallerin serbest kaldığı örnekler, 4°C'de 6000 rpm'de 15 dakika santrüflenmiştir. Elde edilen pellet, önce soğuk 1M NaCl ile 2 defa, daha sonra soğuk distile su ile 3 defa yıkanmıştır. Pellet, 37-40°C'de gece boyunca kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan pelletler toz haline getirilerek -20°C'de kullanılıncaya kadar saklanmıştır.

***Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae), *Ceroplastes rusci* L. (Homoptera: Coccidae) ve *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) kültürleri**

Biyoaktivite denemelerinde kullanılacak olan *T. urticae* kültürleri, doğadan toplanarak hazırlanmıştır. Bunun için, doğadan toplanan söz konusu zararlı ile bulaşık domates yaprakları laboratuvara getirilerek saksılardaki herhangi bir zararlı ile bulaşık olmayan domates fidelerine bulaştırılmıştır ve burada çoğalmaları sağlanmıştır.

Ceroplastes rusci ile yapılan biyoaktivite denemelerinde, doğadan toplanan *C. rusci* ile bulaşık incir sürgünleri kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılmak üzere kültüre alınan *C. capitata* larvaları, Bornova Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü (İzmir)'den temin edilmiştir.

***Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Bacillales: Bacillaceae) izolatlarının *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae), *Ceroplastes rusci* L. (Homoptera: Coccidae) ve *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) üzerindeki biyoaktivitelerinin belirlenmesi**

Biyoaktivite denemelerinde, izolatlara ait spor-kristal karışımlarının zararlılar üzerindeki öldürücü toksik etkisi araştırılmıştır. Bunun için her bir izolata ait spor-kristal karışımı %0.1 Tween 80 içeren steril distile suda çözülmüştür. Bu süspansiyon her bir izolat için, *T. urticae* ve *C. capitata* denemelerinde 1000 ppm, *C. rusci* denemelerinde 500 ppm oranında hazırlanmıştır.

Biyoaktivite denemeleri, her bir izolatın spor-kristal karışımı için üç tekerrürlü iki deneme şeklinde polystyrene petri kaplarında yapılmıştır. Her bir denemede kullanılan spor-kristal karışımları eş zamanlı uygulanmıştır. Biyoaktivite denemeleri, 25±3°C'de, %70 orantılı nem, 16:8 saat aydınlık: karanlık

fotoperiyodunda gerçekleştirilmiştir. Kontrol olarak, spor-kristal karışımı içermeyen steril distile su kullanılmıştır.

***Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Bacillales: Bacillaceae) izolatlarının *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae) üzerindeki biyoaktivitesinin belirlenmesi**

Biyoaktivite denemelerinde, *T. urticae* ikinci dönem nimflerine karşı 31 doğal *B. thuringiensis* izolatının (Çizelge 2) 1000 ppm oranındaki spor-kristal karışımı uygulanmıştır. Her bir spor-kristal karışımı, konsantrasyonu 1mg/ml olacak şekilde 1.5 ml hazırlanmıştır. Denemede herhangi bir zararlı ile bulaşık olmayan orta boy domates yaprakları kullanılmıştır. Bu domates yaprakları sapları ile birlikte, yaprak alt yüzeyi üstte kalacak şekilde petri kaplarındaki ağara (%5) gömülmüştür. Bu şekilde, bir deneme için üç tekerrür plastik petri kabı hazırlanmıştır. Her bir petri kabındaki yaprak alt yüzeyine, hazırlanan 1000 ppm'lik spor-kristal karışımından püskürtme işlemi ile 500 µl homojen bir şekilde uygulanmıştır. Yaprığın bir süre kuruması beklenmiştir. Daha sonra, her bir yaprağa 15 adet ikinci dönem *T. urticae* nimfi yerleştirilmiştir. *T. urticae* yumurtaları düzenli bir şekilde takip edilip iğne ve pens yardımıyla ortamdaki uzaklaştırılmıştır. Kontrol olarak steril distile su püskürtülen yapraklar kullanılmıştır. *T. urticae*'nin ölü ikinci dönem nimf sayımları, spor-kristal karışımı uygulandıktan 48 saat sonra yani 2. günden itibaren alınmaya başlanmış olup 7 gün boyunca günlük kaydedilmiştir.

***Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Bacillales: Bacillaceae) izolatlarının *Ceroplastes rusci* L. (Homoptera: Coccidae) üzerindeki biyoaktivitesinin belirlenmesi**

Biyoaktivite denemelerinde, *C. rusci* nimflerine karşı, 35 doğal *B. thuringiensis* izolatının (Çizelge 2) 500 ppm oranındaki spor-kristal karışımı uygulanmıştır. Her bir spor-kristal karışımından 0.5 mg/ml olacak şekilde 4.5 ml hazırlanmıştır. Denemede, üzerinde 20'den fazla ve değişken sayıda karışık nimf döneminde *C. rusci* kolonileri bulunan ve ergin kolonileri gözlenmeyen 10-15-20 cm'lik incir sürgünleri kullanılmıştır. Her bir tekerrüre bu incir sürgünlerinden biri konulmuştur ve her bir sürgüne hazırlanan spor-kristal karışımından 1.5 ml uygulanmıştır. Kontrol olarak ise sürgünlere steril distile su verilmiştir. Spor-kristal karışımı uygulandıktan 48 saat sonra yani 2. günde ve ayrıca 4. günde sayım yapılmıştır. Söz konusu böceğin kesilen incir sürgünleri üzerinde beslenme aktivitesini sürdürebildiği ve dolayısıyla da toksik etkilerin gözlenebileceği 4 günlük sayımlarda, Açık göz (1993)'den esinlenerek her sayımda sürgün etrafında dönerek çapraz şekilde ve sürgünü temsil edecek şekilde nimf dönemi dikkate alınmadan rastgele 10 birey kontrol edilmiştir. Ölü bireyler kaydedilmiştir.

***Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Bacillales: Bacillaceae) izolatlarının *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) üzerindeki biyoaktivitesinin belirlenmesi**

Çalışmanın amacına ulaşmak için, *C. capitata* birinci ve ikinci dönem larvaları üzerinde 24 doğal *B. thuringiensis* izolatının (Çizelge 2) spor-kristal karışımının etkisi denenmiştir. Larvaların besini olarak Zümreoğlu et al. (1979) tarafından belirtilen besin ortamı kullanılmıştır. Her bir izolat için 1000 ppm konsantrasyonunda (5 mg spor-kristal karışımı/5 gr besin) hazırlanan bu süspansiyon, *C. capitata* larvalarının besini ile homojen bir şekilde karıştırılmıştır ve bir süre kurutulmuştur. Her tekerrüre 15 adet *C. capitata* larvası yerleştirilmiştir. Spor-kristal karışımı içermeyen besin, kontrol olarak kullanılmıştır. Larvalarda meydana gelen ölüm sayıları spor-kristal karışımı uygulandıktan 48 saat sonra yani 2. günden itibaren başlayıp 7 gün boyunca günlük yapılar kaydedilmiştir.

Veri analizi

Zararlıların ölüm sayıları, spor-kristal karışımı uygulandıktan 48 saat sonra yani 2. günde alınmaya başlanmıştır ve her bir canlı için yukarıda verilen zamanlarda yapılan sayımlar kontroldeki ölümler ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen veriler SPSS istatistik programı (Version, 10.0) kullanılarak, tek yönlü varyans analizi (ANOVA)'ne tabii tutulmuştur. Duncan range testi ile spor-kristal karışımlarının farklılıkları

belirlenmiştir ve test $\alpha = 0.05$ derecesinde gerçekleştirilmiştir. İzolatların zararlılar üzerindeki öldürücü etkisi Abbott's eşitliği ile hesaplanmıştır (Abbott, 1925).

Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Bacillus thuringiensis (Berliner) (Bacillales: Bacillaceae) izolatlarının *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae) üzerindeki biyoaktivitesi

Tetranychus urticae ikinci dönem nimfleri üzerinde 31 doğal *B. thuringiensis* izolatı ile iki kez tekrarlanan biyoaktivite denemelerinin sonucunda, izolatların Abbott's formülüne göre hesaplanan ortalama %ölüm oranları ve Duncan range testine göre belirlenen ortalama canlı nimf sayılarının farklılık testlerinin sonuçları Çizelge 3'te gösterilmiştir.

Çizelge 3. *Tetranychus urticae* ikinci dönem nimfleri üzerinde *Bacillus thuringiensis* izolatlarının %ölüm oranları ve denemeler sonucunda belirlenen ortalama canlı nimf sayıları (\pm SE)*

İzolatlar	%Ölüm oranı (\pm SE)	Ortalama canlı nimf sayıları(\pm SE)	
		1. Deneme	2. Deneme
1T	14.44 (\pm 1.11)	13.32 \pm 0.24def	13.57 \pm 0.18def
2T	17.77(\pm 2.22)	13.28 \pm 0.23def	13.04 \pm 0.28cdef
3T	17.77(\pm 2.22)	13.33 \pm 0.21def	13.02 \pm 0.28cdef
4T	19.99(\pm 2.22)	12.61 \pm 0.31bcd	13.14 \pm 0.26cdef
5T	22.22 \pm (2.22)	12.47 \pm 0.34bc	12.85 \pm 0.26cd
6T	29.99(\pm 1.11)	11.61 \pm 0.38a	11.76 \pm 0.35a
7T	27.77(\pm 1.11)	12.00 \pm 0.33ab	11.80 \pm 0.36a
8T	13.33(\pm 0)	13.47 \pm 0.17efg	13.47 \pm 0.17def
9T	9.99(\pm 1.11)	13.95 \pm 0.10fghi	13.76 \pm 0.16efgh
10T	11.11(\pm 0)	13.71 \pm 0.17efghi	13.71 \pm 0.17efg
11T	14.44(\pm 1.11)	13.19 \pm 0.29cdef	13.42 \pm 0.16def
23T	12.22(\pm 1.11)	13.57 \pm 0.18efgh	13.70 \pm 0.18efg
69T	13.33(\pm 0)	13.47 \pm 0.17efg	13.47 \pm 0.17def
71T	9.99(\pm 1.11)	13.95 \pm 0.14fghi	13.76 \pm 0.16efgh
106T	9.99(\pm 1.11)	13.95 \pm 0.14fghi	13.74 \pm 0.17efgh
107T	4.44(\pm 0)	14.47 \pm 0.11ijk	14.47 \pm 0.11hi
113T	12.22(\pm 1.11)	13.71 \pm 0.17efghi	13.52 \pm 0.17def
145T	1.11(\pm 1.11)	15.00 \pm 0.00k	14.76 \pm 0.09i
153T	27.77(\pm 1.11)	11.90 \pm 0.38ab	12.00 \pm 0.33ab
158T	24.44(\pm 0)	12.47 \pm 0.34bc	12.47 \pm 0.34bc
176T	21.11(\pm 1.11)	12.61 \pm 0.31bcd	13.04 \pm 0.28cdef
5MY	5.55(\pm 1.11)	14.28 \pm 0.10hijk	14.42 \pm 0.11ghi
11MY	9.99(\pm 1.11)	13.95 \pm 0.14fghi	13.76 \pm 0.18efgh
13MY	19.99(\pm 2.22)	12.61 \pm 0.31bcd	13.04 \pm 0.25cdef
42MY	12.22(\pm 1.11)	13.47 \pm 0.17efg	13.71 \pm 0.17efg
43MY	3.33(\pm 1.11)	14.76 \pm 0.09jk	14.47 \pm 0.11hi
44MY	13.33(\pm 0)	13.49 \pm 0.17efg	13.47 \pm 0.17def
75MY	17.77(\pm 0)	13.00 \pm 0.23cde	13.02 \pm 0.25cdef
76MY	16.66(\pm 1.11)	13.00 \pm 0.23cde	13.33 \pm 0.22def
100MY	9.99(\pm 1.11)	13.95 \pm 0.14fghi	13.76 \pm 0.18efgh
101MY	22.22(\pm 0)	12.52 \pm 0.28bc	12.52 \pm 0.28bc
<i>Btk</i>	11.11(\pm 0)	13.71 \pm 0.20efghi	13.76 \pm 0.16efgh
<i>Bta</i>	12.22(\pm 1.11)	13.56 \pm 0.15efgh	13.72 \pm 0.16efg
Kontrol		15.00 \pm 0.00k	15.00 \pm 0.00i

*: Aynı sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($P > 0.05$).

Farklı spor-kristal karışımlarının *T. urticae* nimfleri üzerindeki toksik etkisi kontrol ile karşılaştırıldığında, ortalama %20'nin üzerinde öldürücü etkiye sahip izolatlardan farklı istatistiksel aralıkta yer alan 6T izolatının toksik etkisi en yüksek bulunmuştur ($P < 0.05$; $df = 6.14$; $F = 52.75$). Diğer en etkili izolatlardan farklı istatistiksel aralıkta yer alan 6T izolatı ile yakın istatistiksel aralıkta bulunan 153T ve 7T izolatları olmuştur ($P < 0.05$; $df = 6.14$; $F = 24.70$; $F = 78.16$). Aynı istatistiksel aralıkta yer alan 5T, 158T ve 101MY izolatları da takip eden etkili izolatlardan farklı istatistiksel aralıkta yer alan 6T ve 7T'nin etkisi en yüksek çıkmıştır ($P < 0.05$; $df = 6.14$; $F = 35.33$; $F = 31.05$). Bunlara ilave olarak diğer etkili izolat, kontrolden ve diğer tüm izolatlardan farklı ancak 6T ve 7T ile yakın istatistiksel aralıkta yer alan 153T izolatı olmuştur ($P < 0.05$; $df = 6.14$; $F = 78.16$). Kontrolden farklı olarak aynı istatistiksel aralıkta yer alan diğer etkili izolatlardan 158T ve 101MY olduğu kaydedilmiştir ($P < 0.05$; $df = 6.14$; $F = 26.38$; $F = 18.22$). Bu iki izolata yakın istatistiksel aralıkta bulunan 5T izolatı da etkili izolatlardan farklı istatistiksel aralıkta yer alan diğer etkili izolatlardan 158T ve 101MY olduğu kaydedilmiştir ($P < 0.05$; $df = 6.14$; $F = 26.38$; $F = 18.22$). İki denemenin sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, ortalama %29 öldürücü etkisiyle 6T izolatı *T. urticae* ikinci dönem nimfleri üzerindeki en etkili toksik izolat olarak bulunmuştur. Diğer toksik etkili izolatlardan ortalama %27 öldürücü etkileriyle, 7T ve 153T izolatları; ortalama %24 öldürücü etkisiyle 158T izolatı ve %22 öldürücü etkileriyle 5T ve 101MY izolatları olduğu görülmektedir. Sırasıyla ortalama %11 ve %12 öldürücü etkileriyle referans *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* ve *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* suşlarının *T. urticae* ikinci dönem nimfleri üzerindeki toksik etkileri düşük bulunmuştur (Çizelge 3).

Tetranychus urticae nimfleri üzerinde etkisi incelenen 31 doğal *B. thuringiensis* izolatının toksik etkisi Çizelge 4'te özetlenmiştir. Buna göre, *T. urticae* nimfleri üzerinde izolatlardan yarımından fazlasının (%58), %15 ve altında, %42'sinin %16 ile %30 arasında değişen oranda ölüme neden olduğu görülmüştür.

Çizelge 4. *Tetranychus urticae* nimfleri üzerinde doğal *Bacillus thuringiensis* izolatlarının toksik etkisi

Toksisite*	<i>Bacillus thuringiensis</i> İzolatları	Yüzde
≤ %15	1T, 8T, 9T, 10T, 11T, 23T, 69T, 71T, 106T, 107T, 113T, 145T, 5MY, 11MY, 42MY, 43MY, 44MY, 100MY	58.06 (18) ^a
%16 - %30	2T, 3T, 4T, 5T, 6T, 7T, 153T, 158T, 176T, 13MY, 75MY, 76MY, 101MY	41.93 (13) ^a
Toplam		100.0 (31) ^a

*: *Tetranychus urticae* ikinci dönem nimflerine karşı uygulanan 1000 ppm'lik doz sonucu görülen öldürücü etki

^a: *Bacillus thuringiensis* izolat sayısı.

Çalışma sonuçlarımıza benzer şekilde, Chapman&Hoy (1991) *B. thuringiensis* var. *tenebrionis*'in islanabilir tozlarının *T. urticae* ergin dişileri üzerinde az oranda ölüme neden olduğunu ve dişi *T. urticae*'lerin %90.0±14.2 oranında canlılık gösterdiğini bildirmişlerdir. Dutton et al., (2003) yaptığı çalışmada, *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* (HD-1) ürünü olan Dipel'in sprey olarak mısır bitkisine uygulandığında, *T. urticae*'nin artış oranında (intrinsic rate of natural increase r_m) kontrole göre (0.51) az bir azalma (0.47) olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar bu durumun nedenini, kontrol bitkisi ile karşılaştırıldığında, Dipel ile spreylenmiş bitkilerdeki dişiler tarafından bırakılan yumurta sayısındaki azalmaya bağlamışlardır. *B. thuringiensis* Cry toksin genlerinin aktarıldığı farklı transgenik bitkilerle yapılan çalışmalarda da, *B. thuringiensis* toksinlerinin *T. urticae* üzerinde önemli etkilerinin görülmediği bildirilmiştir (Dutton et al., 2002; Li&Romeis, 2010). Bu çalışmalardan, Cry toksinlere karşı doğrudan önemli ölçüde duyarlılık göstermeyen *T. urticae*'nin gelişim evrelerinde az da olsa olumsuz etkiler görülebileceği anlaşılmaktadır. Ayrıntılı çalışmalarla, *B. thuringiensis* Cry toksinlerinin *T. urticae* üzerindeki potansiyel etkileri ortaya konuldukları *T. urticae*'de neredeyse yok denecek kadar az duyarlılık görülmesinin nedeni açıklığa kavuşacaktır.

Aydın İli incirlik alanlarından izole edilen doğal *B. thuringiensis* izolatlarına ait spor-kristal karışımları ile yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ve yukarıdaki literatürde yer alan bilgiler, *T. urticae*'ye karşı *B. thuringiensis* Cry toksinlerinin kullanılmasının, *T. urticae* kontrolünde tek başına yeterli olamayacağını ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, özellikle %25'in üzerinde toksik etki gösteren izolatların Cry toksin genlerinde rekombinant DNA teknolojisiyle yapılacak bazı iyileştirmelerin yanı sıra diğer farklı toksin karışımları ile yapılacak çalışmalar, *T. urticae*'ye karşı etkili biyopestisitlerin gelişimine katkı sağlayabilecektir. Ayrıca, *T. urticae*'nin laboratuvar popülasyonlarının geliştirilmesinin, biyoaktivite denemelerinin kolaylıkla ve daha kısa sürede yapılabilmesine olanak sağlayacağı düşünülmektedir.

***Bacillus thuringiensis* Berliner) (Bacillales: Bacillaceae) izolatlarının *Ceroplastes rusci* L. (Homoptera: Coccidae) üzerindeki biyoaktivitesi**

Ceroplastes rusci karışık nimf dönemleri üzerinde 35 doğal *B. thuringiensis* izolatı ile iki kez tekrarlanan biyoaktivite denemelerinin sonucunda, çok az da olsa ölüme neden olan izolatların Abbott's formülüne göre hesaplanan ortalama %ölüm oranları Çizelge 5'te gösterilmiştir. Duncan range testine göre deneme sonucunda belirlenen ortalama canlı nimf sayıları arasında istatistiksel bir farklılık bulunmadığından veriler burada gösterilmemiştir.

Ceroplastes rusci nimfleri üzerinde denenen 35 izolatın 30 tanesinin (%86) hiçbir toksik etki göstermediği bulunmuştur. Geriye kalan 5 izolatta (%14) ise sadece %2 ile %12 arasında değişen çok düşük toksik etki görülmüştür (Çizelge 6). *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* ve *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* referans *B. thuringiensis* suşları da diğer izolatlar gibi çok düşük toksik etki göstermişlerdir.

Çizelge 5. *Ceroplastes rusci* nimfleri üzerinde *Bacillus thuringiensis* izolatlarının yüzde ölüm oranları

İzolatlar	%Ölüm oranı (±SE)	İzolatlar	%Ölüm oranı (±SE)
7T	4.16(±0.8)	75MY	5.83(±0.83)
71T	4.16(±0.8)	<i>Btk</i>	1.66(±0)
107T	3.33(±0)	<i>Bta</i>	8.33(±1.67)
49MY	10.83(±0.83)		

Çizelge 6. *Ceroplastes rusci* nimfleri üzerinde doğal *Bacillus thuringiensis* izolatlarının toksik etkisi

Toksosite*	<i>Bacillus thuringiensis</i> İzolatları	Yüzde
Toksik olmayan	1T, 2T, 3T, 4T, 5T, 6T, 8T, 9T, 10T, 11T, 24T, 26T, 69T, 106T, 113T, 145T, 153T, 176T, 5MY, 9MY, 11MY, 13MY, 42MY, 43MY, 44MY, 48MY, 76MY, 100MY, 101MY, 102MY	85.71 (30) ^a
%2 - %12	7T, 71T, 107T, 49MY, 75MY	14.28 (5) ^a
Toplam		100.0 (35) ^a

*: *Ceroplastes rusci* karışık dönem nimflerine karşı uygulanan 500 ppm' lik doz sonucu görülen öldürücü etki

^a: *Bacillus thuringiensis* izolat sayısı.

Literatürde *B. thuringiensis* suşlarının bir kabuklu bit olan *C. rusci* üzerinde etkili olduğuna ilişkin bir bilgiye rastlanmamıştır. Bu çalışma sonuçlarından elde edilen veriler, *C. rusci*'ye karşı *B. thuringiensis* toksinlerinin bu çalışmadaki gibi uygulandığında neredeyse hiçbir kontakt etki göstermediğini ortaya koymuştur. Spreyle uygulanan *B. thuringiensis* toksinleri, yaprak yüzeyinde sadece birkaç gün kalabilmektedir (Sanahuja et al., 2011). Bu nedenle, *B. thuringiensis* toksinlerinin, *C. rusci* nimflerinin hareketli olduğu dönemde uygulanmasının etki denemelerinde daha iyi sonuç vereceği düşünülmektedir.

***Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Bacillales: Bacillaceae) izolatlarının *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) üzerindeki biyoaktivitesi**

Bu çalışmada *C. capitata*'ya karşı test edilen *B. thuringiensis* izolatlarında bulunan Cry protein genleri (*cry* gen) dikkate alındığında, Höfte&Whiteley (1989), Cry1 proteinlerinin Lepidopterlere, Cry3 proteinlerinin Coleopterlere, Cry4 proteinlerinin Dipterlere daha çok etkili olduğunu, Cry2 proteinlerinin ise hem Lepidopterlere hem Dipterlere karşı etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, bazı çalışmalarda Cry1 ve Cry2 proteinlerinin Dipterlere karşı kısmen toksik etkili olabileceği gösterilmiştir (Hodgman et al., 1993; Iriarte et al., 2000). Farklı araştırmacılar tarafından Cry9 proteinlerinin Lepidopterlere karşı etkili olduğu (Bravo et al., 1998; Wang et al., 2003) ve farklı böcek gruplarına karşı da toksik etki gösterebileceği belirtilmiştir (van Frankenhuyzen, 2009). Bu bilgiler doğrultusunda, bu çalışmada *C. capitata*'ya karşı test edilen izolatların tamamı Dipterlere karşı potansiyel etkili olabildiği bilinen Cry protein genlerini taşımaktadır.

Deneme sonuçlarına göre, genel olarak *cry1* ve *cry2* genlerinin diğer genlerle birlikte farklı kombinasyonlarını da içerebilen 24 doğal *B. thuringiensis* izolatının 1000 ppm konsantrasyonundaki spor-kristal karışımının *C. capitata* birinci ve ikinci dönem larvaları üzerindeki toksik etkisi Çizelge 7'de kısaca özetlenmiştir. Buna göre, *C. capitata* larvaları üzerinde *B. thuringiensis* izolatlarının 21 tanesinin (%88), öldürücü bir toksik etkiye neden olmadığı, geriye kalan 3 izolatın (%12) ise %2 ile %5 arasında neredeyse yok denecek kadar az bir ölüme neden olduğu görülmüştür. Benzer şekilde referans *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* ve *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* suşları da *C. capitata* üzerinde anlamlı bir öldürücü toksik etkiye neden olmamışlardır (\leq %5).

Çizelge 7. *Ceratitis capitata* larvaları üzerinde doğal *Bacillus thuringiensis* izolatlarının toksik etkisi

Toksosite*	Bt İzolatları	Yüzde
Toksik olmayan	1T, 2T, 3T, 4T, 5T, 7T, 8T, 11T, 107T, 113T, 176T, 5MY, 11MY, 13MY, 42MY, 43MY, 44MY, 75MY, 76MY, 100MY, 101MY	87. 50 (21) ^a
%2 - %5	6T, 9T, 10T	12. 50 (3) ^a
Toplam		100. 0 (24) ^a

*: *Ceratitis capitata* üzerinde 1. dönem ve 2. dönem larvalarına karşı uygulanan 1000 ppm' lik doz sonucu görülen öldürücü etki

^a: *Bacillus thuringiensis* izolat sayısı.

Karamanlidou et al. (1991), zeytin sineği *Bactrocera oleae* ile yaptıkları çalışmada, *B. thuringiensis*'e karşı *B. oleae* larvalarındaki duyarlılıklarının erginlere göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Alberola et al. (1999) ise yaptıkları bir çalışmada, Yunanistan, İtalya ve İspanya'daki zeytinlik alanlarından ve dünyanın çeşitli yerlerindeki bilim adamlarından elde ettikleri *B. thuringiensis* izolatlarının zeytin sineği üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, izolatların bazılarının zeytin sineğinin sadece erginlerine veya sadece larvalarına, bazı izolatların ise hem erginlerine hem de larvalarına karşı toksik etkili olduğunu ve izolatların çoğunluğunun larvalardan ziyade erginler üzerinde toksik etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Çalışmamızdan farklı olarak, Vidal-Quist et al. (2009) İspanya'da narenciye bahçelerinden elde ettikleri izolatlar arasından seçtikleri ve farklı *cry* gen kompozisyonuna sahip 376 *B. thuringiensis* izolatının spor-kristal süspansiyonunu *C. capitata* erginleri üzerinde denediklerinde, izolatların %5.9'nun %30 oranında ölüme neden olduğunu ve en fazla gözlenen ölüm oranının %30 olduğunu bildirmişlerdir. Aboussaid et al. (2010) ise, 26 *B. thuringiensis* izolatı ile yaptığı çalışmada, çalışma bulgularımızdan farklı olarak izolatların %100'nün *C. capitata* erginlerine karşı, %60'nun da üçüncü dönem larvalarına karşı toksik olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, *C. capitata* ilk dönem larvalarının ve erginlerinin, üçüncü dönem larvalarından daha duyarlı olduklarını ifade etmişlerdir. Robacker et al.

(1996) Meksika meyve sineği *Anastrepha ludens* ile yaptıkları çalışmada, larvalar üzerinde toksik etkili izolatların mutlaka erginler üzerinde de toksik olması gerektiğini ya da tam tersi şekilde erginler üzerinde toksik etkili izolatların larvalar üzerinde toksik olması gerektiğini ifade etmişlerdir. Literatürde yer alan bu çalışmalarda da belirtildiği gibi, *B. thuringiensis* izolatlarının farklı toksik etki göstermesinin, izolatların *cry* gen içeriklerinin farklı olmasından, larval veya ergin dönemde toksisiteden sorumlu olan genlerin farklılık göstermesinden, larval veya ergin sindirim sistemindeki farklı kimyasal şartlara göre farklı toksinlerin aktive edilmesinden, biyoaktivite koşullarından ve test edilen türlerde görülen varyasyonlardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Literatürlerdeki bu bilgilerden farklı olarak, Vidal-Quist et al. (2010), *C. capitata* larvaları üzerinde *B. thuringiensis* serovar *israilensis* suşunda üretilen Cyt1Aa proteinin etkili olduğunu ilk kez bildirmişlerdir ve *B. thuringiensis* serovar *israilensis*'in 7 günlük süreçte larvaların üçüncü döneme ulaşma yüzdesini önemli ölçüde azalttığını (3 suş için sırasıyla, % 9.2, % 3.1 ve % 31.2) belirtmişlerdir.

Bu çalışmada sadece *C. capitata* larvaları kullanılmış ve bu larvalara karşı öldürücü etkili doğal *B. thuringiensis* izolatları belirlenmemiştir. Yukarıda belirtilen literatür bilgileri dikkate alındığında, bu çalışma ile larvalar üzerinde etkisi araştırılan izolatların, *C. capitata* erginleri üzerinde de etkisinin araştırılması bu zararlının kontrolünün sağlanmasına katkı sağlayabilir. *C. capitata* dahil olmak üzere farklı takımlardaki zararlılara karşı etkili *B. thuringiensis* izolatlarının bulunması amacıyla *B. thuringiensis* koleksiyonlarının oluşturulmasına devam edilmelidir. Böylelikle karakterizasyonu yapılan *B. thuringiensis* izolatlarının taşıdıkları Cry protein genleri ve Cyt protein genleri dikkate alınarak yapılan biyoaktivite denemeleri, *C. capitata*'ya karşı etkili izolatların bulunmasına yardımcı olabilir. Bununla birlikte, serin proteinaz inhibitörleri gibi ilave proteinler (MacIntosh et al., 1990) ve hibrit toksinler gibi Cry protein genlerinde oluşturulan modifikasyonlar (deMaagd et al., 1996) ile Cry proteinlerin insektisidal etkisini arttırmaya yönelik çalışmalar *C. capitata*'nın kontrolünün sağlanmasında etki sağlayabilir. *C. capitata*'ya karşı etkili *B. thuringiensis* izolatlarının bulunması, bu zararlının kontrolünde kullanılan insektisitlerin kullanımının azalmasını sağlayarak insektisitlerin çevre ve halk sağlığı üzerinde neden oldukları problemlerin çözümüne yardımcı olabilir.

Gerçekleştirilen bu çalışma ile incir ana zararlılardan biri olan *T. urticae* nimfleri üzerinde farklı spor-kristal karışımlarının toksik etkisi kontrol ile karşılaştırıldığında, 6T, 153T, 7T izolatlarının toksik etkilerinin saptanması, etkili izolatlarda toksik etkiye neden olan toksin proteinlerin, zararlının ergin ve ergin öncesi dönemlerine (yumurta ve diğer nimf dönemleri) ait etkilerinin de baz alınabileceği diğer çalışmalar için bir temel oluşturmaktadır. Denemesi yapılan mevcut izolatlar yeni elde edilen izolatlar olup, gerçekleştirilen bu çalışma ile farklı doz denemeleri ve farklı uygulama sayıları da ele alınarak, kırmızı örümceğin farklı nimf dönemlerine ait verilerine ileriki çalışmalarda ulaşılabilir.

Bu çalışma sonuçlarından elde edilen verilere göre *C. rusci*'ye karşı *B. thuringiensis* toksinlerinin neredeyse hiçbir kontakt etki göstermediği anlaşılmıştır. Söz konusu toksik çalışmalarda toksik etkilerin gözlemlenebilmesi için *B. thuringiensis* toksinlerinin, *C. rusci* yumurtalarının açıldığı dönemlerde, yumurtadan çıkan birinci dönem nimflerinin üzerinde denemesi, erken dönem nimflere ait çalışmaların yapılması, toksik etki denemelerinin daha iyi sonuç vermesine katkı sağlayabilir.

Diğer önemli bir zararlı tür olan *C. capitata*'nın birinci ve ikinci dönem larvaları üzerinde 21 tanesinin (%88), öldürücü bir toksik etkiye neden olmaması, geriye kalan 3 izolatın (%12) ise %2 ile %5 arasında neredeyse yok denecek kadar az bir ölüme neden olması denemesi yapılan izolatlar için söz konusu zararlı için yapılacak mücadele çalışmaları açısından uygun görünmese de, daha farklı izolatlarla yer verilerek, toksik etkilerin biyokimyasal ve fizyolojik verilerle de desteklenerek ümitvar sonuçlar alınabileceği kanısındayız.

Teşekkür

Bu çalışma 108T178 nolu TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmiştir. Ayrıca *C. capitata* larvaları Bornova Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü (İzmir) tarafından sağlanmıştır.

Yararlanılan Kaynaklar

- Abbott, W. S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2): 265-267.
- Aboussaid, H., L. El-Aouame, S. El-Messoussi & K. Oufdou, 2010. Biological activity of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) strains on larvae and adults of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *Journal of Environmental Protection*, 1(4): 337-345.
- Açıkgöz, N., 1993. Tarımda Araştırma ve Deneme Metotları. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları No: 478, İzmir, 219s.
- Alberola, T.M., S. Aptosoglou, M. Arsenakis, Y. Bel, G. Delrio, D.J. Ellar, J. Ferè, F. Granero, D.M. Guttman, S. Koliais, M.J. Martinez-Sebastian, R. Prota, S. Rubino, A. Satta, G. Scarpellini, A. Sivropoulou & E. Vasara, 1999. Insecticidal activity of strains of *Bacillus thuringiensis* on larvae and adults of *Bactocera oleae* Gmelin (Dipt. Tephritidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 74(2): 127-136.
- Apaydin, O., A.F. Yenidünya, S. Harsa & H. Günes, 2005. Isolation and characterization of *Bacillus thuringiensis* strains from different grain habitats in Turkey. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(3): 285-292.
- Anonymous, 2012. Türkiye İstatistik Kurumu (web sayfası : <http://www.tuik.gov.tr>) (Erişim tarihi: Kasım, 2012).
- Ben-Dov, E., A. Zaritsky, E. Dahan, Z. Barak, R. Sinal, R. Manasherob, A. Khamraev, E. Troitskaya, A. Dubitsky, N. Berezina & Y. Margalith, 1997. Extend screening by PCR for seven *cry*-group genes from field-collected strains of *Bacillus thuringiensis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(12): 4883-4890.
- Bravo, A., S. Sarabia, L. Lopez, H. Ontiveros, C. Abarca, A. Ortiz, M. Ortiz, L. Lina, F.J. Villaloboz, G. Peña, M-E. Nuñez-Valdez, M. Soberon & R. Quintero, 1998. Characterization of *cry* genes in a Mexican *Bacillus thuringiensis* strain collection. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(12): 4965-4972.
- Bravo, A., S. Likitvitanavong, S.S. Gill & M. Soberón, 2011. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 41(7): 423-431.
- Chapman, M.H. & M.A. Hoy, 1991. Relative toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* to the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) and its predator *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt) (Acari, Tetranychidae and Phytoseiidae). *Journal of Applied Entomology*, 111: 147-154.
- de Maagd, R.A., M.S.G. Kwa, H. van der Klei, T. Yamamoto, B. Schipper, J.M. Vlak, W.J. Stiekema & D. Bosch, 1996. Domain III substitution in *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin Cry1Ab results in superior toxicity for *Spodoptera exigua* and altered membrane protein recognition. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(5): 1537-1543.
- Dutton, A., H. Klein, J. Romeis & F. Bigler, 2002. Uptake of Bt-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecological Entomology*, 27: 441-447.
- Dutton, A., H. Klein, J. Romeis & F. Bigler, 2003. Prey-mediated effects of *Bacillus thuringiensis* spray on the predator *Chrysoperla carnea* in maize. *Biological Control*, 26(2): 209-215.
- FAO, 2012. (web sayfası: <http://www.faostat.fao.org>) (Erişim tarihi: Kasım, 2012).
- Feitelson, J.S., J. Payne & L. Kim, 1992. *Bacillus thuringiensis*: insects and beyond. *Bio/Tecnology*, 10: 271-275.
- Gao, M., R. Li, S. Dai, Y. Wu & D. Yi, 2008. Diversity of *Bacillus thuringiensis* strains from soil in China and their pesticidal activities. *Biological Control*, 44(3): 380-388.
- Gingrich, R.E., 1987. Demonstration of *Bacillus thuringiensis* as a potential control for the adult Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wied.). *Journal of Applied Entomology*, 104(1-5): 378-385.
- Hodgman, T.C., Y. Ziniu, S. Ming, T. Sawyer, C.M. Nicholls & D.J. Ellar, 1993. Characterization of a *Bacillus thuringiensis* strain which is toxic to the housefly *Musca domestica*. *FEMS Microbiology Letters*, 114(1): 17-22.

- Höfte, H. & H.R. Whiteley, 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological Reviews*, 53(2): 242–255.
- Iriarte, J., M. Porcar, M. Lecadet & P. Caballero, 2000. Isolation and characterization of *Bacillus thuringiensis* strains from aquatic environments in Spain. *Current Microbiology*, 40(6): 402-408.
- Karamanlidou, G., A.F. Lambropoulos, S.I. Koliais, T. Manousis, D. Ellar & C. Kastritsis, 1991. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* to laboratory populations of the olive fruit fly (*Dacus oleae*). *Applied and Environmental Microbiology*, 57(8): 2277-2282.
- Kahyaoglu, M. & M.O. Gürkan, 2010. Akdeniz meyvesineği [*Ceratitidis capitata* Wiedemann, 1824 (Diptera: Tephritidae)] için yeni hazır yem formülasyonlarının geliştirilmesi. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 35 (3): 485-494.
- Li, Y. & J. Romeis, 2010. Bt maize expressing Cry3Bb1 does not harm the spider mite, *Tetranychus urticae*, or its ladybird beetle predator, *Stethorus punctillum*. *Biological Control*, 53(3): 337-344.
- MacIntosh, S.C., G.M. Kishore, F.J. Perlak, P.G. Marrone, T.B. Stone, S.R. Sims & R.L. Fuchs, 1990. Potentiation of *Bacillus thuringiensis* insecticidal activity by serine protease inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(4): 1145-1152.
- Martin, P.A.W. & R.S. Travers, 1989. Worldwide abundance and distribution of *Bacillus thuringiensis* isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(10): 2437-2442.
- Öncüer, C., 1997. Tarımsal Zararlılarla Biyolojik Savaş. Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları No:1, Aydın, 93s.
- Öncüer, C., 2004. Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları. Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları No:19, Aydın, 424s.
- Özsemerci, F. & T. Akşit, 2003. Aydın ili incir ağaçlarında zararlı *Ceroplastes rusci* L. (Homoptera: Coccidae)'nin bazı biyolojik özellikleri ve populasyon değişimi. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 27 (1) : 13- 25.
- Patel, K.D, F.C. Bhanshali & S.S. Ingle, 2011. Diversity and characterization of *Bacillus thuringiensis* isolates from alluvial soil of Mahi River Basin, India. *Journal of Advances in Developmental Research*, 2(1): 14-20.
- Polat, H.& İ. Kasap, 2011. Van ilinde üç farklı fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) çeşidi üzerinde ikinoktalı kırmızı örümcek, *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae)'nin popülasyon gelişimi. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 35 (1): 145-154.
- Robacker, D.C., A.J. Martinez, J.A. Garcia, M. Diaz & C. Romero, 1996. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* to Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*, 89(1): 104-110.
- Sanahuja, G., R. Banakar, R.M. Twyman, T. Capell & P. Christou, 2011. *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications. *Plant Biotechnology Journal*, 9(3): 283-300.
- Schnepf, E., N. Crickmore, J. Van Rie, D. Lereclus, J. Baum, J. Feitelson, D.R. Zeigler & D.H. Dean, 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3): 775–806.
- Seifinejad, A., G.R. Salehi Jouzani, A. Hosseinzadeh & C. Abdmishani, 2008. Characterization of Lepidoptera-active *cry* and *vip* genes in Iranian *Bacillus thuringiensis* strain collection. *Biological Control*, 44(2): 216-226.
- SPSS., SPSS Version 10.0. SPSS Inc, 223 S. Wacker Drive, Chicago, Illinois, 2001
- Thammasittirong, A. & T. Attathom, 2008. PCR-based method for the detection of *cry* genes in local isolates of *Bacillus thuringiensis* from Thailand. *Journal of Invertebrate Pathology*, 98(2): 121-126.
- Uribe, D., W. Martinez & J. Ceron, 2003. Distribution and diversity of *cry* genes in native strains of *Bacillus thuringiensis* obtained from different ecosystems from Colombia. *Journal of Invertebrate Pathology*, 82(2): 119-127
- Ünal, G. & M.O. Gürkan, 2001. İnekisitler Kimyasal Yapıları, Toksikolojileri ve Ekotoksikolojileri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Ankara, 159s.
- van Frankenhuyzen, K., 2009. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. *Journal of Invertebrate Pathology*, 101(1): 1-16.
- Van Rie, J., W.H. McGaughey, D.E. Johnson, B.D. Barnett & H. Van Mellaert, 1990. Mechanism of insect resistance to the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*. *Science*, 247: 72–74.

- Vidal-Quist, J.C., P. Castañera & J. González-Cabrera, 2009. Diversity of *Bacillus thuringiensis* strains isolated from citrus orchards in Spain and evaluation of their insecticidal activity against *Ceratitis capitata*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(8): 749-759.
- Vidal-Quist, J.C., P. Castañera & J. González-Cabrera, 2010. Cyt1Aa protein from *Bacillus thuringiensis* (Berliner) serovar israelensis is active against the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann). *Pest Management Science*, 66(9): 949-955.
- Walker, K., M. Mendelsohn, S. Matten, M. Alphin & D. Ave, 2003. "The Role of Microbial Bt Products in U.S. Crop Protection, 31-51". In: *Bacillus thuringiensis: A Cornerstone of Modern Agriculture* (Ed: M. Metz). Food Products Press, USA, 242pp.
- Wang, J., A. Boets, J. Van Rie & G. Ren, 2003. Characterization of *cry1*, *cry2* and *cry9* genes in *Bacillus thuringiensis* isolates from China. *Journal of Invertebrate Pathology*, 82(1): 63-71.
- Zümreoğlu, A., N. Tanaka & E.J. Haris, 1979. The need for wheat germ in larval diets of Medfly of non-nutritive bulking material. *Türkiye Bitki Koruma Dergisi*, 3(3): 131-138.

