

Orijinal araştırma (Original article)

Bazı biyopreparatların *Culiseta longiareolata* (Macquart) (Diptera: Culicidae) larvalarına etkinliğinin belirlenmesi¹

Aylin AYDIN^{1,2*} Enver DURMUŞOĞLU²

Determination of the efficacy of some biopreparations on *Culiseta longiareolata* (Macquart) (Diptera: Culicidae) larvae

Öz: Bu çalışma kapsamında sivrisinek larva mücadelesinde ruhsatlı bakteri içerikli iki biyosidal ürün ile Türkiye'den izole edilen üç yerel biyopreparatın, 2018 yılında Muğla ilinden toplanan *Culiseta longiareolata* (Macquart) (Diptera: Culicidae) larvalarına etkileri ve yerel izolatların sivrisinek mücadelesinde kullanım olanakları araştırılmıştır. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'ndeki iklim odalarında laboratuvar koşullarında geç üçüncü dönem *C. longiareolata* larvaları ile yapılan denemelerde *Bacillus sphaericus* içeren VectoLex WDG ve *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* içeren VectoBac 12 AS ticari biyopreparatlarının arazi dozu, arazi dozunun yarı ve çeyrek dozu, *B. sphaericus* ÖE1 izolatu içeren bir, *Bacillus thuringiensis* var. *kenyae* izolatu FDP-8 ve FDP-42 içeren iki yerel biyopreparatın %0.025-10'luk dozları ile çalışılmıştır. Sonuç olarak; ruhsatlı biyopreparatların önerilen arazi dozu yarısında, Türkiye'den izole edilen *B. sphaericus* içeren yerel biyopreparatın %0.2'lik dozunda *C. longiareolata* larvalarına karşı %100 etkili olduğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler: *Culiseta longiareolata*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, *Bacillus thuringiensis* var. *kenyae*, larvisit

Abstract: In this study, two licensed biocidal products containing bacteria for the control of mosquito larvae and three local bioproducts isolated in Turkey were investigated for their efficacy against *Culiseta longiareolata* larvae collected from Muğla, Turkey in 2018. The experiments were carried out in a climate control chamber at Ege University Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection. One local biopreparation containing *Bacillus sphaericus* ÖE-1 and two local biopreparations containing *Bacillus thuringiensis* var. *kenyae* FDP-8 and FDP-42, and VectoLex WDG (*B. sphaericus*) and VectoBac 12 AS (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*), were used at between 0.025% -10% concentration against late third stage larvae of *C. longiareolata* under laboratory conditions at the quarter, semi and field concentrations. Even at 0.2% concentration the local biopreparation containing *B. sphaericus* isolated in Turkey had 100% efficacy against *C. longiareolata* larvae, which was the same efficacy as for the half of the field concentration. of the two registered biopreparations.

Keywords: *Culiseta longiareolata*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, *Bacillus thuringiensis* var. *kenyae*, larvicide

¹ Bu çalışma ilk yazarın yüksek lisans tezinin bir bölümüdür

² Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, 35100, Bornova, İzmir

* Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: aydin.aylin@gmail.com

Alınış (Received): 01.03.2019 Kabul edilmiş (Accepted): 13.05.2019

Giriş

Dünya nüfusunun hızla artması ve küresel iklim değişikliğine bağlı olarak meydana gelen iklimsel değişiklikler, azalan kaynaklar, ağaçların yok edilmesi, sağlıksız kentleşme, zararlıların ilaçlara karşı direnç gelişmesi, patojenlerin genetik yapılarındaki değişiklikler, gibi nedenler dolayı bozulan doğal denge, birçok bulaşıcı hastalık etmeninin insan ve hayvanlar arasında yayılmasına uygun ortamlar hazırlamıştır (Alten & Çağlar, 2001; İnci & Düzlü, 2009). Bu sebeplerden dolayı vektörler ve vektörlerle bulaşan hastalıklar tekrar önem kazanmaya başlamıştır (Alten & Çağlar, 2001; İnci & Düzlü, 2009). Dünya üzerinde kutuplar hariç her anakarada, hemen hemen tüm zoocoğrafik bölgelerde bulunan sivrisinekler bulaşıcı hastalıklara aracılık eden canlılar arasında biyolojik potansiyelleri en yüksek olan vektörlerdir (Alten & Çağlar, 2001). Sivrisinekler, Diptera takımının, Nematocera alt takımı içerisinde 38 cins altında 3357 tür ve alt tür ile temsil edilirler (Alten & Çağlar, 2001; Fauna Europea, 2018).

Sivrisineklerle mücadelede, sivrisineklerin sorun oluşturduğu bölgelerde yaşayan insan topluluklarının sivrisineklerin biyolojisi, ekolojisi, davranış özellikleri, vektörlük kapasiteleri ve oluşturdukları hastalıkların epidemiyolojisi hakkında eğitilmesini ve bilinçlendirilmesi gibi kültürel mücadele, bataklık-sazlık alanlarda arazinin tesviyesi, drenaj kanallarının açılması gibi çevre düzenleme yöntemleri kullanılmaktadır. Ayrıca, biyoteknik mücadele yöntemlerinden biri olan steril böcek salım tekniği, sivrisinek larva ve pupaları ile beslenen avcı balık, kurbağa, semender ve predatör böceklerin doğada korunması ve popülasyonlarının artırılması şeklinde gerçekleştirilen biyolojik mücadele yöntemleri de mücadelede kullanılmaktadır. Bu mücadele yöntemleri her ne kadar kullanılsa da sivrisineklerle mücadelenin temelini yine de kimyasal mücadele oluşturmaktadır (Yıldırım, 2009; Şimşek & Günay, 2017, Çetin; 2018).

Sivrisineklerle kimyasal mücadelede hedef larvalar olup petrol türevi yağlar ve mineral yağlar geçmişte mücadelede kullanılan başlıca larvisitler olmuştur (Çetin, 2018; Durmuşoğlu, 2018). Bunların yanı sıra diflubenzuron, novaluron gibi kitin sentezi inhibitörleri ve pyriproxyfen gibi juvenil hormon analogları günümüzde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Çetin, 2018; Durmuşoğlu, 2018). Yapılan larvisit uygulamalarının yetersiz kaldığı durumlarda ULV (soğuk sisleme) ve TF (sıcak sisleme) tekniği ile erginlere karşı mücadele yapılmaktadır (Çetin, 2018; Durmuşoğlu, 2018). Larvisitlerde ise, aktif madde ve formülasyon tipine karar verilirken uygulama yapılacak olan alanın özellikleri son derece önemlidir. İçinde kirli su bulunan logar ve kanalizasyon gibi alanlarda hacim ilaçlaması yapıldığı için suyun derinliğine göre doz ayarlanmalı ve dibe çökebilen briket veya granül formülasyonlu diflubenzuron, spinosad gibi aktif maddeleri içeren biyosidal ürünler kullanılmaktadır (Durmuşoğlu, 2018). Birçok araştırmacı içinde temiz su bulunan havuz, su kuyusu gibi alanlar da ise alan ilaçlaması ve bakteri içerikli biyosidal ürünlerin kullanılması gerektiğini bildirmiştir (Durmuşoğlu, 2018). Yüzey alanın belli ama su miktarının değişken olduğu yerlerde suyun yüzey

Bazı biyopreparatların *Culiseta longiareolata* larvalarına etkinliğinin belirlenmesi
gerilimini azaltıp, larva ve pupaların yüzeyde askıda kalmalarını engelleyen, fiziksel etki gösteren organik silikon esaslı ürünler (Polydimethyl-siloxane) tercih edilmesi gerektiği belirtilmiştir (Durmuşoğlu, 2018).

Zararlılarla mücadelede sentetik insektisitlerin bilinçsizce kullanımı sonucunda kimyasal insektisitlerin insan ve çevreye olumsuz etkilerinde artış, zararlıların insektisitlere direnç geliştirmesi gibi sorunların ortaya çıkması çeşitli çalışmalar ile ortaya konmuştur (Güncan & Durmuşoğlu, 2004). Bu sorunların ortadan kaldırılması veya azaltılması amacıyla, alternatif yöntem veya ürünler aranmaya başlanmış ve son yıllarda biyoinsektisitlerle ilgili çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir (Güncan & Durmuşoğlu, 2004). Yapılan çalışmalar sonucunda sivrisinekle mücadelede *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* ve *Bacillus sphaericus* bakterilerinin biyoinsektisit olarak kullanılabilceği fark edilmiştir (Seleena et al, 1996).

Entomopatojen bakterilerin keşfi 1911'de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) ile başlamış, ilk uygulamalar ise 1930'ların başında yapılmıştır. Entomopatojen bakteri içeren biyopreparatların sivrisinek larvalarında öldürücü etkiye neden olmaları için bu bakterilerin sporlarının veya parasporal kristallerinin larva tarafından ağız yoluyla alınıp sindirilmesi gerektiği bildirilmiştir (Glare & O-Callaghan, 1998). İnsektisidal kristal proteinler normal koşullar altında çözünmeden bulunduğu için insanlarda ve diğer yüksek organizma gruplarında risk oluşturmazlar (Demirdağ et al, 2008). Buldukları ortamın pH'sı 9,5'in üzerinde olduğu durumlarda çözünebilir insektisidal kristal proteinler sivrisinek larvasının alkali midesinde proteolitik aktivasyonu sonucunda spesifik proteazlar tarafından çözünmektedirler (Bravo et al, 2007). Bağırsakta proteolitik aktivasyonu sonucunda insektisidal kristal proteinleri protoksine dönüşür (Glare & O-Callaghan, 1998, Demirdağ et al, 2008). Bağırsak enzimleri tarafından parçalanan protoksinlerden aktif toksinler ortaya çıkar. Bağırsak epitel hücrelerindeki reseptörlere tutunan aktif toksinler, böceğin bağırsak duvarını tahrip eder ve bağırsak duvarında gözenekler oluşur. Bağırsakta bulunan besin artıkları bu gözenekler aracılığıyla böceğin vücuduna ve kanına karışır ve kan zehirlenmesi sonucunda ölüm gözlenmektedir (Demirbağ et al, 2008).

Yapılan literatür taraması sonucunda, biyopreparatların sivrisineklere etkisi ile ilgili Dünya'da ve Türkiye'de bugüne kadar yapılan çalışmaların büyük bir çoğunluğu *Culex*, *Anopheles* ve *Aedes* cinslerine bağlı sivrisinek türleri ile yürütülmüştür (Lacey et al, 1985; Berry et al, 1987; Çökmüş, 1989; Baruah & Das, 1994; Katbeh-Bader et al, 1999; Misra et al, 2002; Ansari & Razdan, 1999; Lee et al, 2006; Aldemir, 2006; Boudjelida et al, 2008; Doğaroğlu, 2008; İmanzade, 2008; Gezelbash et al, 2012; Aissaoui & Boudjelid, 2014; Polat et al, 2016). Ayrıca, Durmuşoğlu & Güz (2018) yaptıkları çalışmada Muğla ili genelinde 2016 yılında en yaygın sivrisinek türünün *Culex pipiens* L (Diptera: Culicidae) ve ikinci yaygın sivrisinek türünün *Culiseta longiareolata* (Macquart) (Diptera: Culicidae) olduğunu tespit etmişlerdir. Bu verilerden hareketle bu çalışma kapsamında gerek yaygınlığı ve gerekse üzerinde az çalışma yapılmış olması nedeniyle, Türkiye'de

ruhsatlı bakteri içerikli iki biyosidal ürün ile Türkiye'den izole edilen üç yerel bakteri izolatının *C. longiareolata* larvalarına etkileri farklı dozlarda denenmiş ve pratikte kullanım olanakları laboratuvar koşullarında yapılan denemeler ile ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Denemeler, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'ndeki iklim odalarında $27\pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklık, 70 ± 5 orantılı nem ve 12:12 saat fotoperiyot koşullarında gerçekleştirilmiştir. 2018 yılında Muğla ilinin çeşitli ilçelerinde bulunan hayvan çiftliklerindeki arıtma havuzlarından, süs havuzlarından ve şehir merkezinde bulunan çeşitli su birikintilerinden toplanan yumurta paketleri kullanılarak sivrisinek kültürleri oluşturulmuştur. Araziden getirilen yumurta paketleri, içinde en az iki gün dinlendirilmiş musluk suyu bulunan plastik kaplara ($18\times 12\times 8$) aktarılmıştır. Daha sonra, yumurtadan çıkan larvalar, yine içinde dinlendirilmiş su bulunan aynı boyutlardaki yeni kaplara aktarılmıştır (Durmuşoğlu et al, 2018). Kaplardaki su larvalar pupa dönemine gelinceye kadar iki günde bir dinlendirilmiş su ile değiştirilmiş ve her değişiminden sonra kaplara yeni besin eklenmiştir. Larvalara besin olarak iki günde bir piliç ciğeri verilmiştir. Teşhis edilmek üzere, üçüncü larva dönemine gelen her bir yumurta paketinden 10 kadar larva, içinde %96'lık alkol bulunan Eppendorf tüplere aktarılarak Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi bünyesindeki MOLEN laboratuvarlarına gönderilmiştir (Güz & Kılınçer, 2012).

Kaplarda pupalar görülmeye başladığı zaman erginlerin kaçmasını önlemek için, kapların üstü tül ile örtülmüştür. Aspiratör yardımıyla toplanan erginler $30\times 20\times 25$ cm boyutlarındaki yetiştirme kafeslerine aktarılmıştır. Erginlerin besin ihtiyacını karşılamak için ilk günden itibaren %10'luk şekerli su ve dişilerin yumurta bırakmasını sağlamak için de dördüncü günden itibaren kanla besleme aparatıyla büyükbaş hayvan kanı, tavuk kanı ve insan kanı verilmiştir. Her gün bireyler 1 saat loş ışıkta, 1 saat de karanlıkta olmak üzere 2 saat kan ile beslenmiştir. Bireylerin kan ile beslendiği görüldükten 1-3 gün sonra dişilerin yumurta bırakması için yetiştirme kafeslerine içi su dolu petri kapları konulmuş ve kaplarda yumurta paketleri görüldüğünde, bunlar alınarak larva yetiştirme kaplarına aktarılmıştır. Ancak, laboratuvarında kitle üretimi yapılan popülasyonların farklı kaynaklardan elde edilen kanlarla bile yeterince beslenmediği fark edilmiş ve bunun sonucunda da, ya az yumurta bırakmış ya bırakılan yumurta paketinden genelde çok az larva elde edilmiştir. Laboratuvarında üretiminden yeterli yumurta ve/veya larva elde edilemediğinden, denemelerde her defasında araziden getirilen yumurtalardan sadece *C. longiareolata* olarak teşhis edilen larvalar kullanılmıştır. Bir yumurta paketinden 100-150 arasında larva elde edildiğinden %10-95 arasında ölüm meydana getiren tüm dozların tek bir yumurta paketinden elde edilen larvalar ile yürütülmesi mümkün olmadığı için denemeler genelde 3-4 doz ve 1 kontrol olacak şekilde düzenlenmiştir. Denemede kullanılan biyopreparatlara ait bilgiler Çizelge 1'de verilmiştir.

Bazı biyopreparatların *Culiseta longiareolata* larvalarına etkinliğinin belirlenmesi
Çizelge 1. Laboratuvar koşullarında *Culiseta longiareolata*'ya karşı etkinliği denenmiş bazı biyopreparatlar

Table 1. Laboratory evaluation of some biopreparats tested against *Culiseta longiareolata*

Ticari adı	Bakterinin			Arazi dozu
	Adı	İrki	İçeriği	
VectoLex WDG	<i>Bacillus sphaericus</i> 2362 Serotype H5a5b.	ABTS-1743	650 ITU/mg	200 g/ha
VectoBac 12 AS	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>isralensis</i> Serotype H-14.	AM65-52	1200 ITU/mg	500 ml/ha
Yerel 1	<i>Bacillus sphaericus</i>	ÖE-1	1x10 ⁸ cfu/ml	-
Yerel 2	<i>Bacillus thuringiensis kenyae</i>	FDP-8	1x10 ⁸ cfu/ml	-
Yerel 3	<i>Bacillus thuringiensis kenyae</i>	FDP-42	1x10 ⁸ cfu/ml	-

* ITU: International Toxic Units, CFU: Colony Forming Units

Ticari biyopreparatların LC değerlerinin belirlenmesi için önerildikleri doz (x) en üst doz olacak şekilde en az altı farklı konsantrasyon hazırlanmıştır (x, x/2, x/4, x/10, x/20, x/40). Yerel biyopreparatlardan, *Bt. kenyae* izolatu ülkemizin Doğu Anadolu Bölgesi'nden olmak üzere FDP-8 *Hypera postica* Gyll. (Coleoptera: Curculionidae) larvalarından, FDP-42 *Apion* spp. (Coleoptera: Curculionidae) erginlerinden izole edilmiştir (Tozlu et al, 2011). *B. sphaericus* ÖE-1 izolatu ise Erzurum'dan *Bombus* spp. (Hymenoptera: Bombus)'den izole edilmiş ve Prof. Dr. Recep KOTAN (Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Erzurum) tarafından preparat haline getirilerek tarafımıza temin edilmiştir (Dadaşoğlu, 2007). Yerel biyopreparatlar henüz ticari bir formülasyonda olmadığı için dozları %1-10 olarak ayarlanmış, alınan sonuçlara göre yeni doz serileri hazırlanmıştır. Her bir doz için beşer bireyli 5 tekerrürlü denemeler yapılmış ve bu denemeler iki kez tekrar edilmiştir. Sonuç olarak toplamda her doz için en az 50 birey kullanılmıştır. Preparatlarla hazırlanan solüsyonlar 250 ml'lik şeffaf plastik kaplara 10 cm yükseklikte 200 ml ilaçlı su olacak şekilde konulmuş, üzerine beşer larva aktarılmıştır. Deneme kaplarına da, rutinde olduğu gibi besin olarak piliç ciğeri verilmiştir.

Sayımlar uygulamadan 24 saat sonra gerçekleştirilmiş ve ölmek üzere olan, karakteristik dalma hareketini yapamayan larvalar ölü olarak kabul edilmiştir. Kontroldeki ölümler %10'dan fazla olduğu durumlarda denemeler tekrar edilmiştir (WHO, 2015). İlaçların etki oranlarının hesaplanmasında ise Abbott formülü kullanılmıştır. LC₅₀ ve LC₉₀ değerlerinin hesaplanması için doza bağlı ölü birey sayıları kullanılarak elde edilen veriler PoloPlus (LeOra Software Company®, 2002) programında değerlendirilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Bacillus sphaericus içeren VectoLex WDG preparatının önerilen arazi dozu alana göre olduğu için birim alandaki su yüksekliğinin 10 cm olduğu esas alınarak konsantrasyona çevrilmiş ve arazi dozu 0.2 ppm olarak hesaplanmıştır.

Denemelerde arazi dozunun 40 kat (0.005 ppm) altındaki dozda bile etki %100 çıktığı için denemelere 0.0005-0.005 ppm aralığındaki beş dozla devam edilmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. VectoLex WDG (*Bacillus sphaericus*) preparatının farklı dozlarda *Culiseta longiareolata* 'ya etkisi (n=50)

Table 2. Effect of VectoLex WDG (*Bacillus sphaericus*) preparation on different doses of *Culiseta longiareolata* (n=50)

VectoLex WDG			
	Dozlar (ppm)	Ölü birey sayısı	%Etki
1. Seri Dozlar	0.200	50	100
	0.100	50	100
	0.050	50	100
	0.020	50	100
	0.010	50	100
*	0.005	50	100
2. Seri Dozlar	0.004	50	100
	0.002	50	100
	0.001	17	30
	0.0005	0	0
	Kontrol	3	6

*Yıldızın bulunduğu iki çizgi arasında kalan doz hem birinci hem de ikinci denemelerde kullanılmıştır.

Başlangıç toksisite değerini belirlemek amacıyla yapılan bu denemelerde 0.002 ppm dozunda tüm bireylerin öldüğü gözlenirken bu dozun çeyreğinde (0.005 ppm) ise hiç ölüm gözlemlenmemiştir. Tekrar edilen denemelerde de ya tüm bireyler ölmüş ya da tümü canlı kalmıştır. LC değerlerinin hesaplanabilmesi için %10 ile %90 arasında ölüm elde edilecek beş farklı dozun olması gerektiğinden dolayı yapılan probit analizinde güvenilir bir LC değerleri elde edilememiştir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara benzer şekilde Doğaroğlu (2008)'da söz konusu bu preparatın arazi dozunun (0.2 ppm) *C. longiareolata* larvalarında %100 etkili olduğunu bildirilmektedir. Polat et al (2016) tarafından yapılan bir başka denemede ise, söz konusu preparatın arazi dozunun uygulanmasından bir saat sonra *Culex pipiens* larvalarında %8, altı saat sonra ise %100 ölüm gözlemlendiği bildirilmiştir.

Bacillus thuringiensis var. *israelensis* içeren VectoBac 12 AS preparatının önerilen arazi dozu (0.5 ppm) ve bunun yarı (0.250 ppm) dozunda etki %100 çıktığı için denemelere 0.006-0.125 ppm aralığındaki beş dozla devam edilmiştir (Çizelge 3).

Bazı biyopreparatların *Culiseta longiareolata* larvalarına etkinliğinin belirlenmesi

Çizelge 3. VectoBac 12 AS (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) preparatının farklı dozlarda *Culiseta longiareolata*'ya etkisi (n=50)

Table 3. Effect of VectoBac 12 AS (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) preparation on different doses of *Culiseta longiareolata* (n=50)

VectoBac 12 AS			
	Dozlar (ppm)	Ölü birey sayısı	%Etki
1. Seri Dozlar	0.500	50	100
	0.250	50	100
	0.125	48	96
*	0.050	43	86
2. Seri Dozlar	0.025	23	46
	0.012	14	28
	0.006	4	8
	Kontrol	0	0

*Yıldızın bulunduğu iki çizgi arasında kalan doz hem birinci hem de ikinci denemede kullanılmıştır

Çizelge 4'de görüleceği gibi yapılan probit analizinde %95 güven aralığında VectoBac 12 AS preparatının LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri sırasıyla 0.024 ve 0.069 ppm olarak bulunmuştur.

Çizelge 4 VectoBac 12 AS (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) preparatı için *Culiseta longiareolata* larvalarında belirlenen lethal dozlar

Table 4. Lethal doses in *Culiseta longiareolata* larvae for the preparation of VectoBac 12 AS (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*)

LC ₅₀ (ppm) 0.95 güven aralığı	LC ₉₀ (ppm) 0.95 güven aralığı	Chi square	Heterojenite
0.024	0.069	5.9308	1.4827
0.018-0.032	0.048-0.134		

Aynı tür üzerinde aynı bakterinin (*Bt.* var. *israelensis*) farklı bir izolatını içeren başka bir biyopreparat [(VectoBac WDG (3000 ITU)] kullanılarak Boudjelida et al (2008) tarafından yapılan çalışmada 0,025 ve 0,0125 ppm dozlarda sırasıyla yaklaşık %50 ve %20 ölüm gözlemlendiği bildirilmiş ve %95 güven aralığında LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri sırasıyla 0.025 ve 0.048 ppm olarak bulunmuştur. Bu çalışmada kullanılan biyopreparatın (VectoBac 12 AS) kullanıldığı ancak farklı bir tür üzerinde yürütülen çalışmada, preparatının arazi dozunun uygulanmasından altı saat sonra *Culex pipiens* larvalarında %100 ölüm gözlemlendiği bildirilmiştir (Polat et al, 2016). VectoBac AS (1200 ITU) preparatı kullanılarak yapılan diğer bir çalışmada ise *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae)'un %95 güven aralığında LC₅₀ değeri 0.046 ppm olarak hesaplanmıştır (Amalraj et al, 2000). *Culex pipiens* larvalarına karşı VectoBac 12 AS preparatı kullanılarak yapılan diğer bir denemede habitat suyu ve saf su kullanılmıştır. Yapılan denemeler sonucunda LC₅₀ değerleri sırasıyla 0.0953 ve 0.0626 ppm olarak hesaplanmıştır (İmanzade, 2008). Bu çalışma sonucunda elde edilen değerler yapılan diğer çalışmalarla (Amalraj et al, 2000; Boudjelida et al, 2008; İmanzade, 2008) büyük oranda

benzerlik göstermektedir. Bazı değerler arasındaki farkın, preparatların farklı ITU miktarları içermelerinden ve farklı formülasyonda olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bacillus sphaericus içeren yerel biyopreparatın %10 ve bunun 20 kat (%0.5) altındaki dozda bile etki %100 çıktığı için denemelere %0.025-0.5 aralığındaki beş dozla devam edilmiştir (Çizelge 5).

Çizelge 5. Yerel 1 (*Bacillus sphaericus*) preparatının farklı dozlarda *Culiseta longiareolata*'ya etkisi (n=50)

Table 5. Effect of Lokal 1 (*Bacillus sphaericus*) preparation on different doses of *Culiseta longiareolata* (n=50)

Yerel 1			
	Dozlar (%)	Ölü birey sayısı	%Etki
1. Seri Dozlar	10	50	100
	5	50	100
	2	50	100
	1	50	100
*	0.5	50	100
2. Seri Dozlar	0.2	50	100
	0.1	36	72
	0.05	31	62
	0.025	16	32
	Kontrol	2	4

*Yıldızın bulunduğu iki çizgi arasında kalan doz hem birinci hem de ikinci denemede kullanılmıştır.

Çizelge 6'da görüleceği gibi yapılan probit analizinde %95 güven aralığında Yerel 1 biyopreparatının LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri sırasıyla 0.043 ve 0.138 ppm olarak bulunmuştur.

Çizelge 6 Yerel 1 (*Bacillus sphaericus*) preparatı için *Culiseta longiareolata* larvalarında belirlenen lethal dozlar

Table 6. Lethal doses in *Culiseta longiareolata* larvae for the preparation of Lokal 1 (*Bacillus sphaericus*)

LC ₅₀ (%)	LC ₉₀ (%)	χ^2	Heterojenite
0.95 güven aralığı	0.95 güven aralığı		
0.043	0.138	7.1173	1.7793
0.027-0.061	0.090-0.348		

Bacillus thuringiensis var. *kenyae* içeren Yerel 2 ve Yerel 3 biyopreparatlarının %1-10'luk konsantrasyonları ile yapılan denemelerde *C. longiareolata* larvalarında öldürücü etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir. Bu biyopreparatların %20'lik dozları ile deneme yapıldığında bile öldürücü etki görülmediği için pratikte kullanılmasının anlamı olmayacağı nedeniyle daha yüksek dozlarla denemelere devam edilmemiştir. Bilindiği gibi bakterilerin farklı ırklarının aynı hedefte bile farklı oranda biyolojik etkinlik göstermesi doğal bir durumdur.

Sonuç

Türkiye’de biyopreparatların sentetik pestisitlere oranla daha pahalı olması ve ruhsatlı biyopreparatların neredeyse tamamının ithal ürünler olması nedeniyle önemli döviz çıkışına neden olmaktadır. Bu bağlamda zararlılarla mücadelede yerel izolatlardan elde edilecek yerli biyopreparatların geliştirilmesi ve pratiğe aktarılması oldukça anlamlı olacaktır. Bu nedenle çalışma kapsamında Türkiye’de ruhsatlı bakteri içerikli iki biyosidal ürün ile Türkiye’den izole edilen üç yerel bakteri izolatının *C. longiareolata* larvalarına etkileri farklı dozlarda denenmiş ve pratikte kullanım olanakları laboratuvar koşullarında ortaya konulmaya çalışılmıştır. Sonuç olarak; Ruhsatlı preparatların önerilen arazi dozlarında ve arazi dozlarının yarısında *C. longiareolata*’ya karşı laboratuvar koşullarında %100 etkili olduğu ve Türkiye’den izole edilen *B. sphaericus* içeren yerel izolatın laboratuvar koşullarında yüksek etkili olduğu görülmüştür. Söz konusu izolatın farklı formülasyonlarda üretilip biyolojik etkinlik testlerinin arazi koşullarında denemesi gerekmektedir. Ticari preparatların her ne kadar düşük dozlarda etkili olabileceğine dair bulgular olsa da, preparatların laboratuvar denemelerinde temiz su koşullarında kullanıldığı, kirli su kaynakları ve arazi koşullarında etkinliğin daha düşük çıkabilme olasılığı nedeniyle, arazi koşullarında önerildikleri dozlarda kullanılmaları gerektiği unutulmamalıdır.

Teşekkür

Sivrisinek türlerinin larvalardan teşhisini moleküler çalışmalarla yapan Sayın Doç. Dr. Nurper GÜZ’e, yerel izolatları temin ettiğimiz Sayın Prof. Dr. Recep KOTAN’a, bakteri içerikli biyosidal ürünleri temin ettiğimiz İzmir Büyükşehir Belediyesi ve Muğla Büyükşehir Belediyesi Başkanlığı’nın ilgili birimlerine, çalışmada kullanılan bazı materyallerin ve araziden getirilen yumurta paketlerinin temin edilmesini sağlayan, Roksan İlaç San. Tic. Ltd. Şti. ve Çevre İlaç Makina San. Tic. Ltd. Şti.’ne teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Aissaoui, L. & H. Boudjelida, 2014. Larvicidal activity and influence of *Bacillus thuringiensis* (Vectobac G), on longevity and fecundity of mosquito species. *European Journal of Experimental Biology*, 4(1): 104-109.
- Al-Jaran, T.K.H. & A.M. Katbeh-Bader, 2001. Laboratory Studies on the Biology of *Culiseta longiareolata* (Macquart) (Diptera: Culicidae). *Aquatic Insects*, 23 (1): 11-22.
- Alten, B. & S.S. Çağlar, 2001. Vektör Ekolojisi ve Mücadelesi. Sağlık Bakanlığı, Ankara, 238 s.
- Amalraj, D., S.S. Sahu, P. Jambulingam, P.S. Boopathi-Doss, M. Kalyanosundaram & P. K. Dass, 2000. Efficacy of aqueous suspension and granular formulations of *Bacillus thuringiensis* (Vectobac) against mosquito vectors. *Acta Tropica*, 75: 243-246.

- Türk. Biyo. Mücadele Derg. Aydın & Durmuşoğlu, 2019 10 (1):61-71
- Ansari, M.A. & R.K. Razdan, 1999. Laboratory and field evaluation of *Bacillus thuringiensis* H-14 (Bt .H-14) granule formulation against *Aedes aegypti* in Delhi, India. *Dengue Bulletin*, 23: 94-98.
- Baruah, I. & S.C. Das, 1994. Laboratory and field evaluation of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus sphaericus* against mosquito larvae. *The Journal of Communicable Diseases*, 26 (2): 82-87.
- Becker, N., D. Petric, M. Zgomba, C. Boase, C. Dahl, M. Madon & A. Kaiser, 2010. Mosquitoes and Their Control. Spinger, Berlin, 551 p.
- Berry J.W., G.M. Novak S. Khounlo, A.W. Rowley & L.G. Melchior, 1987. Efficacy of *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* for control of *Culex pipiens* and floodwater *Aedes* larvae in Iowa. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 3(4): 579-582.
- Boudjelida, H., L. Aissaoui, A. Bouaziz, G. Smagghe & N. Soltani, 2008. Laboratory evaluation of *Bacillus thuringiensis* (Vectobac WDG) against mosquito larvae, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 73(3): 603-609.
- Bravo, A., S.S. Gill & M. Soberon, 2007. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Elsevier Toxicol*, 49: 423-435.
- Çetin, H., 2018. Sivrisineklerin Biyolojileri, Ekolojileri, Mücadeleleri, s 105-113. Biyosidal Uygulamalarında Mesul Müdürlük Eğitimi Ders Notları. (Ed. İ. Şencan). TC. Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Çevre Sağlığı Daire Başkanlığı, 286 s.
- Çökmüş, C., 1989. *Bacillus sphaericus*'un sivrisineklere etkisi üzerine bir araştırma. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, 74 s.
- Dadaşoğlu, F., 2007. Sera ve tarla zararlılarına karşı etkili biyoajan bakteri strainlerinin izolasyonu ve tanısı. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Bitki Koruma Anabilim Dalı, 92 s.
- Demirbağ, Z., R. Nalçacıoğlu, H. Katı, İ. Demir, K. Sezen & Ö. Ertürk, 2008. Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele. Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon, 325 s.
- Doğaroğlu, T., 2008. *Culiseta longiareolata* (Macquart, 1838) ve *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) larvalarına karşı *Bacillus sphaericus* ve *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*'in etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, 50s.
- Durmuşoğlu, E., 2015. Kent zararlıları ile etkili bir mücadele için Muğla ili mücavir alanında yapılan arazi çalışması ve öneriler. Entegre Vektör Mücadele Hizmeti (Ed. H. Koç, Ü. Paşalı & B. Kallem). Demircioğlu Matbaacılık. Ankara. 366 s.
- Durmuşoğlu, E. & N. Güz, 2018. Muğla ili büyükşehir mücavir alanlarında sivrisinek türlerinin üreme alanları ve mevsimsel değişikliklere göre belirlenmesi. Entegre Vektör Mücadele Hizmeti (Ed. H. Koç, Ü. Paşalı & B. Kallem). Demircioğlu Matbaacılık. Ankara. 366 s.
- Durmuşoğlu, E., A. Aydın & E. Palaoğlu, 2018. Muğla ilinde *Culex pipiens* ve *Culiseta longiareolata* popülasyonlarının larvisitlere duyarlılık düzeyinin belirlenmesi. Entegre Vektör Mücadele Hizmeti (Ed. H. Koç, Ü. Paşalı & B. Kallem). Demircioğlu Matbaacılık. Ankara. 366 s.
- Fauna Europea, URL: <https://fauna-eu.org/>. (Erişim Tarihi: 20 Mayıs 2018).
- Gezelbash, Z., H. Vatandoost, M.R. Abai, A. Raeisi, Y. Rassi, A.A. Hanafi-Bojd, H. Jabbari & F. Nikpoor, 2012. Laboratory and field evaluation of two formulations of *Bacillus thuringiensis* M-H-14 against mosquito larvae in the Islamic Republic of Iran. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 20 (4): 229-235.

Bazı biyopreparatların *Culiseta longiareolata* larvalarına etkinliğinin belirlenmesi

- Glare, T.R. & M.O. Callaghan, 1998. Environmental and Health Impacts of *Bacillus thuringiensis israelensis*. Report for the Ministry of Health, Biocontrol and Biodiversity, Grasslands Division, Lincoln, 58 pp.
- Güncan, A. & E. Durmuşoğlu, 2004. Bitkisel kökenli doğal insektisitler üzerine bir değerlendirme. *Hasad*, 233:26-32.
- Güz, N. & N. Kılınçer, 2012. Böcek sistematğinde moleküler markörlerin kullanımı. *Türkiye Entomolojisi Bülteni*, 2 (2): 125-145.
- İmanzade, Z., 2008. KKTC'de görülen sivrisineklerin erişkinlerine karşı kullanılan sentetik piretroidlerin sahada, biyolojik larvasitlerin (*Bti- Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) *Culex pipiens* larvalarına karşı laboratuvarında etkinliklerinin incelenmesi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 141 s.
- İnci, A. & Ö. Düzlü, 2009. Vektörler ve Vektörlerle Bulaşan Hastalıklar. *Erciyes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 6: 54-63.
- Katbeh-Bader, A., H. Khyami-Horani & Z.H. Mohsen, 1999. Effect of temperature on the susceptibility of *Culiseta longiareolata* (Macquart) (Dipt., Culicidae) to two standard strains of biocontrol bacteria. *Journal of Applied Entomology*, 123: 629-631.
- Koul, O. & G.S. Dhaliwal, 2002. Microbial Biopesticides. Taylor and Francis, London, 330 pp.
- Lacey, L.A. & A. Inman, 1995. Efficacy of granular formulations of *Bacillus thuringiensis* (H- 14) for the control of *Anopheles* larvae in rice fields. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1(1): 38-42.
- Lee, Y.W. & J. Zairi, 2006. Field evaluation of *Bacillus thuringiensis* H-14 against *Aedes* mosquitoes. *Tropical Biomedicine*, 23(1): 37-44.
- Misra H.S., N. P. Khairnar, M. Mathur, N. Vijayalakshmi, R.S Hire, T. K. Dongre & S.K. Mahajan, 2002. Cloning and characterization of an insecticidal crystal protein gene from *Bacillus thuringiensis* subspecies *kenyae*. *Journal of Genetics*, 81: 5-11.
- Polat, E., S.M. Altinkum, F. Yılmaz, S. Turan-Uzuntaş & Y. Bağdatlı, 2016. İstanbul'un sivrisinek faunası ve *Culex pipiens* larvalarının *Bacillus* cinsi bakterilere karşı duyarlılığı. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 73(2): 149-156.
- Seleena, P., H.L. Lee, W.A. Nazni, A. Rohani & M.S. Kadri, 1996. Microdroplet Mosquitocidal *Bacillus thuringiensis* Using Ultra-Low Wolume Generator For the Control of Mosquitoes. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 27(3): 628-632.
- Şimşek, F. M. & F. Günay, 2017. Sivrisinekler (Diptera: Culicidae) vektörlükleri ve mücadelesi. Vektör Artropadlar ve Mücadelesi. (Ed. Y. Özbel). Türkiye Parazitoloji Derneği, İzmir, 517 s.
- Tozlu, E., F. Dadaşoğlu, R. Kotan & G. Tozlu, 2011. İnsektisidal effect of some bacteria on *Bruchus dentipes* Baudi (Coleoptera: Bruchidae). *Fresenius Environmental Bulletin*, 918-923.
- WHO, 2015. Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides. 36.
- Yıldırım, E., 2009. Kentsel Entomoloji. Yavuzlar Matbaası, Dışkapı, Ankara, 115 s.