

T.C.
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAPADOKYA BÖLGESİ, NEVŞEHİR İLİ VE ÇEVRESİ
Leptinotarsa decemlineata SAY, 1824 (INSECTA:
COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE) TÜRÜNÜN
ANTİBAKTERİYEL VE ANTİOKSİDAN
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Tezi Hazırlayan
Noor ul SABA

Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Aysel KEKİLLİOĞLU

Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Ağustos 2023

T.C.
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAPADOKYA BÖLGESİ, NEVŞEHİR İLİ VE ÇEVRESİ
Leptinotarsa decemlineata SAY, 1824 (INSECTA:
COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE) TÜRÜNÜN
ANTİBAKTERİYEL VE ANTİOKSİDAN
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Tezi Hazırlayan
Noor ul SABA

Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Aysel KEKİLLİOĞLU

Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Ağustos 2023

Dr. Öğr. Üyesi Aysel KEKİLLİOĞLU danışmanlığında Noor ul SABA tarafından hazırlanan “**Kapadokya Bölgesi, Nevşehir İli ve Çevresi *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824 (Insecta: Coleoptera: Chrysomelidae) Türünün Antibakteriyel ve Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması**” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

11/08/2023

JÜRİ

Başkan : Prof. Dr. Gülten ÖKMEN

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Aysel KEKİLLİOĞLU

Üye : Doç. Dr. Recep KARA

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun.....tarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..../..../2023

Doç. Dr. Cemal ÇARBOĞA
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİM SAYFASI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada yer alan bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu ve bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Noor ul SABA



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenim ve tez çalışmam boyunca her konuda, tez çalışmamın planlanmasında, yürütülmesinde ve sonuçlandırılmasında hoşgörüsünü, ilgisini, hem maddi hem manevi desteğini esirgemeyen, her zamanengin bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, kendimi yetiştirmem ve ilerde yapabileceklerim konusunda bana çok şey katan çok kıymetli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Aysel KEKİLLİOĞLU'na, tez çalışmasının deneysel aşamalarını tamamlamamda destek aldığım ve laboratuvarını kullandığım, Prof. Dr. Gülten ÖKMEN'e, akademik hayatıma katkılardan dolayı tüm hocalarıma, çalışmalarım boyunca yanımda olan birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Tüm yaşamımda beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan her daim yanımda hissettiğim, beni bugünlere getiren, her zaman bana olan sevgileri ve inançlarıyla beni hayata bağlayan çok değerli annem ve babama sonsuz teşekkür ederim.

KAPADOKYA BÖLGESİ, NEVŞEHİR İLİ VE ÇEVRESİ *Leptinotarsa decemlineata* SAY, 1824 (INSECTA: COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE) TÜRÜNÜN ANTİBAKTERİYEL VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Noor ul SABA

**NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Ağustos 2023

ÖZET

İlaça dirençli bakteri türlerinin artması nedeniyle yeni ve etkili antimikrobiyal maddelerin araştırılması daha önemli hale gelmiştir. Doğa, değerli biyoaktif maddeler için önemli bir kaynak potansiyeli taşımaktadır ve böcekler bu anlamdaki terapik özellikleriyle dikkatleri üzerine çekmektedir. Yaygın olarak “patates böceği” olarak bilinen *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824, Chrysomelidae familyasına ait bir böcek türüdür. *L. decemlineata* patates mahsulleri üzerindeki tahrip edici etkileriyle bilinmektedir, ancak aynı zamanda bilimsel ilgiyi çeken ilginç biyolojik özelliklere de sahiptir. *L. decemlineata*, farklı çevresel koşullara uyum sağlama ve mikrobiyal saldırılara direnme kabiliyetiyle, sisteminde bakteriyel enfeksiyonlar ve oksidatif stresle ilgili hastalıklarla mücadele edebilen biyoaktif maddelerin varlığını araştırmak için eşsiz bir fırsat sunmaktadır.

Bu tez çalışması, *Leptinotarsa decemlineata*'nın iki farklı ekstraktının, yani LDME (metanol ekstraktı) ve LDEE'nin (etanol ekstraktı) antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerini araştırmayı amaçlamıştır. Bu çalışma disk difüzyon testi, minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) testi ve antioksidan aktivite çalışmaları yapılarak *Leptinotarsa decemlineata*'nın biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesini içermektedir. Gerek LDME gerekse de LDEE'nin test edilen bakterilere karşı değişen etkinlik derecelerinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. *L. decemlineata*'nın sentetik antibakteriyel ve antioksidan maddelere doğal bir alternatif olarak kullanılmasının daha az yan etkiye yol açabileceği ve daha çevre dostu

olabileceği görülmüştür. Bununla birlikte, *in vivo* ve daha geniş bir bakteri çeşitliliğine karşı etkinliklerini belirlemek için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: *L. decemlineata*, Tarım, Biyoteknoloji, Çevresel sürdürülebilirlik, Antimikrobiyal aktivite, Antioksidan aktivite
Tez Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Aysel KEKİLLİOĞLU
Sayfa Adeti: 83



**INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES
OF *Leptinotarsa decemlineata* SAY, 1824 (INSECTA: COLEOPTERA:
CHRYSOMELIDAE) IN CAPPADOCIA REGION, NEVŞEHİR PROVINCE**

(M.Sc. Thesis)

Noor ul SABA

**NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

August 2023

ABSTRACT

The search for new and effective antimicrobial agents has become more important due to the increase in drug-resistant bacterial strains. Nature has been a valuable source of bioactive compounds, and insects have gained attention for their potential therapeutic properties. *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824, commonly known as the Colorado potato beetle, is an insect belonging to the family Chrysomelidae. *L. decemlineata* is known for its destructive effects on potato crops, but it also possesses intriguing biological characteristics that attract scientific interest. *L. decemlineata*, with its ability to adapt to different environmental conditions and resist microbial attack, offers a unique opportunity to investigate the presence of bioactive substances in its system that may combat bacterial infections and oxidative stress-related disorders.

This research aimed to explore the antibacterial and antioxidant activities of two different extracts of *Leptinotarsa decemlineata*: LDME (methanol extract) and LDEE (ethanol extract). This study includes the evaluation of the biological activities of *Leptinotarsa decemlineata* by performing disc diffusion test, minimum inhibitory concentration (MIC) test and antioxidant activity studies. Both LDME and LDEE were found to have antimicrobial activity against the tested bacteria, with varying degrees of effectiveness. It highlighted the possibility of using *L. decemlineata* as a natural alternative to synthetic antibacterial and antioxidant agents resulting in fewer side effects and be more environmentally friendly. However, further research is required to determine their effectiveness in vivo and against a wider range of bacteria.

Keywords: *L. decemlineata*, *Agriculture*, *Biotechnology*, *Environmental sustainability*, *Antimicrobial activity*, *Antioxidant activity*

Thesis Supervisor: Asst. Prof. Dr. Aysel KEKİLLİOĞLU

Page Number: 83



İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	ii
TEZ BİLDİRİM SAYFASI.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2	
GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> Say, 1824.....	5
2.1.1. Taksonomi - Biyomorfoloji.....	5
2.1.1.1. Tür içi Çeşitlilik.....	12
2.1.1.2. Sahada Gözlem -Tespit.....	13
2.1.2. Köken- Yayılım- Tarihçe- Biyocoğrafya.....	13
2.1.3. Coğrafi Değişkenlik.....	18
2.1.4. Zararlı Durumu.....	19
2.1.5. Çevresel Uyum - Diyapoz.....	20
2.1.6. Konukçu Bitkilerle Etkileşimler.....	21
2.1.7. Üreme – Gelişim.....	22
2.1.8. Hareket ve Dağılma.....	23
2.1.9. Kontrol Süreci.....	24
2.2. Ürün Bozan Patojenler.....	25
2.3. Biyolojik Aktiviteler.....	26
2.3.1. Antibakteriyel aktivite.....	26
2.3.2. Antioksidan aktivite.....	27
2.4. Terapatik Kaynak-Dayanak Durumu.....	28
BÖLÜM 3	
LİTERATÜR ÖZETLERİ.....	32

BÖLÜM 4	
MATERYAL VE YÖNTEM	39
4.1. Arazi Çalışması	39
4.2. Laboratuvar Çalışması	42
4.2.1. Organizmalar	42
4.2.2. Organizma Materyalleri ve Ektraksiyonları	42
4.2.3. Patates Böceği veriminin belirlenmesi	44
4.2.4. Mikroorganizmaların kültivasyonu	44
4.2.5. Antibakteriyel Aktivitenin Saptanması	45
4.2.6. Minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) Saptanması	47
4.2.7. Enzimatik-olmayan antioksidan aktivitenin saptanması	48
BÖLÜM 5	
5.1. Taksonomik bulgular	50
5.1.1. Sınıflandırma	50
5.1.2. Sinonimler	50
5.1.3. Teşhis-Tanım-Biyomorfoloji-Ekoloji	50
5.2. Biyoaktivite - Biyokontrol Bulguları	52
5.2.1. Patates Böceği Verimi	52
5.2.2. Antimikrobiyal Aktivite	52
5.2.3. Antioksidan Aktivite	54
BÖLÜM 6	
TARTIŞMA VE SONUÇLAR	56
KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ	83

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> Say 1824'ün taksonomisi	5
Tablo 2.2. Bakterilerin morfolojik ve biyokimyasal özellikleri	25
Tablo 5.1. 2021 yılı aylık Nevşehir ekolojik verileri	52
Tablo 5.2. 2022 yılı aylık Nevşehir ekolojik verileri	53
Tablo 5.3. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın antimikrobiyal aktiviteleri	54
Tablo 5.4. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın minimum inhibitör konsantrasyonu($\mu\text{g/ml}$)	55
Tablo 5.5. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın DPPH radikali süpürme aktivitesi	55
Tablo 6.1. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın ürün bozan patojenlere karşı minimum inhibitör konsantrasyonu	60

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Patates bitkisinin yaprakları üzerindeki ergin patates böcekleri.....	6
Şekil 2.2. <i>Leptinotarsa</i> taksonunun ultrametrik tür ağacı	7
Şekil 2.3. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> Say, 1824 için milyonlarca yıllık dal uzunluklarına sahip ultrametrik ağaç	8
Şekil 2.4. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın yaprak yüzeylerine yumurta bırakması	9
Şekil 2.5. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın patates bitkisi üzerindeki beslenme ve gelişim durumu	9
Şekil 2.6. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın 1859-1876 arası Kuzey Amerika'da yayılımı	15
Şekil 2.7. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın 1921-1964 arası Avrupa'da yayılımı	16
Şekil 2.8. Kitinin kimyasal yapısı	30
Şekil 2.9. Kitosanın kimyasal yapısı	31
Şekil 4.1. Ergin <i>Leptinotarsa decemlineata</i> örneklerinin tarladan toplanma süreci	41
Şekil 4.2. Böcek örnek materyallerinin saklandığı böcek dolabı	40
Şekil 4.3. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> numunelerinin toplandığı Ürgüp'ü gösteren Kapadokya haritası	41
Şekil 4.4. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın toplandığı Uçhisar (Kapadokya bölgesi)	41
Şekil 4.5. <i>L. decemlineata</i> örneklerinin toplandığı patates tarlası	42
Şekil 4.6. Örnekleri ezme işlemi	43
Şekil 4.7. Ekstraksiyon işlemi	43
Şekil 4.8. Çalışmada kullanılan yatık besiyerleri	44
Şekil 4.9. Mikroorganizma inoküle edilmiş besiyerleri	45
Şekil 4.10. Disk difüzyon yöntemi	46
Şekil 4.11. Antibakteriyel aktivite çalışmalarına ait plaklar	47
Şekil 4.12. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın metanol ekstraktının radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi	49
Şekil 4.13. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın etanol ekstraktının radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi	49
Şekil 5.1. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın yumurta, larva (4. evre), pupa ve ergin formlarının ölçümler	51
Şekil 5.2. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın 1., 2., 3. ve 4. dönem larvaları	51

Şekil 5.3. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> ; ergin birey	52
Şekil 6.1. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın inhibisyon zon çapı	57
Şekil 6.2. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın Gram-negatif bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesi	58
Şekil 6.3. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın Gram-pozitif bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesi	59
Şekil 6.4. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın metanol ekstraktının antioksidan aktivitesi ...	62
Şekil 6.5. <i>Leptinotarsa decemlineata</i> 'nın etanol ekstraktının antioksidan aktivitesi	62



BÖLÜM 1

GİRİŞ

Patates, dünya çapında en çok tüketilen gıda ürünlerinden biridir ve hem gıda güvenliği hem de tarımsal ekonomiler açısından önemli bir rol oynamaktadır. Solanaceae familyasına ait yumrulu bir sebzedir ve besin değeri nedeniyle dünya çapında yetiştirilmektedir. Patates öncelikle serin iklim ve iyi drene edilmiş topraklara sahip bölgelerde yetiştirilmektedir ve en büyük üreticileri arasında Çin, Hindistan, Rusya ve Amerika Birleşik Devletleri yer almaktadır.

Patatesin değeri, yüksek besin içeriğinde ve önemli miktarda enerji, karbonhidrat ve temel vitamin ve mineralleri sağlama özelliğinde bulunmaktadır. Mükemmel bir besin lifi kaynağıdır ve önemli miktarda C ve B vitamini ile, potasyum içerir. Ayrıca, patates nispeten ucuzdur, yaygın olarak bulunur ve uzun süre depolanabilir, böylece hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkeler için çok önemli bir gıda kaynağıdır (Kekillioğlu ve Yılmaz. 2018a).

Patates ekimi nispeten kısa bir büyüme dönemine ve yüksek verim potansiyeline sahiptir, bu da bir yıl içinde birden fazla hasat edilmesini sağlar. Ayrıca, patatesler çeşitli toprak türlerinde gelişebilir ve toprak verimliliğini artırma yetenekleriyle bilinir. İlave olarak tarımsal sistemlerde zararlıların, hastalıkların ve yabancı ot kontrolünün yönetilmesine yardımcı olarak ürün rotasyonu çalışmalarında da önemli bir rol oynarlar (Bajaj 2013). Gıda güvenliği ve sürdürülebilir tarımın sorunlarını karşılamaya devam ederken, patates üretimini ve kullanımını anlamak ve teşvik etmek, artan nüfusun beslenme ihtiyaçlarını karşılamak için çok önemlidir.

Patates bitkileri, üretimlerini belirgin derecede etkileyebilecek çeşitli böcek ve zararlılara karşı hassastır. Bu zararlılar patates bitkilerinin yapraklarına, gövdelerine ve yumrularına zarar vererek verimin düşmesine ve daha düşük kaliteli ürün elde edilmesine neden olabilir. Patates yetiştirilen diğer bölgelerde olduğu gibi Türkiye'de de

patates bitkileri üzerindeki haşere baskısına çeşitli faktörler katkıda bulunmaktadır. Dünya’da ve özellikle Türkiye’de patates üretimini etkileyen önemli zararlılardan bazıları yaprak bitleri, patates yumru güvesi (*Phthorimaea operculella*), tel kurtları, patates yaprak zararlısı (*Empoasca fabae*), nematodlar ve en önemlisi *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824 (Patates böceği)’ dir.

Yaprak bitleri küçük özsu emici böceklerdir. Bitkinin özsuyla beslenerek patates bitkilerinde bozulmaya, sararmaya ve bodur kalmasına neden olurlar. Ayrıca viral hastalıkları da bulaştırarak bitkinin sağlığını ve verimliliğini daha da tehlikeye atabilirler. *Phthorimaea operculella* özellikle depolanmış patates yumrularını etkiler. Larvalar yumrulara yerleşerek hasara neden olur ve onları tüketim veya depolama için uygunsuz hale getirir (Jacques 2019). Tel kurtları toprakta yaşayan zararlılar olup, patates yumruları ile beslenerek hasara ve pazarlanabilir verimin azalmasına neden olurlar. Toprakta birkaç yıl boyunca kalmaları, kontrol edilmelerini özellikle zorlaştırır (Kekillioğlu ve Yılmaz. 2018b).

Empoasca fabae patates bitkilerinin yapraklarıyla beslenerek sararmaya, solmaya ve fotosentezin azalmasına neden olur. Yüksek istilalar yetersiz büyümeye ve verimin düşmesine yol açabilir. Çeşitli nematod türleri patates bitkilerine saldırarak kök sağlığını ve besin alımını etkileyebilir. Nematod istilaları yetersiz büyümeye, yumru boyutunun küçülmesine ve diğer hastalıklara karşı duyarlılığın artmasına yol açabilir (Poos 1932). Son olarak, dünya çapında patates bitkileri için en tehlikeli zararlılardan biri *Leptinotarsa decemlineata*’dır. Hem larvalar hem de ergin böcekler yapraklarla beslenir ve kontrolsüz bırakıldığında ciddi bir şekilde yaprak dökülmesine sebep olur. Patates böceği Türkiye’deki patates çiftçileri için büyük bir sorundur (Bajaj 2013).

Kapadokya Bölgesi, Türkiye’nin İç Anadolu Bölgesi’nde yer alan, jeolojik, tarihi ve kültürel açıdan zengin bir bölgedir. Türkiye’de zararlıların patates üretimi üzerindeki spesifik etkisi bölgeye, mevcut iklim koşullarına ve tarım yöntemlerine bağlı olarak değişebilmektedir. Bununla birlikte, yukarıda bahsedilen zararlılar, dünyadaki diğer patates yetiştirilen bölgelerde olduğu gibi, Türkiye’deki patates çiftçileri için de genel olarak büyük sorunlar oluşturmaktadır (Kekillioğlu ve Yılmaz. 2018a).

Kapadokya, jeolojik açıdan benzersiz oluşumları nedeni ile önemli bir biyolojik çeşitliliğe sahiptir. Ortaya çıkan mikrohabitatlar çok çeşitli bitki ve hayvan yaşamını desteklemektedir. Bölgenin jeolojik çeşitliliği farklı türlerin evrimleşmesine katkıda bulunmuştur. Bu türler belirli niş bölgelere adapte olmuş ve zengin bir biyolojik çeşitlilik ortaya çıkmıştır. Kapadokya'daki toprak esas olarak volkanik kökenlidir, genellikle verimlidir ve tarım için uygun koşullar sağlar. Kapadokya'nın arazisi ve iklimi üzüm, kayısı, buğday, arpa, sebze, meyve, ardıç ve fıstık ağaçları vb. yetiştirmek için elverişli koşullar yaratmaktadır. Yaban hayatı çeşitli kuş türlerini, sürüngenleri ve böcekler gibi küçük memelileri içerir (Yüncü, 2015). Bölge birçok endemik bitki ve hayvan türüne sahiptir.

Leptinotarsa decemlineata genellikle patates bitkileri üzerindeki olumsuz etkileriyle bilinmektedir. Ancak bu böceğin hem ekolojik hem de insan sağlığı açısından bazı olumlu etkilerinin de olduğunu kabul etmek gereklidir. Ekolojik olarak, patates böceği çeşitli avcılar ve parazitoidler için bir besin kaynağı olarak biyoçeşitliliğe ve ekosistemlerin dengesine katkıda bulunur. Patates böceğinin varlığı, kuşlar, böcekler ve memeliler de dahil olmak üzere diğer organizmalar için besin sağlayarak besin ağını destekler. Bu şekilde ekosistemlerin doğal işleyişinde ve çeşitliliğinde rol oynar (Gödel ve ark. 2020).

Ayrıca, patates böceği kendine özgü biyolojik özellikleri nedeniyle bilimsel araştırmalara konu olmuştur. Çalışmalar, böceğin ilgi çekici antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir. *Leptinotarsa decemlineata*'dan elde edilen özütler *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi patojenik bakterilere karşı antibakteriyel özellikler sergilemiştir (Kaya ve ark. 2014). Bu bulgular, böceğin ilaca dirençli bakteriyel enfeksiyonları önlemek için potansiyel tedavi uygulamaları için kullanılabilir biyoaktif bileşikler içerdiğini göstermektedir.

Sonuç olarak, bu tez çalışması ile; patates böceği olarak isimlendirilen, *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824'nin antioksidan aktivitesi araştırılmış ve doğal antioksidan kaynağı olarak potansiyeline işaret edilmiştir. Antioksidanlar, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser de dahil olmak üzere çeşitli kronik hastalıklarla bağlantılı olan

oksidatif strese karşı vücudun korunmasında çok önemli bir rol oynamaktadır. *L. decemlineata*'nın antioksidan aktivitesinden kaynaklanan biyoaktif bileşiklerin tanımlanması ve incelenmesi, yeni antioksidan ajanların geliştirilmesine katkıda bulunabilir. Böylece insan sağlığının geliştirilmesine yardımcı sağlanır. *Leptinotarsa decemlineata* patates çiftçileri için zorluklar ve ekonomik kayıplar yaratsa da, bu böceğin ekolojik araştırmalara ve insan sağlığına da olumlu katkıları olduğunu kabul etmek gerekir. *Leptinotarsa decemlineata*'nın olumlu etkilerini ve biyolojik faaliyetleri hem çevreye hem de insan refahına fayda sağlayabilir.



BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824

2.1.1. Taksonomi - Biyomorfoloji

Patateslerin en zararlı böceklerinden biri patates böceğidir (Şekil 2.1). Patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824), Chrysomelidae familyasına ait bir böcektir. Dünya çapında tanımlanan 35.000 tür ile Coleoptera takımının üçüncü en büyük familyasıdır. Bu familyanın üyeleri hem larva hem de ergin olarak bitkilerle beslenir ve her iki yaşam evresi de aynı veya ilgili bitki türlerini tüketir. Birçok tür konukçuya özgüdür. Bu tür ilk olarak Thomas Say tarafından 1824 yılında *Doryphora* cinsinin bir üyesi olarak tanımlanmıştır (Say, 1824). Familyanın diğer üyeleriyle olan morfolojik benzerliklere dayanarak, Suffrian (1858) organizmanın yeniden sınıflandırılması gerektiğini belirtmiş ancak kendisi herhangi bir resmi değişiklik yapmamıştır. Bu türün taksonomisi aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmektedir.

Tablo 2.1. *Leptinotarsa decemlineata* Say 1824'ün taksonomisi

Âlem	Animalia
Alt âlem	Eumetazoa
Şube	Arthropoda
Alt şube	Hexapoda
Sınıf	Insecta
Takım	Coleoptera
Familya	Chrysomelidae
Alt familya	Chrysomelinae
Cins	<i>Leptinotarsa</i>
Tür	<i>Leptinotarsa decemlineata</i> Say, 1824

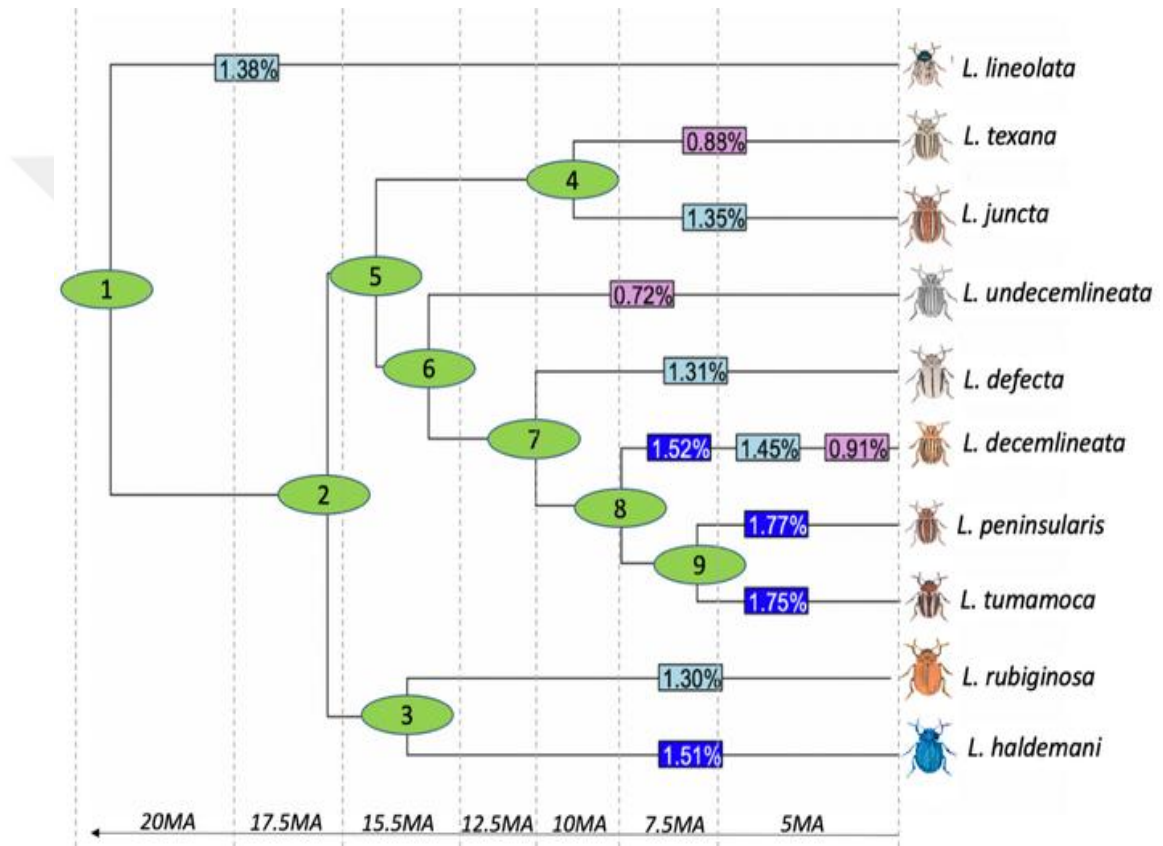
L. decemlineata 19. yüzyılın ortalarında bir sorun haline gelmiş ve bilim camiasının büyük ilgisini çekmiştir. Patates endüstrisinde, böcek zorlu bir tehlike olmaya devam etmekte ve coğrafi kapsamını sürekli olarak dünyanın diğer bölgelerine doğru genişletmektedir. Çeşitli stres faktörlerine karşı potansiyel dayanıklılığının yanı sıra, çeşitli ve uyarlanabilir yaşam öyküsü nedeniyle kontrol edilmesi çok zor bir haşeredir.



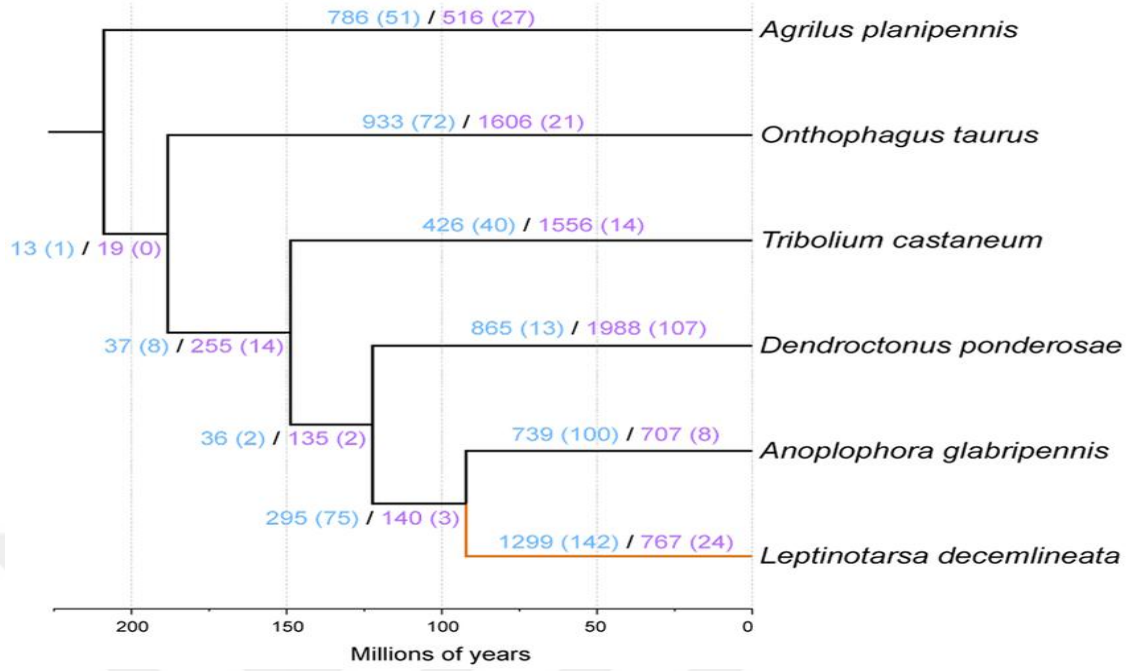
Şekil 2.1. Patates bitkisinin yaprakları üzerindeki ergin patates böcekleri

Taksonomiye resmi olarak revize eden ve türü *Chrysomela* cinsine yerleştirerek *Doryphora 10-lineata* Say'ı *Chrysomela decemlineata* (Say)'nın küçük sinonimi yapan

Stal (1862) olmuştur. Kraatz (1874) daha sonra *C. decemlineata*'yı *Leptinotarsa* cinsine aktararak *Leptinotarsa decemlineata*'yı (Say) oluşturmuş ve tür o zamandan beri burada kalmıştır. Jacques (1988) bu cinste 9'u Amerika Birleşik Devletleri'nde, 9'u Orta ve Güney Amerika'da ve 27'si Meksika'da bulunan toplam 41 tür listelemiştir. Ancak Bechyne (1952), *L. porosa* Baly ve *L. paragenesis* Jacoby'nin *Cryptostetha* cinsine ait olduğunu savunmuştur.



Şekil 2.2. *Leptinotarsa* taksonunun ultrametrik tür ağacı (Cohen ve ark. 2021)



Şekil 2.3. *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824 için milyonlarca yıllık dal uzunluklarına sahip ultrametric ağaç (Schoville ve ark. 2018)

Güney Meksika'da ortaya çıkan *Leptinotarsa*, sürekli aktif türleşmeye dahil olan evrimsel olarak yeni bir cinstir (Tower 1906; Medvedev 1981). Yirmi *Leptinotarsa* türü özelleşmiş besleyicilerdir; on tür beslenmek için Solanaceae familyasına, dokuz tür Compositae familyasına ve bir tür de Zygophyllaceae familyasına bağlıdır. Ergin patates böcekleri oval bir şekle ve sarı renge sahiptir ve yaklaşık 10 mm uzunluğunda ve 7 mm genişliğindedir. Her bir elytron üzerinde uzunlamasına beş siyah çizgi, baş ve pronotum üzerinde siyah noktalar vardır. Yumurtlamadan sonra, yumurtalardan çıkmaya hazır olduklarında renkleri sarıdan turuncuya döner (Tower 1918; Hsiao 1988).

Erusiform larvalar kırmızıdan turuncuya, siyah baş ve bacaklara ve her iki tarafta iki sıra siyah noktalara sahiptir. Pupalaşmadan veya yavrulamadan önce dört aşama vardır. 1906 yılında, *L. decemlineata* morfolojik özelliklerine göre dört türe ve dokuz çeşide ayrılmıştır. Bu özellikler arasında baş, pronotum ve elytranın benek desenleri ve renkleri yer alır. Bu türler tamamen kendi aralarında çiftleşebilir. Güney Meksika ve Amerika Birleşik Devletleri'ndeki böcek popülasyonunda izozim frekanslarında önemli bir fark bulunmuştur, bu nedenle bu iki tür ayrı alt türler olarak kabul edilmektedir (Jacobson ve Hsiao 1983).



Şekil 2.4. *Leptinotarsa decemlineata*'nın yaprak yüzeylerine yumurta bırakması



Şekil 2.5. *Leptinotarsa decemlineata*, yukarıdan aşağıya: yumurta yığını, yumurtadan yeni çıkmış larvalar, dördüncü dönem larva, ergin dişi

Aşağıdaki yaşam dönemlerinin açıklaması EPPO'ya göre yapılmıştır.

i- Yumurtalar

Yumurtalar sarı veya açık-turuncu, oval ve yaklaşık 1,2 mm uzunluğundadır.

ii- Larvalar

Larvaların geniş yuvarlak karınları vardır, ilk dönem 1,5 mm uzunluğunda, kiraz kırmızısı renkte, parlak siyah baş ve ayaklara sahiptir, daha sonraki dönemler kiraz kırmızısından turuncu-kırmızıya, ardından soluk turuncuya doğru giderek soluklaşır ve vücudun her iki tarafında spirakülleri işaretleyen birkaç küçük siyah noktadan oluşan bir çizgi bulunur. Dördüncü dönem larvalar yaklaşık 8 mm uzunluğundadır.

iii- Pupa

Pupalar 1 cm'ye kadar sarımsı renktedir. Pupa kabuğu oluşmaz.

iv- Ergin

Yaklaşık 8,5-11,5 mm uzunluğunda, kalın, oval, güçlü konveks bir böcek, iki krem sarısı elytronun (kanat örtüleri) her birinde beş dar siyah çizgi dışında sarımsı kahverengi; başın ve toraksın üstünde yaklaşık 12 küçük siyah noktalar, turuncu bacakların uçları koyu kahverengi veya siyahtır.

Erginler, toprak sıcaklığının 11°C veya üzerine çıktığı ilkbahar veya yaz başında kışlama diyapozundan çıkar, bu genellikle konukçu bitkilerin yapraklarının mevcudiyetiyle aynı zamana denk gelir (Pulatov ve ark. 2016). Diyapozdan çıkan erginler uçuş kaslarını geliştirmek için yiyecek ve suya ihtiyaç duyar ve yeterince beslendikten sonra, 30 günden uzun süren açlık dönemlerinde hayatta kalabilir (Boiteau ve ark. 2003; MacQuarrie ve Boiteau 2003). *L.decemlineata*, Solanaceae familyasındaki yabani ve yetiştirilen bitkilerle beslenen oligofag bir türdür (Alyokhin 2009). Tercih edilen konukçu patatestir (*Solanum tuberosum*). Domates (*Solanum lycopersicum*) ve patlıcan (*Solanum melongena*) da önemli konukçularıdır (Weber, 2003). Ayrıca bir çok yabani solanaceous konukçu türü de vardır.

Leptinotarsa decemlineata erginleri ve larvaları bitkilerle beslenir, ancak aşırı kalabalık olduğunda veya konakçı bitkilerin bulunmadığı durumlarda, yamyam özelliği gösterdiği ve eş yumurta, larva, pupa ve erginleri tüketeceği bilinmektedir (Gui ve Boiteau 2010; Booth 2017). Beslendikten sonra dişiler birden fazla erkekle defalarca çiftleşir. Çiftleşen dişiler bir yaprağın alt tarafına altmışa kadar yumurta bırakır. Dişiler eş yumurta içeren

yapraklara yumurtlamaktan kaçınıp, habitatlar içinde ve arasında, örneğin tarlalarda ve tarla kenarlarındaki yabancı Solanaceae üzerinde bir dizi alana yumurta bırakmak için uçarlar. Birkaç hafta boyunca bir dişi toplamda birkaç yüz ila birkaç bin yumurta bırakabilir (Weber 2003; Alyokhin 2009). Yumurtalar sıcaklığa bağlı olarak dört ila on dört gün sonra çatlar ve larvalar konukçu yapraklarından beslenmeye başlar. Dört larva aşaması vardır. Larvalar 29°C'de sekiz günde gelişimini tamamlayabilir, 14°C'de ise yirmi sekiz gün sürer (Hare, 1990). Dördüncü dönem larvalar yere düşer ve pupa olmak için toprağa gömülür. Pupa oluşumu 8 ila 18 gün sürer. Erginler ortaya çıktıktan sonra beslenir ve çiftleşebilir ya da diyapoza girmek için kışlama alanı ararlar. Kurak bölgelerde yaz boyunca, erginler kurumayı önlemek için aestivasyon (yaz uykusu, kış diyapozu gibi) yapabilir.

Erginler kışı geçirmek için diyapoza girerler, gün uzunluğu, sıcaklık ve besin mevcudiyeti diyapozun ne zaman başlayacağına katkıda bulunan faktörlerdir (Alyokhin 2009). Böylece, yaz sonuna doğru erginler kışlama alanları aramak için göç uçuşları yaparlar (Boiteau ve ark. 2003). Erginler kışı geçirmek için toprağı kazar; bazıları açık tarlalarda toprakta kışı geçirir (Weber ve Ferro 1993). Erginler 10 ila 25 cm arasında kazı yapar ve kışı geçirme süresi derinlikle birlikte artar. Daha yüksek enlemlerde, erginler daha derine inerek toprak sıcaklığının 0°C'nin üzerinde kaldığı 20-60 cm toprak derinliklerine ulaşır (Lefevre ve De Kort 1989).

Piironen ve arkadaşları (2011) *L. decemlineata*'nın kışlama davranışını incelemiş ve toprağa daha erken gömülen daha büyük (daha ağır) erginlerin daha küçük (daha hafif) erginlerden daha yüksek kışlama hayatta kalma oranına sahip olduğunu bulmuştur. Diyapoza daha erken girmek gibi davranış değişiklikleri, Avrupa'da kuzey yayılımını kolaylaştırabilir (Cingel ve ark. 2016), örneğin Avrupa Birliği koruma bölgesinin bazı kısımlarına. Diyapoz 10°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda sona erer (de Kort 1990) ve erginler üç aya varan bir süre boyunca ortaya çıkabilir. Erginlerin küçük bir kısmı birden fazla kış boyunca diyapozda kalabilir.

New York Eyaleti'nde yapılan 10 yıllık bir çalışmada, ergin *L. decemlineata*'nın neredeyse yüzde doksan sekizi bir kıştan sonra ortaya çıkmıştır, ancak bazıları 2 ila 7 yıl boyunca ortaya çıkmamıştır; bir ergin 9 yıl sonra diyapozdan çıkmıştır (Tauber ve

Tauber 2002). Daha önceki literatüre göre, Pulatov ve arkadaşları (2016) gelişim için iki eşik sıcaklık (10°C ve 12°C) ve yumurtadan yumurtaya gelişim için her iki eşiğin üzerinde en az 411°C/gün bildirmiştir. Eşik değerindeki farklılıklar, kullanılan deneysel ve analitik yöntemlerden ve/veya incelenen popülasyonların yerel adaptasyonlarındaki farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir (Boman ve ark. 2008). Erginlerin diyapozdan çıkması için eşiklerin 60 ila 90°C/gün; beslenme, çiftleşme ve yumurtlama için 51 70°C/gün ve yumurtadan ergine gelişim için 300°C/gün gereklidir. Yaz sıcaklıklarının yeterli olduğu yerlerde, *L. decemlineata* yılda dört nesil geliştirebilir (Radcliffe 1982). Akdeniz çevresinde, yılda üç nesil mümkündür ve kuzey Avrupa'da yılda bir veya iki nesil olabilir (Pulatov ve ark. 2016).

Kanada'da ergin sayıları ağustos ayında maksimuma ulaşır ve kış mevsiminde yaşayan neslin bir sonucudur; yılın ilerleyen dönemlerinde görülen daha küçük ikinci bir yükseklik ise yaz neslinin üremesinin ya da kış mevsiminde yaşayan erginlerin gecikmiş yumurtlamasının bir sonucu olabilir (Senanayake ve Holliday 1989). *L. decemlineata*'nın biyolojisinin en dikkat çekici yönlerinden biri, türün neredeyse tüm insektisit sınıflarında 56 farklı aktif maddeye karşı direnç geliştirmesiyle sonuçlanan esnekliktir. Bir çalışma, *L. decemlineata* tarafından insektisitlerin enzimatik detoksifikasyon mekanizmalarını araştırmıştır (Clements ve ark. 2020) ancak gecikmiş çıkış gibi davranışsal değişiklikler de insektisit direnci geliştirme yeteneğine katkıda bulunabilir (Cingel ve ark. 2016; Clements ve ark. 2020).

2.1.1.1. Tür içi Çeşitlilik

Tower (1906), baş, pronotum ve elytranın benek desenleri ve renklenmesindeki farklılıklara bağlı olarak *L. decemlineata* için dört alt tür önermiştir. Alt türler artık tanınmamaktadır ve çoğu bilim insanı *L. decemlineata*'nın tek bir tür olduğunu düşünmektedir. Bununla birlikte, Amerika, Avrupa ve Asya'daki popülasyonlar arasındaki fenotipik varyasyonlar ve mitokondriyal ve nükleer DNA'daki varyasyonlar, üç farklı türün varlığına işaret etmektedir. Farklı türlerin korunan bölge için oluşturduğu bitki sağlığı tehdidinde önemli bir fark olup olmadığı bilinmemektedir.

2.1.1.2. Sahada Gözlem -Tespit

L. decemlineata bireylerini ayırt edici işaretleri ve renkleri nedeniyle, erginleri ve larvaları görsel inceleme sırasında gözlemlemek zor değildir. Öncelikle, Yapraklar ve gövdeler larva ve erginler için incelenmelidir (Kekillioğlu ve Yılmaz 2018a,b). Bitkileri sallamak gibi mekanik rahatsızlıklar, erginlerin ölü taklidi yaparak konukçudan düşmesine neden olabilir (Bach 1982; Misener ve Boiteau 1993). Yaprakların alt tarafı yumurta kütleleri için incelenmelidir. Patates tarlalarında görsel örnekleme, popülasyon yoğunluğunu tahmin etmek için tüm bitki torbası örnekleme kadar etkilidir ve atraptan daha etkilidir (Senanayake ve Holliday 1989). Toprak örnekleme diyapozdaki erginleri tespit etmek için kullanılabilir.

Ergin böcekler sarı renkten etkilenir ve sarı yapışkan tuzaklar veya su tuzakları ile yakalanabilir (Kroschel ve ark. 2020). *L. decemlineata*'yı tanımlamak için en az iki kaynak mevcuttur. Kuzey Amerika'daki Doryphorini ailesindeki erginler ve *L. decemlineata* da dahil olmak üzere *Leptinotarsa* cinsindeki 41 türün 31'i için bir cins rehberi bulunmaktadır. Ayrıca Palaearktik Chrysomelidae için bir rehber de bulunmaktadır. Avustralya'da kullanılmak üzere tasarlanmış bir teşhis anahtarı mevcuttur.

2.1.2. Köken- Yayılım- Tarihçe- Biyocoğrafya

L. decemlineata Kuzey Yarımküre'de oldukça yaygındır. Bazı araştırmalar *L. decemlineata*'nın çeşitliliğinin en yüksek olduğu Meksika'da ortaya çıktığını öne sürmektedir (Tower 1906). Bununla birlikte, Meksika, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nin orta düzlükleri ve doğu ABD'den *L. decemlineata* popülasyonları üzerine yapılan moleküler çalışmalar, *L. decemlineata*'nın aslında ABD'nin düzlük bölgelerinin yerlisi olduğu hipotezini desteklemektedir (Izzo ve ark. 2018). Kökeni ne olursa olsun, tür ABD, Kanada ve Meksika, Kosta Rika, Küba, Guatemala ve Avrupa ve Asya'nın bazı bölgelerinde yerleşiktir ve Çin'de yayılmaya devam etmektedir (Wang ve ark. 2020).

Meksika'nın orta yüksek bölgelerindeki patates böceğinin yabancı popülasyonları çoğunlukla *Solanum rostratum* üzerinde beslenmektedir (Tower 1906; Hsiao 1988).

Kuzeye doğru hareket eden ilk İspanyol yerleşimcilerin gerek *S. rostratum* gerekse böcekleri Amerika Birleşik Devletleri'nin güney ve orta düzlüklerine getiren bir kaynak olabileceği düşünülmektedir (Gauthier ve ark. 1981; Hare 1990). 1811 yılında Thomas Nuttall, Amerika Birleşik Devletleri'nde patates böceğini toplayan ilk kişidir.

Daha sonra Thomas Say, 1819'dan 1820'ye kadar Iowa-Nebraska sınırı yakınlarında böcek koleksiyonları yapmıştır. Omaha, Nebraska'nın yaklaşık 100 mil batısında, patates böcekleri tarafından ekili patateslerde ilk ciddi salgın 1859 yılında rapor edilmiştir (Jacques 1988). İlk salgını sonraki 15 yıl içinde, böceklerin doğuya doğru yayılması ABD ve Kanada'nın Atlantik sahillerine ulaşmıştır. Böcekler 1865 yılında Mississippi Nehri'ni geçtikten sonra, sırasıyla 1869 ve 1872 yıllarında Ohio ve Maine'e ulaşmıştır (Jacques 1988). Colorado'da patateslere ilk ciddi zararın 1874 yılında görüldüğü belirtilmiştir (Riley 1875).

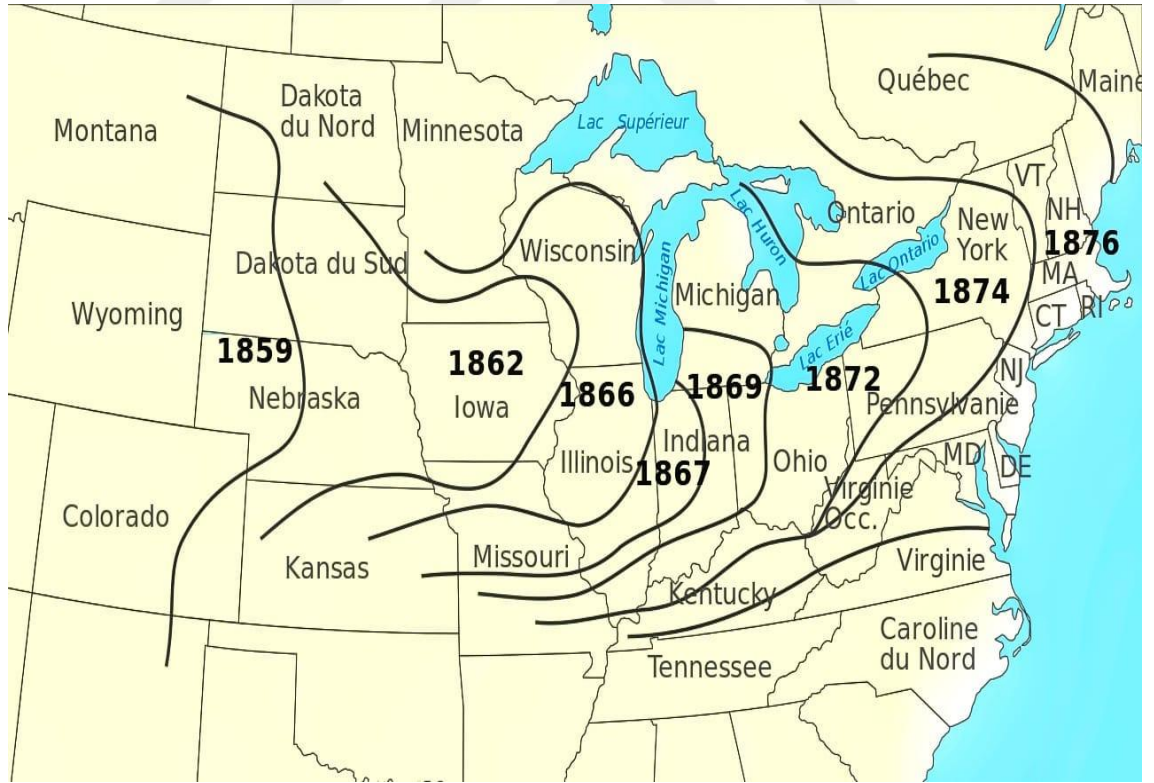
Walsh, 1856 yılında Colorado'da *S. rostratum* ile beslenen önemli bir böcek popülasyonu görmüştür ve bu türün yaygın olarak kabul edilen adıyla birleştirilmesinin nedeni olmuştur (Jacques 1988). Bu tür 1860 ve 1880 yılları arasında 4 milyon kilometrekareye kadar yayılmıştır. (Trouvelot 1936). Böcekler Kanada'nın güney eyaletlerine ilerledikten sonra British Columbia'da bulunmuştur (Ivanschik ve Izhevsky 1981). İlk Avrupalı patates böceği popülasyonu 1875 yılında İngiltere'de keşfedildikten sonra, 1877 yılında Almanya yoluyla kıtasal Avrupa'yı istila etmiş ve ardından 1878 yılında Polonya'da bulunmuştur.

1922 yılına kadar karantina önlemleri ve eradikasyon çalışmaları haşerenin Avrupa'dan uzak tutulmasında çok yardımcı olmuştur. Kendi kendine çoğalma yeteneğine sahip popülasyonlar son olarak Fransa'da görülmüştür (Feytaud 1950). 1940'ların ortalarına doğru, böcek ilerledikçe tüm Batı ve Orta Avrupa'ya yayıldı ve sonunda Polonya sınırına ulaştı. İkinci Dünya Savaşı sırasında karantina düzenlemelerinin uygulanmaması ve askeri nakliye faaliyetlerinin yoğunluğu böceğin yayılmasını büyük ölçüde kolaylaştırmıştır.

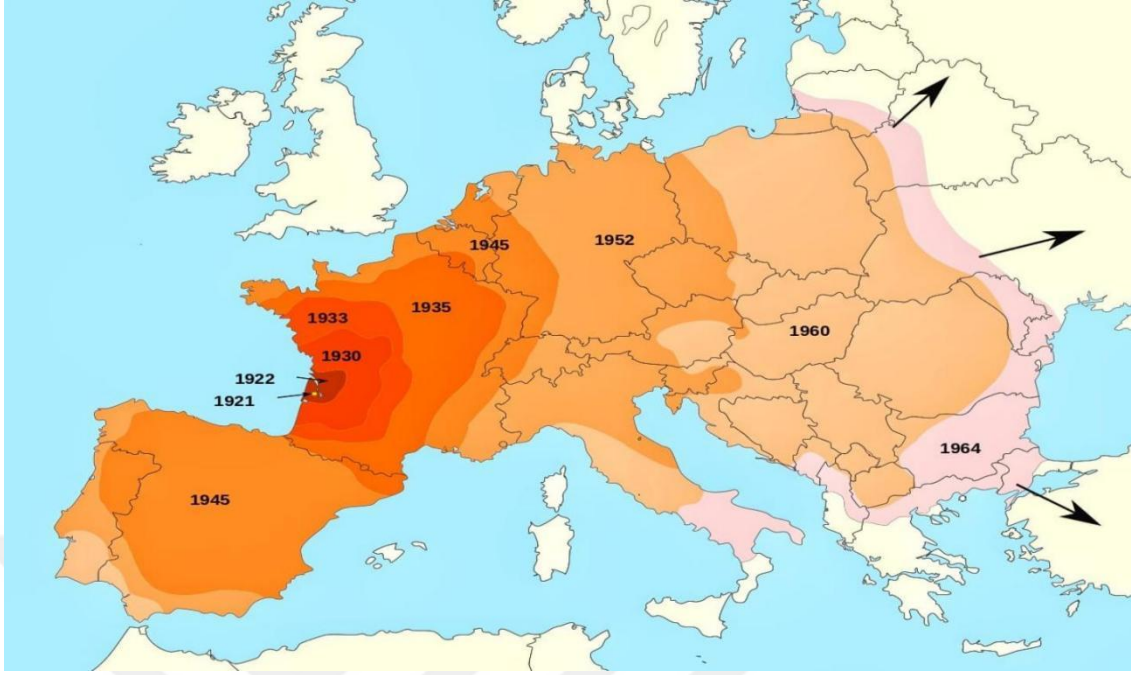
Böcekler 1949 yılında Sovyetler Birliği sınırını geçmiştir ve kısa sürede yok edilmiştir. Sonraki 9 yıl boyunca katı karantina, saha izleme ve eradikasyon kampanyaları

nedeniyle böcekler ortadan kaybolmuştur. 1958'deki ılık bahar ve güçlü batı rüzgarları, Karpat Dağları'ndan Baltık Denizi'ne kadar büyük saldırılara neden olmuştur. Bu durum, o zamandan beri doğuya doğru yayılmalarını sürdüren üreyen popülasyonların oluşmasına yol açmıştır (Ivanschik ve Izhevsky 1981). Günümüzde Patates Böceği Avrupa, Anadolu, İran, Orta Asya ve Batı Çin'de patates ürünlerine zarar vermektedir (Jolivet 1991; Weber 2003).

Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya'da mevcut yayılma alanı yaklaşık 16 milyon kilometrekaredir ve genişlemeye devam etmektedir (Weber 2003). Böcek muhtemelen Doğu Asya, Hindistan alt kıtası, Güney Amerika, Afrika, Yeni Zelanda ve Avustralya gibi ılımlı sıcaklıktaki bölgelere yayılabilir (Vlasova 1978; Jolivet 1991; Weber 2003). Patates böceği, özellikle kuvvetli rüzgarlarla uzun mesafeler boyunca uçuş kabiliyetine sahip olsa da (Boiteau ve ark. 2003), insan hareketleri de hızlı dağılımını büyük ölçüde kolaylaştırmıştır.



Şekil 2.6. *Leptinotarsa decemlineata*'nın 1859-1876 arası Kuzey Amerika'da yayılımı (Spedona 2013)



Şekil 2.7. *Leptinotarsa decemlineata*'nın 1921-1964 arası Avrupa'da yayılımı (Spedona, 2013)

Patates, hasattan sonra uzun mesafelere taşınan ve her yerde bulunan bir üründür. Küçük boyutlu böcekler, çeşitli nakliyelerle kolayca yolculuk yapabilir. İkinci Dünya Savaşı sırasında ve Soğuk Savaşın başlangıcında hızla yayılması bazen böceğin biyolojik silah olarak kullanılmasına bağlanmıştır. Özellikle Amerika Birleşik Devletleri'nin patates ürünlerini sabote etmekle suçlanması, Doğu Alman yetkililer ve ardından Sovyetler Birliği tarafından başlatılan agresif bir propaganda kampanyasının parçasıydı. Fransa, Almanya ve İngiltere'de İkinci Dünya Savaşı öncesinde ya da sırasında böceklerin silah haline getirilme olasılıklarını ölçmek için araştırmalar yapılmıştır (Garrett 1996; Lockwood 2012). Ancak hiçbir kanıt bulunamamıştır. Buna karşılık, yayılmanın zamanlama ve coğrafyaya bağlı olarak doğal yollarla genişlemesine atfedildiği tespit edilmiştir. Özellikle Afganistan'daki yerel çiftçiler, NATO ve Taliban arasındaki savaş sırasında ABD'li yardım görevlilerini, kontamine olmuş tohumluk patates teslimatlarıyla bu haşereyi taşımakla suçlamışlardır (Arnoldy 2010).

Leptinotarsa decemlineata Say 1824'ün Rocky Dağları'nın doğu yamaçları ve modern Meksika'nın kuzey tarafındaki bölgelerle sınırlanan bölgede ortaya çıktığı düşünülmektedir. Kserofitik solanaceous bitkiler (*Solanum rostratum*, *Solanum cornutum*, *Solanum carolinense*, *Solanum angustifolium*, vb.) bu bölgede bol miktarda

bulunmakta idi, *Leptinotarsa* cinsinin çeşitli türleri ve *L. decemlineata* bu bitkilerle beslenmekte idi (Alyokhin 2009). Bu kurak iklim bölgesinde kısa vejetatif dönem ve fitofag böceklerin gelişme süresi nedeniyle böcek popülasyonları genellikle bu bölgede çok fazla bulunmazlar. Böcek türlerinin yaşına dair görüşlerde farklılıklar bulunmaktadır. *L. decemlineata*'nın 17. yüzyılın sonları ile 18. yüzyılın başlarında fark edildiğine inanılmakta ve Antropojen'de veya muhtemelen Holosen'de ortaya çıktığı düşünülmektedir. Modern Peru ve Şili topraklarında, *S. tuberosum* (kültür patatesi) Güney Amerika'daki And Dağları'nda ortaya çıkmıştır. 1719 yılında Kuzey Amerika'da ortaya çıkmıştır. Bu nedenle, *L. decemlineata*'nın bir tür olarak genişlemesi *S. tuberosum* ile etkileşimden mahrum kalmıştır.

19. yüzyılın başlarında, yoğun insan göçleri nedeniyle en uygun ortamlar yaratılarak yabani solanaceous türleri ve böceklerin çeşitliliği hızla genişlemiştir. 1840'larda yayılma, tarımsal gelişme ve Amerika Birleşik Devletleri'nin batı bölgelerinin kolonileşmesi ile teşvik edilmiştir. Patates çiftlikleri Colorado'ya ulaşmış ve 19. yüzyılın ortalarında *L. decemlineata*'nın yaşadığı kayalık dağları'nın yamaçları boyunca yayılmıştır. En erken zarar 1855 yılında Nebraska'da, en büyük zarar ise 1859 yılında Colorado'da kaydedilmiştir (Alyokhin 2009). Böcek, yetiştirilen patatese transfer edildikten sonra üreme ve yayılma hızının artması nedeniyle tehlikeli bir patates zararlısı haline gelmiştir.

Patates böceği 1874 yılında Amerika'daki tüm engelleri atlatarak Atlantik kıyılarına ulaşmıştır. Bu durum, böceğin diğer kıtalara göç etme riskini arttırdı. Büyük miktarda patates üretimi, gelişmiş navigasyon ve karayolu sistemi Avrupa'yı risk altında bıraktı. Sonuç olarak, ticaret yapılan ülkelerde karantina servisleri tarafından kargo, tekne ve limanların sıkı denetimi başlamıştır. Fransa kıyılarında, ilk gözden kaçan enfeksiyon ortaya çıktı. 1916-1918 yılları arasında patates böceği'nin Amerikan gemileriyle Fransa'nın Bordeaux limanına gelmesi bir tesadüf olarak değerlendirilmiştir. Odaklarını ortadan kaldırmak için anında önlemler alınmasına rağmen, haşere tamamen yok edilememiştir (Feytaud 1950).

Sonraki yıllarda böceğin bu kıtadaki kolonizasyonu sadece doğuya değil aynı zamanda güneydoğu ve kuzeydoğuya doğru da genişlemiştir. Doğuya doğru genişlemesi baskın

rüzgarlar yönündedir ve diğer yönlere doğru ise önemsiz bir dağılım göstermiştir. 1949 yılında, böceklerin ilk odaklandığı yer eski Sovyetler Birliği'nde Lvov bölgesinde ortaya çıkmış ancak ortadan kaldırılmıştır (Sanin 1976). 1953 yılında, böceğin ikincil büyük göçleri ortaya çıkmıştır. Sovyetler Birliği bölgesindeki odaklar 1958'e kadar tecrit edildi ve ortadan kaldırılmıştır. 1975 yılında, böcekler yoğun bir dağılım göstererek 5.35 milyon hektar patates plantasyonunu işgal etmiştir. 1975'ten 1977'ye kadar, Sovyetler Birliği'nde doğuya doğru göçün ortalama hızı yılda 50-100 km civarındadır.

L. decemlineata'nın yayılma alanı 150 yıl içinde 3000 kattan fazla artmıştır (Fasulati 2007). Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya'da böceğin yayılma alanı 2009 yılı itibariyle başlangıçtaki 5000 km² karşılık 16 milyon km² üzerine çıkmıştır (Alyokhin 2009; Hare 1990). Yüksek tür içi polimorfizm ve ekolojik plastisite patates böceği tarafından sergilenmektedir (Fasulati 2007). Popülasyon çalışmaları, en az sıklıkta olanın sadece tekrarlanan mutasyonla sürdürülemeyeceği kadar sayısal oranlarda iki veya daha fazla ayrık tür içi formun varlığı olarak tanımlanan polimorfizm analizi üzerine kurulmuştur. Moleküler düzeyde popülasyonda aynı lokusun iki veya daha fazla alelinin önemli bir sıklıkta görülmesi olarak tanımlanır (Cavalli Sforza; Bodmer 1971). Klasik olarak, bir alelin fark edilebilir frekansı $\geq 1-5\%$ anlamına gelir.

2.1.3. Coğrafi Değişkenlik

Kolonizasyon olayı sırasında, böcek popülasyonlarının yeni alanlara istilasını genellikle kurucu etkisinden kaynaklanmaktadır (Sakai ve ark. 2001). Bu nedenle, coğrafi köken merkezlerine kıyasla genellikle genetik olarak eksik bir şekilde gelişmişlerdir (Grapputo ve ark. 2005). Kuzey Amerika ve Avrupa'da, böcek popülasyonlarının genetik çeşitliliğini incelemek için mnt mitokondriyal DNA (mtDNA) ve çoğaltılan parça uzunluğu farklılığı veya polimorfizmi (AFLPs) markörlerinin analizi gibi iki yöntem kullanılmıştır. Kuzey Amerika böcek popülasyonlarında hem mitokondriyal hem de nükleer değişkenliğin yüksek seviyelerde olduğu ve en yüksek genetik çeşitliliğin orta Amerika Birleşik Devletleri'nde olduğu gözlemlenmiştir. Avrupa böcekleri nükleer markörlerde (AFLP'ler) önemli bir azalma göstermiş ve tek bir mitokondriyal haplotip için stabil kalmıştır. Bu da sadece tek bir başarılı kurucu olay olasılığı anlamına gelmektedir. Her iki kıtadan gelen böcek popülasyonları ayrı ayrı incelendiğinde, popülasyon çeşitliliği Kuzey Amerika popülasyonları ve Avrupa popülasyonları

arasında karşılaştırılabilir. Bu nedenle, aynı haplotipin birden fazla oluşumu Avrupa'daki böcek istilasının nedeni olabilir.

Coğrafi olarak çeşitlilik içeren böcek popülasyonları arasındaki gen akışının derecesi oldukça belirsizdir. Dağılım frekansı ve ardından gelen gen akışı nispeten düşük olabilir (Grafius 1995). mtDNA markörleri ve AFLP'ler kullanılarak Kuzey Amerikalı böcekler üzerinde yapılan çalışmalarda, halihazırda gözlemlenen popülasyonlar arasında güçlü bir ayırım bulunmuştur. Kromozomal çalışmalar tür içinde üç farklı ırkın varlığını önermiştir. Fenotipik varyasyonların analizi, örneğin erginlerin pronotalarındaki benek desenlerinin dokuz varyasyonu, Doğu Avrupa'da böceğin en az beş farklı popülasyon kompleksinin kurulmasına yardımcı olmuş, ardından Kuzey Kazakistan ve Orta Asya'da iki kompleks eklenmiştir (Fasulati 1993). Bu yedi popülasyon kompleksinin taksonomik konumları henüz tanımlanmamıştır. Coğrafi ırklara olası yakınlıkları 1933 yılında önerilmiştir.

2.1.4. Zararlı Durumu

Dünya çapında, patates yapraklarında yaprak dökülmesine neden olan en zararlı böcek patates böceği'dir. Larva döneminde, tek bir böcek yaklaşık 40 cm² patates yaprağı tüketirken, ergin günde yaklaşık 10 cm² tüketir (Ferro ve ark. 1985). Böcekler, kolonileşmiş bitkilerin tüm yapraklarını tükettikten sonra gövdeler ve görünür yumrularla beslenirler. Ancak, yapraklarla karşılaştırıldığında, bunlar yetersiz bir diyet oluşturur ve zayıf larva büyümesine ve erginler tarafından yumurtlamanın sona ermesine neden olur. Böcek çok üretkendir ve bir dişi 300-800 yumurta bırakır (Harcourt 1971). Örneğin, 1980 yılında Hare tarafından yapılan bir çalışmada %70 yaprak dökümü sonrasında verimde %20 azalma gözlenirken, tam yaprak dökümü sonrasında verimde %64 azalma gözlenmiştir.

Cranshaw ve Radcliffe tarafından 1980 yılında yapılan bir başka çalışmada, sırasıyla %33 ve %67 yaprak dökümünden sonra bitkilerde tam iyileşme ve küçük verim azalması gözlenmiştir. 1981'de yapılan bir çalışmada, yaprak alanının %29'unu kaybettikten sonra patates verimi üzerinde herhangi bir etki bulunmamıştır (Wellik ve ark. 1981). Verim kaybı verilerinin oldukça değişken olması nedeniyle analiz genellikle zordur (Nault ve Kennedy 1998). Ayrıca, ticari çiftçilerin mahsullerinde böcek istilasına

karşı toleransları bulunmamaktadır. Sonuç olarak, zarar vermeyen seviyelerdeki istilalar bile, genellikle böcek öldürücü spreyleyler şeklinde kontrol önlemlerine neden olmaktadır.

2.1.5. Çevresel Uyum - Diyapoz

Patates böceği'nin komşu çevreye uyum sağlama yeteneği ve kültür patateslerinin bir haşeresi olarak başarısı çoğunlukla diyapozdan kaynaklanmaktadır. Diyapoz, böceğin orijin merkezine kıyasla çok daha soğuk iklime sahip bölgelerde kolonileşmesine izin veren önemli bir role sahiptir (Biever ve Chauvin 1990). Dahası, diyapoza giren bireyler, böcek ilacı uygulamaları gibi tüm felaket olaylarını olmasada bazılarını atlatır ve koşullar uygun hale geldiğinde popülasyon boyutlarını eski haline getirme yeteneğine sahiptir. Ergin evrede, kısa günlük fotoperiyotla teşvik edilen ve sıcaklık, gıda durumu gibi faktörlerle kontrol edilen fakültatif kışlama diyapozuna sahiptirler. Aydınlik ve karanlık saatlerin tam oranı popülasyonlar arasında farklılık göstermektedir. Diyapoz, juvenil hormon esteraz kodlayan genler (Vermetten ve ark. 1999), vitellogenin ve birkaç özel diyapoz proteini (Yocum 2003) ile birlikte bir kaç farklı gen gibi çeşitli faktörler tarafından kontrol edilir.

Böcek popülasyonları içinde diyapoz fenotiplerinde bir çeşitlilik vardır. Yocum ve arkadaşları 2011 yılında tarla koşulları altında böceğin diyapoz ilerlemesini izlemek için Multiplex PCR protokolü geliştirmiştir. Haziran ayında 17 saate kadar gün ışığında bazı böceklerin diyapoza girdiğini tespit etmişlerdir. Diyapoz gelişiminin zamanlamasında mevsimler arası belirgin bir farklılık gözlenmiştir, örneğin gün uzunluğu 15 saatin altına düştükçe farklılıklar da azalmıştır. Diyapoz başlatma aşamasından sonra, bazı böcekler toprağa gömülürken, diğerleri uçarak veya yürüyerek tarla sınırlarında bulunan uzun ağaç ve çalı silüetlerine doğru ilerler (Weber ve Ferro 1993; French ve ark. 1993).

Kışlama alanlarına ulaştıktan sonra gizlenme arayışında, böceklerin çoğu toprağı 10 ila 25 cm derinliğe kadar kazar. Hayatta kalma şansı derinlik arttıkça artar (Lashomb ve ark. 1984; Weber ve Ferro 1993; Hunt ve Tan 2000). Ekstra enerji, daha fazla kazma için diyapoz boyunca kısa miktarlarda sağlanmaktadır. Diyapoz durumundaki böceklerin uçuş kasları, şiddetli kış koşullarında hayatta kalabilmek için önemli ölçüde dejenerasyona uğrar (Stegwee ve ark. 1963).

Sıcaklık 10 °C'nin altına düştüğünde diyapoz sona erer. Buna rağmen, böcekler yaklaşık 3 ay süren refraktör aşamasında çevresel koşullardaki değişikliklere tepki göstermezler. Erkek ve dişi böcekler diyapozdan anında çıkar ve konukçu bitkileri yeniden kolonize etmek için daha erken çiftleşme evresine girer. Ortaya çıkış döneminde popülasyon içi önemli bir farklılık vardır ve bir dereceye kadar çevresel koşullara bağlı olabilmektedir. Ayrıca, böcekler kurak bölgelerde yaygın olan yaz aylarında aestivasyon veya diyapoza da girebilirler (Tower 1906). Bu iki diyapoz durumu arasında, süreleri genellikle daha kısa olsa da fizyolojik olarak benzerlik vardır (Ushatinskaya 1966). Ekolojik perspektif açısından aşırı sıcak ve kuraklığa adaptasyona yardımcı olur.

2.1.6. Konukçu Bitkilerle Etkileşimler

Patates böceği oligofag bir otçul olarak davranır ve yaklaşık 10 solanaceous bitki türünde istilaya neden olur. Önemli konukçu bitkiler patates (*Solanum tuberosum*), domates (*S. lycopersicum*) ve patlıcandır (*S. melongena*). Patates üzerinde beslenmek, Patates böceği için konukçu aralığının genişlediğini belirtir. Coğrafi olarak izole edilmiş böcek popülasyonları konukçu özelleşmesi göstermektedir. Hem görsel (Zehnder ve Speese 1987) hem de kokusal ipuçları böcekler tarafından patatesleri ve diğer konukçu bitkileri aramak ve kolonize etmek için kullanılır (Landolt ve ark. 1999). Aç böceklerde patates kokusuna karşı çekim daha güçlüdür. İlişkisel veya ilişkisel olmayan öğrenim, böceğin önceki beslenme deneyimine bağlı olarak bitki kokusuna verdiği tepkiyi yönlendirir (Visser ve Ave 1978).

Böcekler, konukçu bitkilerin farklı kokuları arasında ayırım yapma yeteneğine sahiptir. Çoğunlukla çiçekli bitkiler tarafından yayılan birçok yaprak uçucu maddesi patates kokusunu oluşturur (Visser ve ark. 1979). Böcekler, koku karışımında her bir yeşil yapraktan yayılan uçucu maddelerin oranlarına göre konukçu bitki türlerini ayırt ederler (Visser ve Ave 1978). (z)-3-heksenil asetat, (+/-) linalool ve metil salisilat, böcek erginleri için çekiciliğe neden olan yeşil yaprak uçucu maddelerinde bulunan üç ana bileşendir (Jermy ve ark. 1988). Böceklerin dağılması rastgele bir süreç olmasa da, muhtemelen tesadüfi karşılaşmalar yeni alanların kolonizasyonunda rol oynamaktadır. Nihai konukçu kabulü için, konukçu bitkilere ulaştıktan sonra tat duyusu kullanılır (Hsiao ve Fraenkel 1968; Hsiao 1988). Fagostimulan olarak görev yapan çok sayıda karbonhidrat, amino asit, fosfolipid, alkol, iki fitokimyasal ve klorojenik asit

tanımlanmıştır. Geri kalan ikincil bitki bileşikleri, toksisiteleri nedeniyle beslenme caydırıcıları olarak hizmet etmek için bitki yetiştiricilerinin ilgisini çekebilir (Szafranek ve ark. 2006).

2.1.7. Üreme – Gelişim

Genetik çeşitliliği, evrimsel plastisiteyi ve yeni habitata adaptasyonu en yüksek hale getirmek için patates böcekleri üreme davranışını bir strateji olarak kullanır. Patates böceği oldukça karışık bir türdür ve farklı partnerlerle birçok çiftleşme gerçekleştirir (Szentesi ve ark. 2002). Art arda çiftleşmeyi önlemek için erkekler çiftleşmeden sonra dişileri korur ve diğer erkeklere karşı agresif davranışlar sergiler (Edwards ve ark. 1997). Bu nedenle, erkekler tek bir dişi böceğe odaklanmak yerine çiftleşme dönemi boyunca farklı eşlerden tam olarak faydalanmak için uçuş aktivitelerini artırır (Alyokhin ve Ferro 1999). Cinsel olarak olgunlaşmış dişiler tarafından uzun mesafelerdeki erkekleri etkilemek için havadan yayılan bir seks feromonu üretilir (Edwards ve Seabrook 1997). Erkekler ve dişiler arasındaki kutiküler hidrokarbonların bileşimindeki farklılık, temas kemoresepsiyonu (Dubis ve ark. 1987) ile algılanan cinsiyetin tanınmasına yardımcı olur (Jermy ve Butt 1991). Boiteau (1988) dişinin spermatekasını tamamen doldurmak için en az üç çiftleşme gereklidir çünkü sperm transferi vakaların %5 ila %20'sinde gerçekleşmez (Thibout ve ark. 1982).

Orsetti ve Rutowski, 2003'te yapılan bir çalışmada, çiftleşmeler ile dişi verimliliği veya transfer edilen sperm arasında sayısal bir korelasyon bulunmamıştır. Buna karşılık, yumurtadan çıkma oranı çiftleşme sayısının artmasıyla belirgin bir şekilde azalmaktadır. İki farklı erkekle çiftleşme sürecinde erkek spermleri dişiye karışır ve ilk erkek yumurtaların %28-48'ini dölemeye devam eder (Boiteau 1988; Alyokhin ve Ferro 1999; Roderick ve ark. 2003). Uçuş aktivitesi dişilerin konak habitatları içinde ve arasında yumurta dağılımını sağlar. Olgunlaşan yumurtaların ağırlığı ve enerji ihtiyacı, çiftleşmiş böceklerin çiftleşmemiş dişilere kıyasla daha az uçmasına neden olur. Çiftleşmemiş dişiler, belki de bir eş bulma çabasıyla, gelişmiş bir uçuş eğilimi gösterirler. İlkbahar mevsiminde diyapozun sona ermesinden sonra, böcekler genellikle çiftleşir (Ferro ve ark. 1999). Bir deneyde radyasyon uygulanarak kısırlaştırılan erkek böcekleri, ilkbahar çiftleşmesinde aktarılan spermin, geçen yıl kışlayan çiftleşmede aktarılan spermden daha fazla tercih edildiğini göstermiştir (Baker ve ark. 2005). Çiftleşme durumunun, yaz

nesli böceklerin aksine diyapoz sonrası böceklerin uçuş aktivitesi üzerinde bir etkisi yoktur (Ferro ve ark. 1999).

Yaz nesli dişileri, pupa döneminden itibaren genellikle en az 51 derece gün toplayana kadar yumurtlamaya başlamazlar (Alyokhin ve Ferro 1999). Yumurtadan ergine gelişim 14 ila 56 gün arasında sürer (Ferro ve ark. 1985; Logan ve ark. 1985). Etkili gelişim eşiği 10°C'dir, 25° ila 32°C'deki böcekler en hızlı gelişimi gösterir ve bu aralık farklı coğrafi popülasyonlar arasında farklılık gösterir. Büyüme oranları, böcekler gibi poikilotermik organizmaları temsil eden bir eğri göstermektedir (Logan ve ark. 1976). Eşik sıcaklıktan optimum sıcaklığa doğru artan eğri, optimumdan ölümcül derecede yüksek sıcaklığa doğru hızla azalan bir eğriye dönüşür.

Yumurtadan çıktıktan sonra, böceğin larvaları genellikle birbirlerini kanibalize eder ve bu da toplam böcek ölümlerinin %10'undan fazlasına neden olur. Larva gelişiminin tamamlandığı toprakta pupa genellikle 5-12 cm derinlikte gerçekleşir (Fejtaud 1938). Davranışsal termoregülasyon, hem larvalarda hem de ergin böceklerde, ortam sıcaklıklarına kıyasla fizyolojik gelişim için vücut sıcaklıklarını optimumda tutabilmeyi sağlar. Orta dereceli hava sıcaklıklarında, beslenme ve dinlenme genellikle güneş radyasyonuna maruz kalma oranını artırmak için yaprakların üst yüzeyinde gerçekleşir. Yüksek hava sıcaklıklarında ise vücut sıcaklıkları birkaç dereceye yükselir ve larvalar patates kanopisinin iç kısmına doğru eğilir veya yaprakların altına saklanır (Lactin ve Holliday 1994).

2.1.8. Hareket ve Dağılma

Patates böceği'nin adaptasyon için kullandığı stratejiler dağılma ve göçü içerir. Diyapoz gibi fakültatif göç gösterirler. Böcekler çoğunlukla uygun çevresel koşullarda larva gelişim alanlarının genel çevresinde sonsuza kadar yaşarlar (Grafius 1995). Bununla birlikte, uygun olmayan koşullarda 100 km'ye kadar uzun mesafeler boyunca yolculuk yapabilirler. Patates Böceği'nin yaşam sürecinde farklı ekolojik roller oynayan üç farklı uçuş tipi alçak irtifa, düz ve diyapoz uçuşudur (Voss ve Ferro 1990). Bir tarla içinde yumurtaları dağıtmak, eş bulmak ya da daha az yaprak dökmüş konukçu bitkilere doğru göç etmek için böcekler, konukçu habitat etrafında sık sık rotasyonlarla düşük irtifa uçuşu gösterirler.

Yeni habitatta kolonileşmek için, 100 metreye kadar mesafeyi kapsayacak şekilde düz, sık sık rüzgar yönünde bir uçuş takip edilir (Caprio ve Grafius 1990). Sonucusu ise patates tarlalarına komşu yüksek bitki örtüsüne doğru yapılan alçak irtifa uçuşu olan diyapoz uçuşudur (Voss ve Ferro 1990). Uçma eğilimleri hem cinsiyetten hem de üreme durumundan etkilenebilir. Dişilerden çok daha fazla sayıda erkek, muhtemelen eş bulmak için yerel uçuş faaliyetlerine katılır (Voss ve Ferro 1990).

Uçarak hareket etmek birçok amaç için gereklidir, örneğin yeni habitatlarda kolonileşmek, elverişsiz çevresel ortamlardan kaçmak, ayrılan popülasyonlar arasında gen akışını sağlamak gibi. Yürüme, böceğin dağılımına ve kışlama alanları ile konak habitatları arasındaki transfere yardımcı olsa da, düşük hızları ve ikinci olarak yüzlerce metreye kadar yürüyememeleri nedeniyle nispeten daha az önemlidir (Ng ve Lashomb 1983).

2.1.9. Kontrol Süreci

Hiçbir yöntem patates böceğinin kontrolü için kalıcı bir çözüm sağlayamaz. Çok çeşitli yaşam öyküsü nedeniyle kontrol açısından zorlu bir böcektir. Böcekler diyapoz, beslenme, dağılıma ve üremeyi ekolojik bir "bet-hedging" yaklaşımına dahil eder ve yavrularını hem zaman (mevsimler içinde ve arasında) hem de mekan (konukçu habitatları içinde ve arasında) içinde dağıtır. Tehlikeli ortam koşullarına aşırı uyum sağlama yetenekleri ve insanların çoğunlukla böcek öldürücü spreyle sınırlı olan kontrol çabaları da başarısızlığın nedenlerinden biridir. Yüz otuz beş yıllık yanlış böcek yönetiminden bugüne kadar önemli bir fark yoktur.

Kimyasal olmayan yöntemlerle yapılan mücadele bile haşere kontrolü için asla sürdürülebilir bir kaynak olmayacaktır. Patates böceğinin kendisi gibi ilerleyebilmek için esnekliğe ve uyum yeteneğine ihtiyaç vardır. Çeşitli kontrol tekniklerinin geniş kapsamlı ve dinamik bir haşere yönetimi yaklaşımına bilim temelli olarak dahil edilmesi, patates ürünlerinin ekonomik olarak uygulanabilir ve çevre dostu güvenliği için tek seçenektir.

2.2. Ürün Bozan Patojenler

Ürün bozan patojenler, gıdaların bozulmasına ve insan sağlığına zarar veren mikroorganizmalardır (Mead ve ark. 1999). Bu patojenler (örneğin virüsler, bakteriler, parazitler) gıdalarda çoğalabilir ve üreme koşulları uygun olduğunda gıdaların kalitesini düşürüp insan sağlığını tehlikeye atabilmektedir. Bakteriler gıda kaynaklı hastalıkların en yaygın nedenidir ve çeşitli şekil, tür ve özelliklerde bulunmaktadır. *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* gibi bazıları spor oluşturma yeteneğine sahiptir ve bu nedenle ısıya oldukça dayanıklıdır (Bacon ve Sofos, 2003). Bazıları ısıya dayanıklı toksinler üretebilmektedir, örneğin *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*. Çalışmamızda kullandığımız ürün bozan patojenlerin morfolojik ve biyokimyasal özellikleri burada belirtilmiştir.

Tablo 2.2. Bakterilerin morfolojik ve biyokimyasal özellikleri

Özellikler	<i>Pseudomonas tomato</i>	<i>Agrobacterium vitis</i>	<i>Erwinia carotovora</i>	<i>Rathayibacter iranicus</i>	<i>Rathayibacter tritici</i>
Taksonomik Sınıflandırma	Gammaproteo bakteriler	Alphaproteo bakteriler	Gammaproteo bakteriler	Actino bakteriler	Actino bakteriler
Hücre Morfolojisi	Çubuk şekilli	Çubuk şekilli	Çubuk şekilli	Çubuk şekilli	Çubuk şekilli
Hareketlilik	Hareketli	Hareketsiz	Hareketsiz	Hareketsiz	Hareketsiz
Gram Boyası	Gram-negatif	Gram-negatif	Gram-negatif	Gram-pozitif	Gram-pozitif
Hücre Duvarı Bileşimi	Peptidoglikan	Peptidoglikan + dış membran	Peptidoglikan + dış membran	Peptidoglikan + dış membran	Peptidoglikan
Patojenlik	Bitki patojeni	Bitki patojeni	Bitki patojeni	Bitki patojeni	Bitki patojeni
Konak aralığı	Domates	Üzüm asması	Çeşitli bitkiler	Otlar	Buğday

Patojenlerin çoğu mezofiliktir ve optimum büyüme sıcaklığı 20 °C ila 45 °C arasında değişmektedir. Ancak, *Listeria monocytogenes* ve *Yersinia enterocolitica* gibi gıda kaynaklı bazı patojenler (yani psikrotroflar) 10 °C'den daha düşük sıcaklıklarda üreyebilmektedir (Mead ve ark. 1999).

Ürün bozan patojenler genellikle gastrointestinal hastalıklara neden olurken, ciddi şekilde akut hastalık ve hayatı tehdit eden komplikasyonlar da oluşabilmektedir. Tüm ürün bozan patojenlerden kaynaklı hastalık vakalarının belki de %2-3'ünde artrit, hemolitik üremik sendrom, zeka geriliği ve kalp hastalığı gibi komplikasyonlar gelişmektedir. Aynı patojenler diğer birçok ülkede bulunsa da, patojen rezervuarlarında coğrafi farklılıkların yanı sıra gıda tüketim alışkanlıklarındaki kültürel farklılıklar her ülkenin risklerini benzersiz kılmaktadır (Mossel 1988)

Bir ülkenin gıda tedarikinde ürün bozan patojenlerin bulunması yerel nüfusun sağlığını etkilemekle beraber, o ülkeye gelen ziyaretçilere ve gıda ürünleri ithal eden ülkelerdeki tüketicilere yayılma potansiyelini de temsil etmektedir. Her yıl yaklaşık 3.3- 12.3 milyon gıda kaynaklı hastalık vakası ve 3900 kadar ölüm vakasının ABD'ye tahmini olarak 6.5- 34.9 milyar dolara zarar verdiği bildirilmiştir (Buzby ve Roberts 1997).

2.3. Biyolojik Aktiviteler

2.3.1. Antibakteriyel aktivite

Sentetik antibakteriyel bileşiklerin yaygın kullanımı, bulaşıcı hastalıkların kontrol altına alınmasında ve halk sağlığının sağlanmasında çok önemli bir rol oynamıştır. Ancak antibiyotik direncinin gelişimi, çevresel kirlenme ve potansiyel sağlık risklerine dair endişeler, doğal alternatiflerin araştırılması zorunluluğunu ortaya çıkarmıştır. İlk olarak, antibiyotik direnci küresel bir kriz olarak ortaya çıkmış ve birçok geleneksel antibakteriyel ilacı bir zamanlar yönetilebilir enfeksiyonlara karşı etkisiz hale getirmiştir. Bitkilerden, mantarlardan ve diğer biyolojik kaynaklardan elde edilen doğal antibakteriyel bileşikler genellikle farklı kimyasal yapılara sahiptir ve bu da bakterilerin direnç geliştirmesini daha az olası hale getirir (Saadoun ve ark. 2022).

Buna karşılık, doğal antibakteriyel maddeler biyolojik olarak daha kolay parçalanabilir ve uzun vadede çevresel kirlenme riski daha düşüktür. Ayrıca ortaya çıkan kanıtlar, bazı sentetik antibakteriyel bileşiklere uzun süre maruz kalmanın insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri olabileceğini göstermektedir. Çalışmalar, antimikrobiyal triklosan endokrin bozulması ve bağırsak mikrobiyomunun potansiyel bozulmasıyla bağlamıştır. Doğal antibakteriyel maddelerin kullanılması, sağlık üzerinde olumsuz etkileri olmayan

daha güvenli bir alternatif sunabilir (Eleftherianos ve ark. 2021). Bu vücudun bağışıklık tepkisini ve genel refahını artırarak basit antibakteriyel etkinin dışında ek sağlık faydaları sağlayabilir.

Böceklerin ve onlardan elde edilen maddelerin antimikrobiyal özellikleri, antibiyotik direncine karşı artan endişeler ve alternatif antimikrobiyal maddelere duyulan ihtiyaç nedeniyle dikkat çekmiştir. Böcekler, bağışıklık tepkilerinin bir parçası olarak antimikrobiyal peptitler (AMP'ler) adı verilen çok çeşitli küçük proteinler üretmektedir (Ali ve ark. 2020). Bu peptitler bakteri ve mantarların hücre zarlarını hedef alıp bozarak yok olmalarını ve geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteye sağlayabilmektedir. Araştırmacılar bu doğal bileşikler tıbbi uygulamalar, gıda güvenliği ve antimikrobiyal aktivitenin önemli olduğu diğer alanlardaki potansiyelleri açısından incelemektedir (Eleftherianos ve ark. 2021).

2.3.2. Antioksidan aktivite

Sentetik antioksidanlar, oksidasyonu engelleme ve ürünün kullanım süresini uzatma özellikleri ile gıda işleme, kozmetik ve ilaç dahil olmak üzere çeşitli sektörlerde uzun süredir kullanılmaktadır. Ancak, sağlık riskleri, çevresel etkiler ve değişen tüketici tercihlerine dair artan endişeler, sentetik antioksidanların doğal kaynaklarla değiştirilmesi ihtiyacını ortaya çıkarmıştır. İlk olarak, sağlık faydaları bu değişimi sağlayan önemli bir faktördür (Di Mattia ve ark. 2019). Meyve, sebze ve diğer bitkisel veya hayvansal kaynaklı doğal antioksidanlar, antioksidan özelliklerinin dışında ek sağlık avantajları sağlayan bir çok fitokimyasal, vitamin ve minerale sahiptir. Bu bileşikler genel sağlığa katkıda bulunur ve kronik hastalık riskinin azalmasıyla bağlantılıdır.

Bazı sentetik antioksidanlar tüketiciler ve yasal otoriteler arasında dikkatli olunmasına neden olmuştur. Bu bileşikler sınırlı miktarlarda kullanıldığında genellikle güvenli olarak kabul edilse de, tüketicilerin doğal alternatiflere artan tercihi üreticileri daha güvenli seçenekler keşfetmeye yöneltmektedir. Yenilenebilir kaynaklardan elde edilen doğal antioksidanların kullanılması sürdürülebilirlik hedefleriyle uyumludur ve çeşitli endüstrilerin çevresel etkilerini azaltmaktadır. Ayrıca, tüketici tercihleri de bu geçişte önemli bir rol oynamaktadır. Tüketiciler sağlık ve çevre konusunda daha bilinçli hale

geldikçe, doğal ve organik ürünlere yönelik talep de artmaktadır. Üreticiler ürünleri için doğal antioksidanlar aramaktadır.

Birçok canlı organizma gibi böcekler de oksidatif stresin zararlı etkilerini önlemek ve hücrel sağlıklarını korumak için antioksidanlar üretmektedir. Yapılan birçok çalışma, böceklerin C ve E vitaminleri, karotenoidler, flavonoidler ve diğer fenolik bileşikler de dahil olmak üzere bir çeşit antioksidan içerdiğini göstermiştir (Giampieri ve ark. 2022). Spesifik antioksidan profili böcek türüne, beslenmesine ve fizyolojik durumuna bağlı olarak değişebilmektedir (da Silva Lucas ve ark. 2020).

Son yıllarda, sürdürülebilir bir antioksidan kaynağı olarak böceklerin potansiyeline artan bir ilgi bulunmaktadır. Böcekler, geleneksel çiftlik hayvanlarına kıyasla yüksek protein içerikleri, temel besin maddeleri ve potansiyel çevresel faydaları dolayısıyla popüler hale gelmiştir. Yenilebilir böceklerin antioksidan içeriği türlerine, gelişim aşamalarına ve işleme ve hazırlama yöntemlerine bağlı olarak değişebilir (Botella-Martínez ve ark. 2021). Böceklerin sağlığa faydalarını anlamak için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

2.4. Terapatik Kaynak-Dayanak Durumu

Doğada bulunan çoğu yapısal malzeme kompozit şeklinde inşa edilmiştir. Böcekler örneğinde, dış iskeletleri fiber takviyeli polimerik kompozitlere benzemektedir. Kütikülü oluşturan maddeler (şeker ve proteinler) yapısal sağlamlıktan ve termo oksidatif stabiliteden mahrum kalmaktadır. Ancak böcekler bu materyalleri yeni şekillerde kullanarak güçlü, sert ve hafif bir kompozit üretir ve bu kompozit aynı zamanda iyi bir hasar toleransına sahip olmaktadır.

Dış iskelet, böceklerin hayatta kalmasında ve adaptasyonunda çok önemli bir rol oynayan dikkat çekici ve çok yönlü bir yapıdır. Bir böceğin vücudunun en dış katmanını oluşturan dış iskelet, kitin, proteinler ve diğer maddelerin karmaşık bir düzenlemesinden oluşmaktadır. Dış iskelet, fiziksel zararlara, yırtıcılara ve çevresel zorluklara karşı bir koruma sağlamaktadır. Sklerotin gibi proteinlerle güçlendirilmiş olan katı ekzokütikülü, böceğin vücuduna yapısal güç ve destek sağlamaktadır. Bu arada, alttaki endokütikül esneklik sağlayarak deri değiştirme sırasında hareket ve büyümeye yardımcı olmaktadır.

Bu karmaşık sertlik ve esneklik dengesi, böceklere orman zemininden yukarıdaki gökyüzüne kadar çeşitli manzaralarda gezinmesine imkan vermektedir. Ayrıca, dış iskelet çeşitli adaptasyonlara sahiptir, duyuşsal kıllar ve sensilla yüzeyini kaplayarak böceklere çevrelerini dikkat çekici bir hassasiyetle algılama yeteneği vermektedir (Gunderson ve Schiavone, 1989). Özetle, dış iskelet böceklerin birçok farklı habitatta gelişmesini sağlar ve kalıcı başarılarını garantilemektedir.

Böcek vücutlarının moleküler özellikleri genetik yapılarından, gelişim süreçlerinden ve fizyolojik işlevlerinden etkilenmektedir. Kitin ve kütikül proteinleri, böcek vücudunun yapısına ve işlevine katkıda bulunan temel moleküler özelliklerden biridir. Kitin, böcek kütikülünün yapısal temelini oluşturan bağlı şeker moleküllerinden yapılmış karmaşık bir karbonhidrattır. Epidermal hücrelerdeki enzimler kitin sentezler ve bu kitin daha sonra kütikülü oluşturmak için katmanlar halinde düzenlenmektedir (Yoon ve ark. 2022). Resilin ve çeşitli yapısal proteinler de dahil olmak üzere kütikül proteinleri epidermal hücreler tarafından salgılanır ve kütiküle güç, dayanıklılık ve esneklik sağlamaktadır.

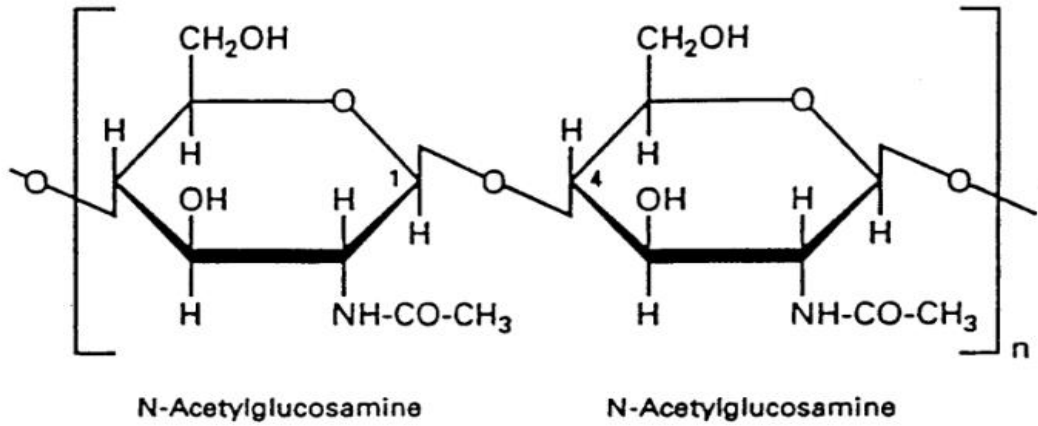
Hemolenf, pıhtılaşma faktörleri, bağışıklıkla ilgili proteinler ve hekzamerinler gibi depolama proteinleri dahil olmak üzere çeşitli proteinler içermektedir. Bunlar metamorfoz ve kaynak kıtlığı dönemlerinde amino asit kaynağı olarak hizmet etmektedir. Böcekler, antimikrobiyal peptitleri (AMP'ler) içeren doğuştan gelen bir bağışıklık sistemine sahiptir. AMP'ler, mikroorganizmaları hedef alan ve etkisiz hale getiren, böceğin patojenlere karşı savunmasına katkıda bulunan kısa proteinlerdir (Tufail ve Takeda 2008). Bu moleküler özellikler, böceklerde gözlemlenen çeşitli fizyolojik işlevlere, davranışlara ve adaptasyonlara toplu olarak katkıda bulunmaktadır.

Kabukluların kabuğunda, böceklerin kütiküllerinde ve mantarların hücre duvarlarında bulunan kitin, doğada en çok bulunan ikinci biyopolimerdir (Knorr 1984). Yapısal olarak kitin, β -1, 4-N-asetilglukozaminden oluşan düz zincirli bir polimerdir ve α -, β - ve γ -kitin olarak sınıflandırılır (Cabib 1981; Cabib ve ark. 1988). Alfa formu en yaygın türdür ve çoğunlukla kabuklu deniz hayvanlarının kabuklarında bulunur; burada antiparalel zincir düzenlemesi stabiliteyi artıran güçlü hidrojen bağları oluşturur. Paralel beta formundaki zincirler ise öncelikle mürekkep balığı gibi yumuşakçalardan elde

edilir. Gama tipi kitin böceklerin kokonlarında bulunur ve iki paralel ve bir anti-paralel kitin zincirinden oluşur. Beta formundan gama formuna dönüşmek mümkündür, ancak bunun tersi mümkün değildir (Marei ve ark. 2016).

Kaynağın ve kaynaқта bulunan kitin miktarının çeşitli kaynaklardan kitin izolasyonu üzerinde etkisi olduğu ve kaynağın kökeninin kaynağın kristallliği, saflığı ve polimer zinciri düzenlemesi üzerinde etkisi olduğu bildirilmiştir. Mercanlar, mantarlar ve böcekler yeni kitin kaynakları olarak potansiyel gösterse de; yengeç, karides ve kerevit genellikle ticari üretim için tercih edilmektedir. Kitinin moleküller arası hidrojen bağları ve kompakt yapısı, suda veya diğer yaygın çözücülerde çözünmesini engeller. Sonuç olarak, kitin kimyasal modifikasyonlara uğramaktadır (Peter ve ark. 1995).

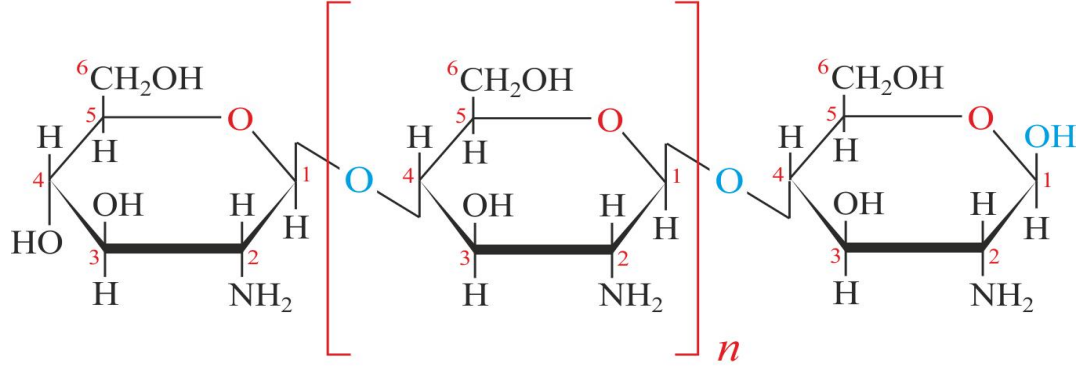
Kitinin kısmi N-deasetilasyonu ile elde edilen kitosan da glukozamin ve N-asetil glukozaminin düz zincirli bir polimeridir (Muzzarelli ve ark. 1997). α -kitin ve kitosan, antimikrobiyal aktivite (Kobayashi ve ark. 1996; Tokoro ve ark. 1989), biyouyumluluk, biyobozunurluk, hemostatik aktivite ve yara iyileştirme özellikleri gibi birçok faydalı biyolojik özelliğe sahiptir ve biyomedikal uygulamalarına çok dikkat edilmiştir (Farkas 1990; Fleet ve Phaff 1981).



Şekil 2.8. Kitinin kimyasal yapısı (Rao ve ark. 2018)

Bu özel özelliklerinden dolayı kitosan ve türevleri biyomedikal, gıda, tarım, biyoteknoloji ve ilaç alanlarındaki uygulamalar için önerilmiştir (Kumar 2000). Günümüzde, doğal bileşikler yeni antimikrobiyal maddeler arayan biyoteknoloji şirketlerinin odak noktasıdır (Tripathi ve Dubey 2004). Patates böceği'nden elde edilen kitosanın antioksidan özellikleri çok fazla çalışılmamıştır. Dolayısıyla, çalışmamızın

amacı *Leptinotarsa decemlineata*'nın antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinin belirlenmesidir.



β -(1,4)-D-glucosamine

Şekil 2.9. Kitosanın kimyasal yapısı (Rao ve ark. 2018)

Bu tez çalışmasının amacı, *Leptinotarsa decemlineata*'nın farklı ekstralarının ürün bozan patojenlere karşı antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi ve antioksidan özelliklerinin ortaya konmasıdır. Böylece literatüre katkı sağlanması hedeflenmiştir. Tüm çalışmalar ölçülebilir olup, reel ve lisansüstü tez kapsamında ulaşılabilir.

BÖLÜM 3

LİTERATÜR ÖZETLERİ

"Kapadokya bölgesi, Nevşehir ili ve çevresi *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824 (Insecta: Coleoptera: Chrysomelidae) türünün antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerinin araştırılması" adlı tez çalışmamızda doğrudan ve dolaylı olarak yararlandığımız literatürlere ait özet bilgiler aşağıda verilmektedir.

Patates böceği, dünya çapında patates ürünlerine verdiği zararla tanınmaktadır. Patates yetiştiriciliği de dahil olmak üzere tarımın büyük önem taşıdığı Kapadokya bölgesinde, özellikle Nevşehir ili ve çevresinde, *Leptinotarsa decemlineata*'nın biyolojik aktivitelerinin incelenmesi büyük önem taşımaktadır. Bu literatür özetleri, patates böceğinin tedavi edici özelliklerine dair mevcut bilgileri incelemeyi ve gerek Türkiye'de gerekse de dünyada önem taşıyacak yeni bilgileri ortaya koymaktır .

Birçok çalışma *Leptinotarsa decemlineata* ekstraktlarının antibakteriyel potansiyelini araştırmıştır. Çeşitli bölgelerde yapılan araştırmalar, böceğin *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi önemli patojenik bakterilerin büyümesini engelleme yeteneğini göstermiştir. Bu bulgular, patates böceğinin geniş spektrumlu antibakteriyel aktiviteler sergileyen biyoaktif maddelere sahip olduğunu göstermektedir (Efimenko ve ark. 2022).

Leptinotarsa decemlineata, antibakteriyel özelliklerinin yanı sıra önemli antioksidan aktiviteler de göstermiştir. Vücuttaki serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengesizlikten kaynaklanan oksidatif stres, çeşitli kronik hastalıklarla bağlantılıdır. *Leptinotarsa decemlineata* ekstraktlarının antioksidan potansiyeli DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ve ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)) radikal süpürme deneyleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar, böceğin oksidatif stresle

ilgili hastalıkların yönetiminde yardımcı olabilecek biyoaktif maddeler içerebileceğini göstermiştir (Kaya ve ark. 2014).

Nevşehir ili ve çevresini kapsayan Kapadokya bölgesi, zengin biyoçeşitliliği ve eşsiz ekosistemi ile bilinmektedir. *Leptinotarsa decemlineata*'nın antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin bu spesifik bölgede araştırılması sınırlı olsa da, diğer bölgelerde yapılan çalışmalar bu böceğin potansiyel biyolojik aktiviteleri hakkında bilgi sağlamıştır. *Leptinotarsa decemlineata*'nın farklı popülasyonları arasında biyoaktivite profillerindeki çeşitliliği anlamak, tür içindeki biyoaktif bileşiklerin üretimini ve ifadesini etkileyen faktörleri anlamamıza katkıda bulunabilir. Bazı araştırmalar, bu türün vücudunda bulunan alkaloidlerin antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Efimenko ve ark. 2022).

Kitinin en popüler türü, kitinin kısmen deasetilasyonu ile üretilen kitosandır. Deasetilasyon derecesi 0,5'ten yüksek olduğunda, kitosan katyonik bir elektrolit olarak işlev görür ve sulu asidik çözeltilerde çözünür. Kitosanın lifler, hidrojeller, süngerler ve membranlar dahil olmak üzere çeşitli formlarda şekillendirilebilmesi en önemli özelliklerinden biridir. Kitosan, çeşitli tarımsal, gıda koruma, biyomedikal ve farmasötik uygulamaların yanı sıra ilaçların ve ilaç dağıtım sistemlerinin geliştirilmesinde de kullanılmaktadır (Marei ve ark. 2016).

Algler, Mantarlar, Porifera, Anthozoa, Nematoda, Annelida ve Mollusca gibi birçok türün yanı sıra çok çeşitli eklembacaklıların (Insecta, Crustacea ve Arachnida) iskelet sistemlerinde kitin bulunmaktadır (Ehrlich ve ark. 2013a). Doğada selüloz olarak büyük miktarlarda bulunan kitin, biyoteknoloji, tarım, kozmetik, tıp ve biyo-esinli malzeme biliminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Ehrlich ve ark. 2013b). Ticari kitin, en yaygın ikinci doğal polimer olmasına ve birçok canlının dış iskeletini oluşturmasına rağmen çoğunlukla yengeç, karides ve kril gibi türlerden elde edilmektedir.

Sonuç olarak, bu türler kitin ve özellikleri üzerine yapılan daha önceki araştırmalarda en çok ilgiyi çekmiştir. Bal arısı, böcek, karasinek, yaban arısı ve ipek böceği gibi küresel olarak dağılmış birkaç böcek türünün kitin ve kitosan içeriği birkaç çalışmaya dahil edilmiştir. Bununla birlikte, pek çok ortak organizmanın kitin içeriği ve özellikleri

bilinmemektedir. Bu türlerden bazıları aniden öldüklerinde çevreye zarar vermekte ve dünyanın çeşitli yerlerinde aşırı popülasyon nedeniyle tarım arazileri için tehlikeli olmaktadır.

Dünya’da neredeyse iki milyon farklı böcek türü vardır ve bunların tümünün kütüküllerini kitin oluşturuyor. Bununla birlikte, kitin hasat etmek için böcekleri kullanma konusunda çok fazla araştırma yapılmamıştır. Uzmanlardan oluşan bir ekip son zamanlarda çok sayıda böcek kütükülünü inceledi. Yüzde on beş kitin içeriğine sahip olan *Holotrichia parallela* (böcek), Liu ve arkadaşları tarafından özellikle incelenmiştir (Liu ve ark. 2012a) ve bunun önemli bir kitin kaynağı olabileceğini keşfetmiştir. Zhang ve arkadaşlarına (2000) göre, ipekböceği krizalitleri de bir başka olası kitin kaynağıdır.

Kitosanın hemostatik, antibakteriyel ve antikanser etkilerinin yanı sıra yara iyileşmesini hızlandırma yeteneği de dahil olmak üzere bir çok potansiyel biyolojik özelliğe sahip olduğu keşfedilmiştir. Diğer doğal antimikrobiyallere kıyasla, kitosan daha fazla antimikrobiyal özellik, daha geniş bir etkinlik aralığı, memelilerin hücrelerine karşı daha düşük düzeyde toksisite ve daha yüksek bir mikrobiyolojik öldürme oranı sergilemektedir (Salmabi ve Seema 2013). Kitosan, birçok araştırmada Gram-negatif bakterilere karşı Gram-pozitif bakterilerden daha fazla antibakteriyel etkiye sahip olmuştur. Fakat farklı bir araştırmada Gram-pozitif bakterilerin daha hassas olduğu tespit edilmiştir (Kaya ve ark. 2014). Gram-negatif bakterilerin dış membranının bir bariyer olarak görev yapabileceğine dair bazı tahminler vardır.

Kitin yapısı ayrıca Arthropoda filumuna ait bir böcek türünden (*Palomena prasina*) ve Fungi krallığına ait *Palomena prasina* (Arthropoda filumu) olmak üzere üç tür seçilmiştir. Bir böcek türü olan *P. prasina* (yeşil koruma böceği) da Palearktık bölgelerde (Avrupa’da çok yaygın) geniş bir dağılım göstermesi nedeniyle kitin izolasyonu için seçilmiştir. Ayrıca *L. decemlineata* türü fındık, kiraz ve elma gibi bitkilere zarar vermekte ve aşırı çoğalarak istila oluşturmaktadır (Saruhan 2012).

Ayrıca, seçilen böcek türlerinin kitin yapıları hakkında daha önce herhangi bir çalışma yapılmamış olması da seçimimizin bir nedenidir. *Panicum repens*, *Fomes fomentarius*

ve *Palomena prasina* türlerinin tüm vücut yapılarının kuru ağırlığının yüzde kitin içeriği sırasıyla 13.3, 2.4 ve 10.8 olarak bulunmuştur. Böceklerin genel vücut yapılarının kuru ağırlığının %10-20 aralığında kitin içerdiği bilinmektedir (Kaya ve ark. 2014). Buna karşı kabuklu hayvan kabuklarının türlere göre %7 ile %40 arasında değişen kitin içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Görüldüğü gibi, bryozoan türlerinin kitin içeriği bazı böcekler ve kabuklu deniz hayvanlarının kabukları ile aynıdır.

Bir başka çalışmada, *Podophthalmus vigil*'den elde edilen kitosanın antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi ile gıda ve ilaç endüstrilerindeki potansiyel uygulamaları incelenmiştir. Bu araştırma, kitinin *Podophthalmus vigil*'den ekstrakte edilmesi ve kitosana dönüştürülmesi için bir yöntem sağlamıştır. *Podophthalmus vigil*'den elde edilen kitosanın 10 bakteri ve mantar türüne karşı antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir. *Podophthalmus vigil*'den elde edilen kitosanın önemli antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ve antioksidan kaynağı olarak, muhtemelen bir gıda katkısı veya ilaç endüstrisinde bir bileşen olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Gıda endüstrisinde doğal katkı maddeleri olarak büyük ilgi gören kitin ve kitosan ekstraktlarının sentetik antioksidanların yerini alabileceği kanıtlanmıştır (Prabu ve Natarajan 2012).

2015 yılında Mısır'da yapılan bir çalışma, böcek kaynaklı kitosanın deniz kaynaklı kitosana çevre dostu bir alternatif olma potansiyelini belirtmiştir. Bir başka çalışmada ise *Hermetia illucens*'ten elde edilen kitinin fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Bu araştırma, kitinin özelliklerini ve uygulamalarını değerlendirmek için farklı kaynaklardan elde edilen kitinin incelenmesinin gerekliliğini belirtmiştir (Wasko et al. 2016). Ancak bu çalışma sadece bir böcek türünden elde edilen kitine odaklanmış ve potansiyel olarak diğer böcekler veya kaynaklara uygulanabilirliğini sınırlamıştır.

Atık yönetimi potansiyeli olan ve yaygın olarak bilinen *Hermetia illucens*'in pupa exuviae ve ölü imago'sundan ekstrakte edilen kitinin fizikokimyasal yapısı araştırılmıştır. Bunlardan elde edilen kitinin fizikokimyasal özellikleri, literatürde diğer böcekler ve deniz omurgasızları için bildirilen özelliklerle karşılaştırılmış ve çeşitli alanlarda kullanılabileceği raporlanmıştır. Bu proje, artık biyokütlenin kitin ve kitosan gibi değerli maddelere dönüştürülmesi için *Hermetia illucens* larvalarının kullanımını

değerlendirmiştir. Larvalardan amorf kitin üretmek için yeni bir teknik oluşturulup ardından kristal kitin ve yüksek moleküler ağırlıklı kitosan elde edilmiştir.

Bir başka kitin kaynağı da böceklerdir ve bunların arasında kara asker sineği veya kara sinek olarak da bilinen *Hermetia illucens* bulunmaktadır. Son yıllarda kitin izolasyonu için birçok yöntem geliştirilmiş ve kullanılan hammaddeye bağlı olarak kitin izolasyon yöntemini deneysel olarak optimize edilmesi gerekmektedir. Insecta bir milyondan fazla türe sahip bir sınıftır, ancak bunlardan sadece birkaçı kitin yapıları açısından incelenmiştir (Zhang ve ark. 2000; Nemtsev ve ark. 2004; Gonil ve Sajomsang 2012; Liu ve ark. 2012a).

Önceki çalışmalardan farklı olarak, Kaya ve ark. (2014) aynı yöntemi kullanarak hamamböceklerinin kanatlarından ve diğer vücut kısımlarından ayrı ayrı kitin ekstrakte etmiştir. Her vücut parçası için farklı yüzey morfolojileri gözlemlemiştir. Bu sonuçlar, organizmaların farklı vücut kısımlarından izole edilen kitinlerin fizikokimyasal özelliklerinde bir çeşitlilik olduğunu göstermiştir.

Geçmişte, araştırmacılar sadece farklı böceklerin tüm vücudundan, böcek ve *Bombyx mori* larva kütüküllerinden ve pupa, *Apis mellifera* ve *Bombus terrestris*'in dış iskeletinden kitin ekstraksiyonuna odaklanmışlardır. Ancak bu çalışmada, büyük bir atık ve büyük bir çevresel endişe olduğu için ölmüş bal arıları alternatif bir kitin kaynağı olarak kullanılmıştır. Bu nedenle, kitin içeriğini, yüzey morfolojisini ve bozunma sıcaklığını analiz ettiler ve farklı vücut parçaları arasındaki varyasyonları belirlediler (Kaya ve ark. 2015).

L. decemlineata'nın kitin yapısı alfa formundaydı ve larva ve erginlerden ekstrakte edilen kitosan yapıları birbirine benzerdi. Ergin patates böceğinden ekstrakte edilen kitin, larvadan ekstrakte edilen kitinden daha yüksek termal stabiliteye sahipti. (Kaya ve ark. 2014). Hem ergin hem de larva kitosanlarının antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiş ve ergin patates böceğinin daha yüksek kitin içeriği, kitosan verimi, kitin saflığı ve antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri nedeniyle alternatif bir kitin kaynağı olarak larvadan daha uygun olduğu bulunmuştur.

2009 yılında Krishnan ve arkadaşları *Leptinotarsa decemlineata*'nın antioksidan koruma sisteminde glutatyon, askorbik asit ve E vitamininin önemini belirtmişlerdir. Patates böceğinin orta bağırsağındaki oksidatif stres etkileriyle birlikte GSH-AA redoks döngüsünün (Glutatyon-askorbik asit) kapasitesini incelemeye odaklanmışlardır. Çalışmada ayrıca *L. decemlineata*'da tiyoredoksin redüktazın (TrxR) varlığı, gen ifadesi ve aktivitesi ilk kez gösterilmiştir (Krishnan ve ark. 2009). Sonuçlar, GSH-AA redoks döngüsünün *L. decemlineata*'nın bağırsağında oksidatif strese karşı bir savunma stratejisi olarak potansiyel önemini ve işlevini göstermiştir.

Yapılan bir çalışmada, moleküler ağırlık ve deasetilasyon derecesi gibi fizikokimyasal parametrelerin kitosanın biyoaktiviteleri üzerindeki etkileri de incelenmiştir (El-hack ve ark. 2020). Bu makale yeni bir deneysel veriler sunmamıştır ve çıkarılan sonuçlar daha önce yayınlanmış araştırma çalışmalarının analizine dayanmaktadır.

Ceriodaphnia quadrangula ehippia'nın (su piresi) yumurtalarından elde edilen kitosanın çeşitli insan ve balık patojenlerine karşı antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. (Muxika ve ark. 2017). Günümüzde sentetik gıda katkı maddelerinin kullanımına dair katı kurallar vardır ve bazı sentetik antioksidanlar kanserojen özelliklere sahiptir (Qin,Y ve Li,P 2020). Bu nedenle, biyoteknoloji şirketleri sentetik ürünler yerine alternatif doğal ürünler geliştirmeye odaklanmıştır (Venkatesan ve Kim 2010). Son zamanlarda doğal ve sentetik ürünlere alternatif olan kitosan ve türevlerinin antioksidan aktiviteleri dikkat çekmektedir.

Meltem ve arkadaşları tarafından 2016 yılında yapılan bir çalışmada, *Ceriodaphnia quadrangula ehippia* yumurtalarından elde edilen ve tam olarak karakterize edilen kitosanın (Sonia ve Sharma 2011) antioksidan etkisinin yanı sıra çeşitli insan ve balık patojenlerine karşı antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri araştırılmıştır. *C. quadrangula ehippia*'dan elde edilen kitosanın bazı patojenik bakterilere karşı ticari antibiyotiklerden daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bulmuşlardır (El-hack ve ark. 2020).

Bu tez çalışmasının amacı, *Leptinotarsa decemlineata*'nın farklı ekstrelerinin ürün bozan patojenlere karşı antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi ve antioksidan özelliklerinin ortaya konmasıdır. Böylece literatüre katkı sağlanması hedeflenmiştir.



BÖLÜM 4

MATERYAL VE YÖNTEM

“Kapadokya Bölgesi, Nevşehir ili ve çevresi *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824 (Insecta: Coleoptera: Chrysomelidae) türünün antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerinin araştırılması” adlı tez çalışmamız; arazi çalışması ve laboratuvar çalışması olmak üzere iki aşamada gerçekleşmiştir.

4.1. Arazi Çalışması

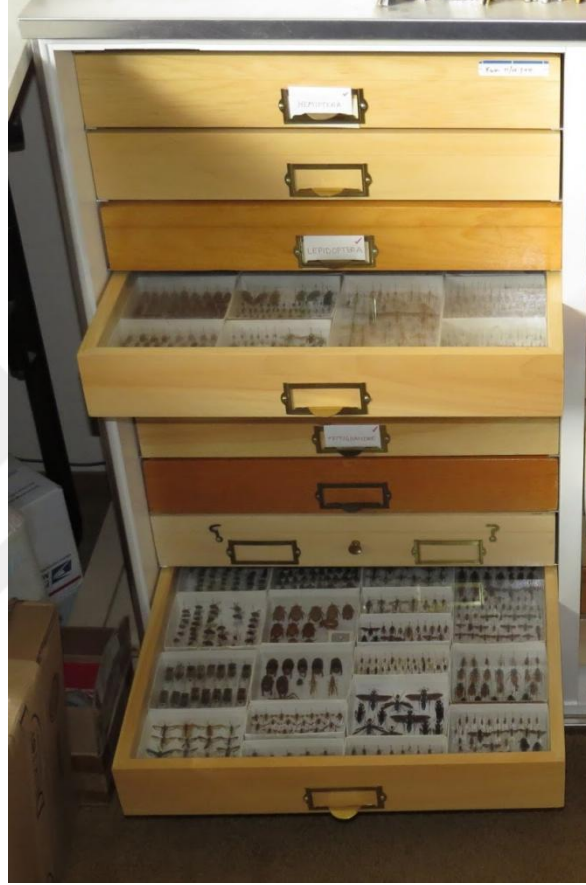
Tez çalışmamız kapsamında Mayıs 2021 - Ağustos 2022 ayları arasında Kapadokya Bölgesi, Nevşehir ili ve çevresinde çeşitli patates ekim alanlarında, özellikle ergin böceğin yoğunlaştığı zamanlarda ve farklı tarihlerde arazi çalışması yapılmıştır. Patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824) erginleri patates yapraklarından atrapla ve elle toplanıp, etil asetatlı şişelerde öldürülüp, ardından örnek saklama kaplarına konularak laboratuvara getirilmiştir (Şekil 4.1). *L. decemlineata* örnekleri, ağırlıklı olarak Ürgüp (Şekil 4.2) ve çevresindeki patates tarlalarından ve köylerdeki patates bahçelerinden, ilaçlama öncesi toplanmıştır.



Şekil 4.1 Ergin *Leptinotarsa decemlineata* örneklerinin tarladan toplanma süreci

Bu çalışmada yer alan patates böceği, dünya çapında yaygın bir türdür. Patates böcekleri petri kaplarında laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvara getirilen örnekler uygun şekilde kurularak muhafaza edilmiştir. Ayrıca örneklerin bir kısmı da teşhis ve etiketleme

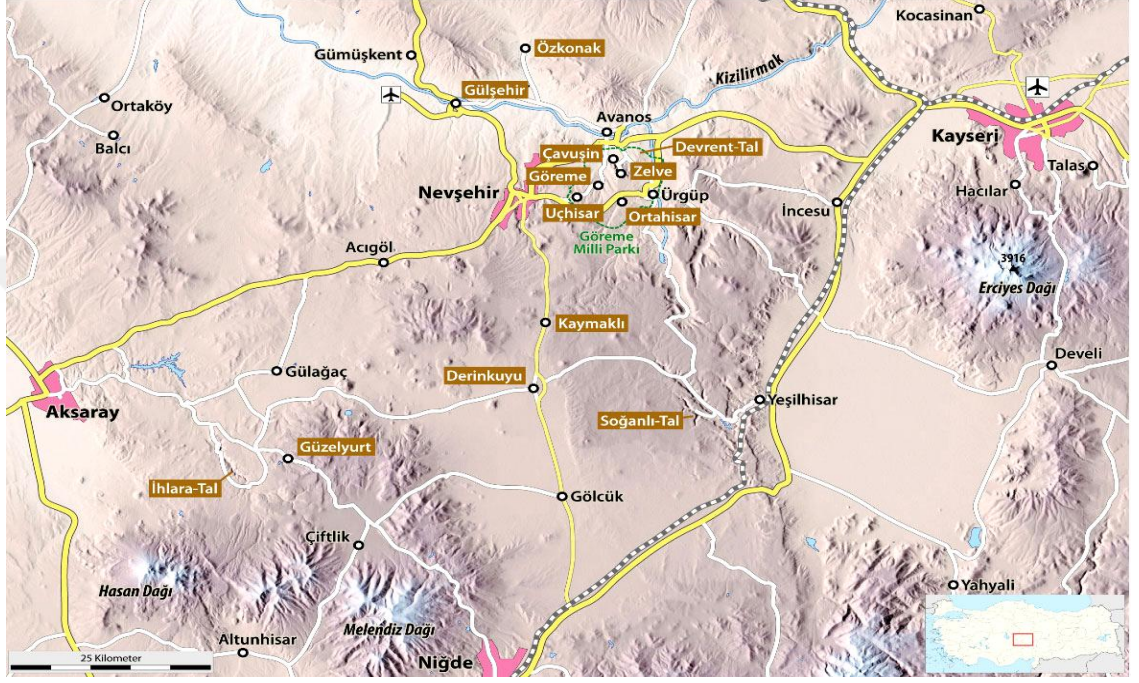
işlemleri sonrasında Müze materyeli haline getirilerek Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Entomoloji Araştırma Laboratuvarı böcek dolaplarında saklanmaktadır (Şekil 4.2). Arazi çalışmaları sırasında atrap, öldürme şişesi, etil asetat, pens ve toplama kutularından yararlanılmıştır.



Şekil 4.2. Böcek örnek materyallerinin saklandığı böcek dolabı

Teşhis işlemleri Dr. Öğr Üyesi Aysel Kekillioğlu tarafından mevcut literatür ve teşhis anahtarları doğrultusunda yapılmıştır (Kekillioğlu ve Yılmaz 2018a, 2018b; Jacques 1972; Arnett ve ark. 2002; Capinera 2001; Riley 1867; Walsh 1865). Patates böcekleri tarlalardan boyutları, oval ve hafif konveks şekilleri, parlak sarı ila turuncu renkleri, belirgin çizgileri ve desenleri gibi fiziksel özelliklerine göre toplanmıştır. Bu işlemin ardından örnekler, renklerinin solmasını önlemek ve çürümeyi yavaşlatmak için 60-70°F (15-21°C) civarında bir sıcaklıkta karanlık koşullarda saklanmıştır. Küf ve bakteri oluşumunu önlemek için nem seviyeleri nispeten düşük (yaklaşık %40-50) tutulmuştur. Örnekleri tozdan, haşerelerden ve fiziksel hasardan korumak için hava geçirmez kapaklı konteynerler ve petri kapları kullanılmıştır. Nemi emmesi için kapların içine silika jel

yerleştirilmiştir. Preparasyon işlemleri tamamlanan ve müze materyeli olarak saklanmak üzere hazırlanan örnek materyaller; toplandıkları lokaitelere ait; yer tarih, yükseklik, toplayıcı, koordinat vb. bilgiler ile etiketlenerek böcek dolaplarında muhafazaları sağlanmıştır.



Şekil 4.3. *Leptinotarsa decemlineata* numunelerinin toplandığı Ürgüp'ü gösteren Kapadokya haritası (WordPress.com site, 2013).



Şekil 4.4. *Leptinotarsa decemlineata* 'nın toplandığı Uçhisar (Kapadokya bölgesi)



Şekil 4.5. *Leptinotarsa decemlineata* örneklerinin toplandığı patates tarlası

4.2. Laboratuvar Çalışması

4.2.1. Organizmalar

Bu çalışmada altı mikroorganizma kullanılmıştır. Bu organizmalar *Agrobacterium vitis*, *Pseudomonas tomato*, *Erwinia carotovora*, *Rathayibacter iranicus*, *Rathayibacter tritici* ve *Pseudomonas putida*'dır. Bu mikroorganizmalar ürün bozan patojenlerdir.

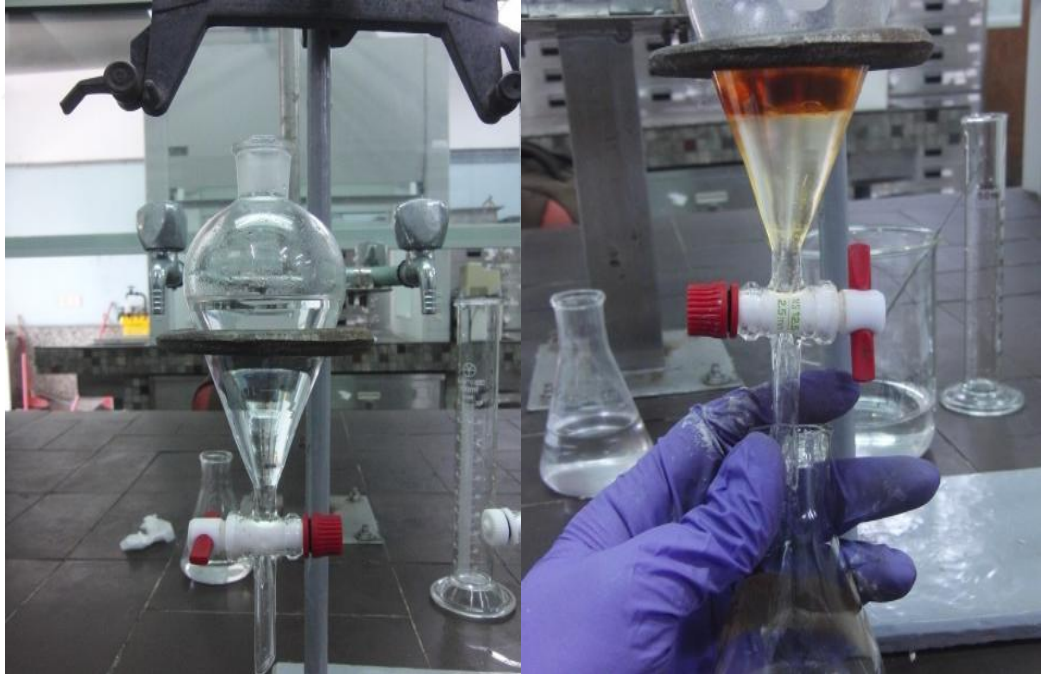
4.2.2. Organizma Materyalleri ve Ekstraksiyonları

L. decemlineata Say, 1824 örnekleri akan suda üç kez yıkanmış, son kez steril distile sudan geçirilerek yıkama işlemi tamamlanmıştır. Örnekler kurutulduktan sonra kullanılmaya kadar kuru ve güneş görmeyen bir yerde saklanmıştır. Örnekler depodan doğrudan kullanılmıştır. Deneyin gerçekleştirilebilmesi için 150 gram (Seles, Türkiye) ağırlığındaki *L. decemlineata* örneği havan tokmağı ile toz haline gelene kadar öğütülmüştür. 2 farklı çözücü ile ekstraksiyon işlemi için her biri 50 g ağırlığında örnekler hazırlanmıştır. Örnek materyali 50 gr olarak tartılıp , daha sonra bu numune 500 ml'lik beherlere alınıp üzerlerine ayrı ayrı olmak şartı ile etanol ve metanol

çözücüleri (300 ml) ilave edilerek ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. Bundan sonra tüm ekstrakter inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 4.6. Örnekleri ezme işlemi



Şekil 4.7. Ekstraksiyon işlemi

Daha sonra numunelerin ağızları açılarak çeker ocakta (Boren, Türkiye) çözücüleri uçuncaya kadar bekletilmiş ve geride şişelerde konsantre ekstraktlar bırakılmıştır. Çözücüleri uçan ekstrakter daha sonra kendi çözücüleri ile birlikte steril falkon tüplere alınmış ve +4°C' de kullanılıncaya kadar buzdolabında saklanmıştır. Tüm falkon tüpleri

parafilm ile sarılarak muhafaza edilmiştir. Numune ekstralarının konsantrasyonları 300 mg/ml olarak hazırlanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen ekstralarda verimler dikkate alınmıştır.

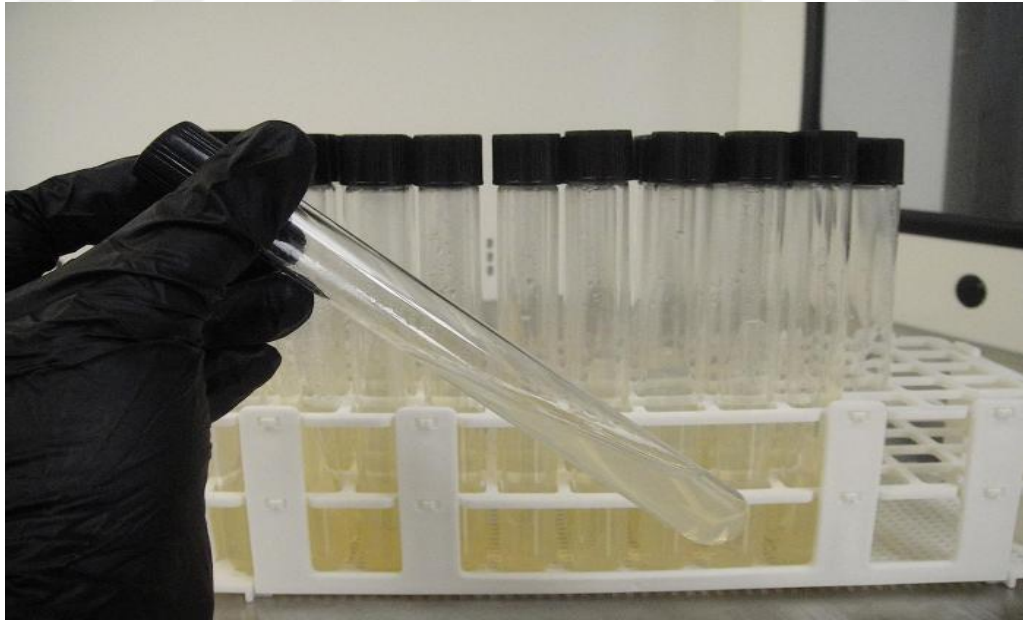
4.2.3. Patates Böceği veriminin belirlenmesi

Ekstraksiyon işlemi sonunda patates böceklerinin verimi aşağıda verilen formülden yararlanarak hesaplanmıştır.

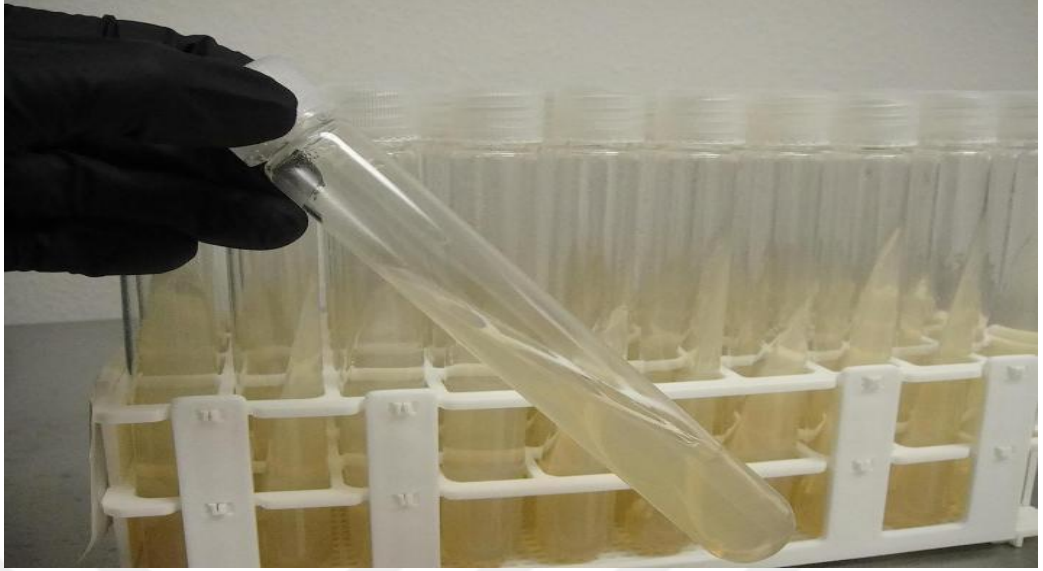
$$\text{Verim (\%)} = \frac{\text{ekstraktın ağırlığı (g)}}{\text{ham materyalin ağırlığı (g)}} \times 100 \quad (4.1)$$

4.2.4. Mikroorganizmaların kültivasyonu

Tüm organizmaların aktifleştirilmesi steril Nutrient Broth besiyerinde gerçekleştirilmiştir. Tüm plaklar 37°C'de 24 saat boyunca inkübasyona bırakılmış (Nüve EN 400, Türkiye) ve inkübasyon süresinin sonunda denemeler için kullanılmıştır. Saf kültürler ise steril yatık Nutrient Agar tüplerine inoküle edilmiş ve buzdolabı şartlarında (+4°C) saklanmıştır (Beko, Türkiye).



Şekil 4.8. Çalışmada kullanılan yatık besiyerleri

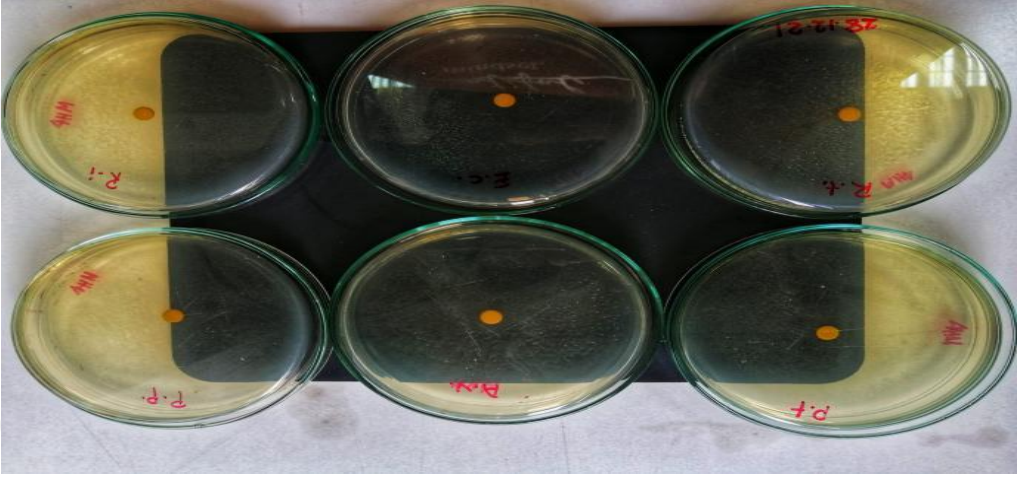
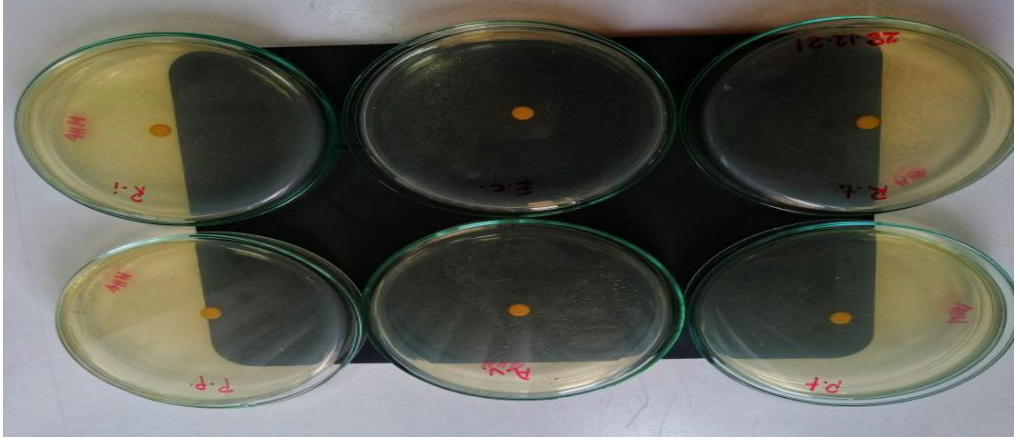


Şekil 4.9. Mikroorganizma inoküle edilmiş besiyerleri

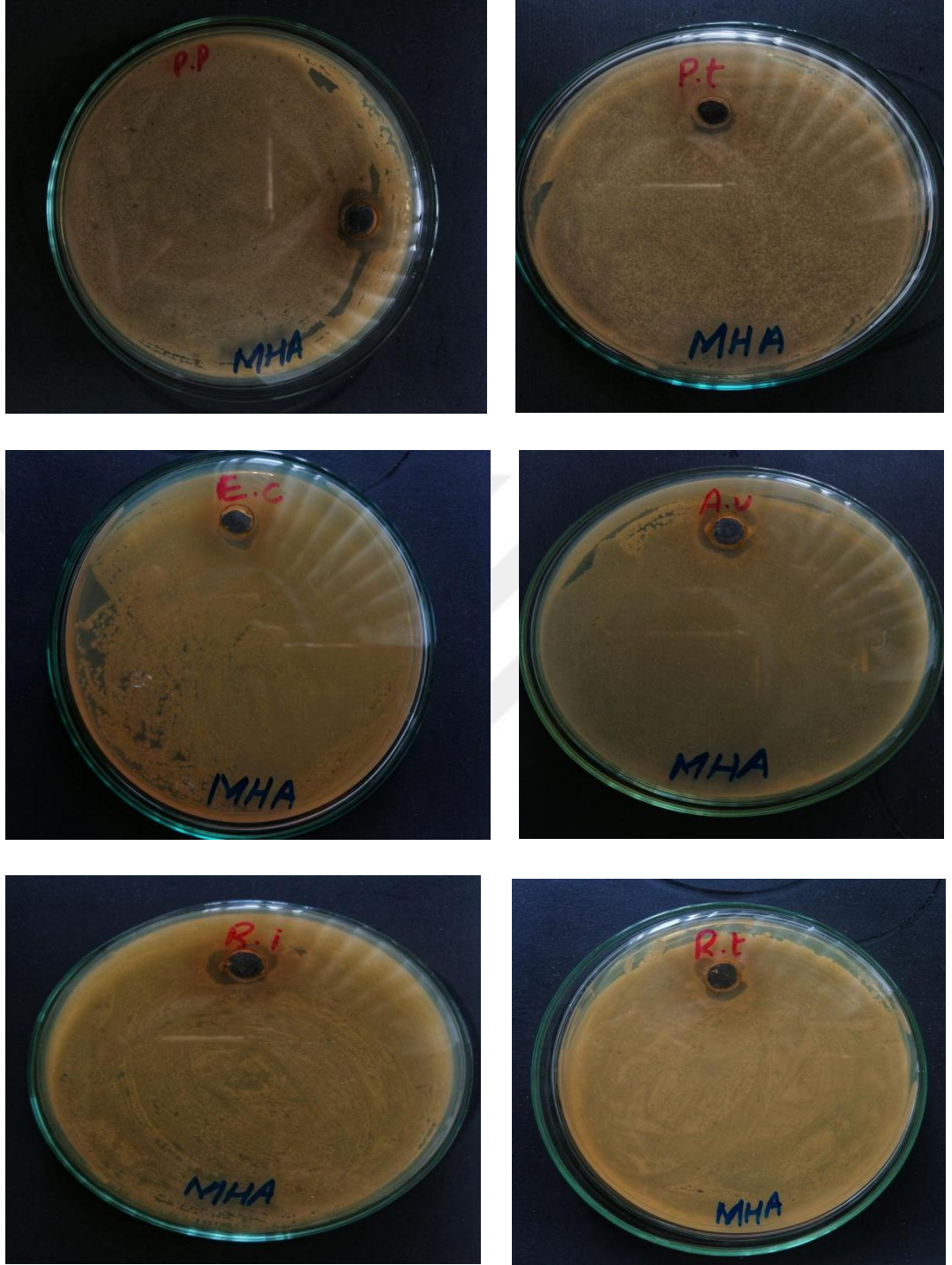
4.2.5. Antibakteriyel Aktivitenin Saptanması

L. decemlineata ekstrelerinin antibakteriyel aktiviteleri, altı patojene karşı disk difüzyon yöntemi (Bauer 1966) kullanılarak belirlenmiştir. Ekstrelerin konsantrasyonları 300mg/ml'ye ayarlanmıştır. Çalışmada kullanılan organik çözücüler etanol ve metanoldür. Çalışmada kullanılan besiyeri Mueller-Hinton Agar (MHA, Merck) olup, aktif kültürlerden alınan bakteriler besiyerlerine inoküle edilmiştir. Çalışmada kullanılan tüm besiyerleri 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Besiyerinin pH değeri bir pH metre ile 7'ye ayarlanmıştır.

Bakteri kültürlerinin konsantrasyonu ise 0,5 McFarland' a ($1,5 \times 10^8$ cfu/ml) ayarlanmıştır. Aktif test organizmalarından 0,1 ml alınarak plaklara aseptik şartlarda inoküle edilmiş ve ardından inokülüm plak yüzeyine bir drigalski spatula ile dağıtılmıştır. Besiyeri yüzeyinin fazla nemi emmesi için 15 dakika kurumaya bırakılmıştır. Boş disklerle (6mm) (Bioanalyse) 25µl ekstrelerden emdirilip aseptik şartlarda plak yüzeyine yerleştirilmiştir. 10 dakika difüze olması beklendikten sonra, kültürler inkübasyona bırakılmıştır (37°C, 24 saat). İnkübasyon süresi sonrasında inhibisyon zon çapları "mm" cinsinden ölçülerek kayıt altına alınmıştır. Çalışmada negatif kontrol olarak etanol ve metanol, pozitif kontrol olarak ise streptomisin (30µg) antibiyotiği kullanılmıştır.



Şekil 4.10. Disk difüzyon yöntemi



Şekil 4.11. Antibakteriyel aktivite çalışmalarına ait plaklar

4.2.6. Minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) Saptanması

Minimum inhibitör konsantrasyonu, sıvı dilüsyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır (Mazzanti ve ark. 2000; Devienne ve Raddi, 2002; EUCAST 2014). Antibakteriyel aktivite çalışmaları sonucunda inhibisyon zonu sağlanan bakterilere karşı minimum

inhibitör konsantrasyonu çalışmaları yapılmıştır. MİK değeri, inkübasyon sonrası gelişimi inhibe eden en düşük konsantrasyon olarak alınmıştır. Denemelerde kullanılan aktif kültürlerin konsantrasyonları 0,5 McFarland'a göre ayarlanmış olup, tüm denemeler 2 ml' lik Mueller-Hinton Broth besiyortamında gerçekleştirilmiştir.

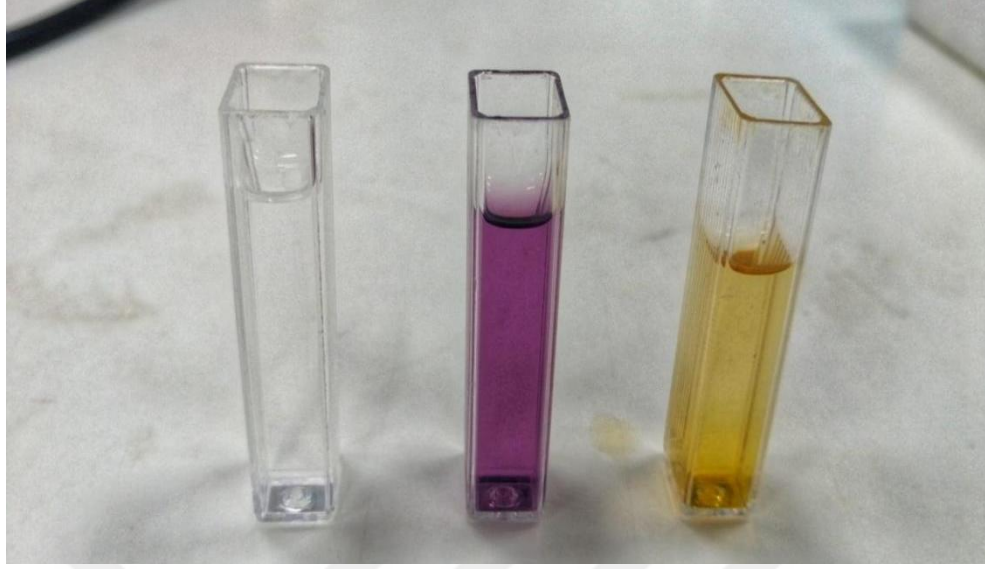
Antibakteriyel aktivite gösteren *Leptinotarsa decemlineata* ekstrelerinin minimum inhibitör konsantrasyonunu belirlemek amacı ile 13000; 6500; 3250; 1625; 812,5 µg/ml konsantrasyonlarında seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Bunların her birine aktif kültürlerden eşit miktarda (100µl) inokülasyon uygulanmıştır. Tüm denemeler 37°C'de 24 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon süresinin sonunda MİK değerleri saptanmıştır (CLSI 2003; CLSI 2006).

4.2.7. Enzimatik-olmayan antioksidan aktivitenin saptanması

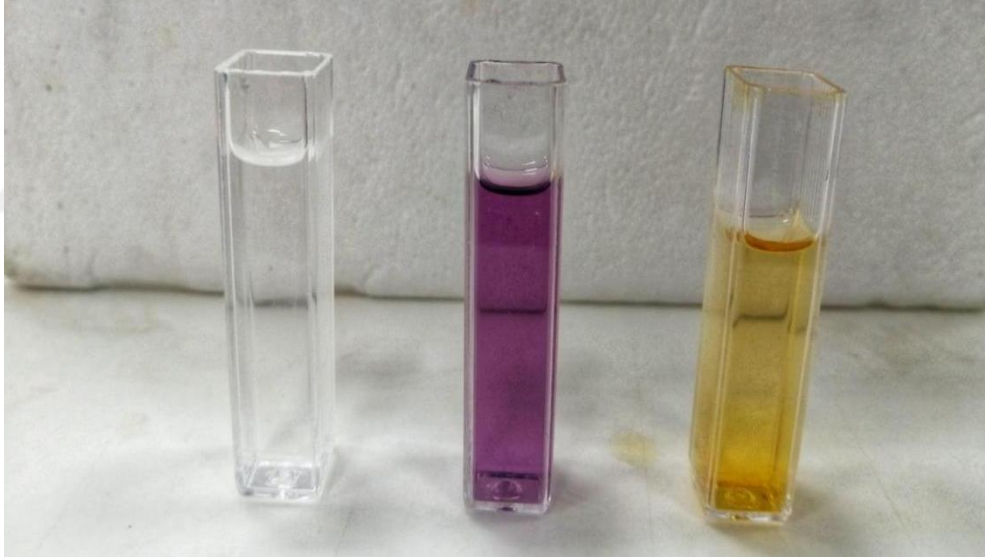
L.decemlineata ekstrelerinin antioksidan aktivitesini belirlemek amacı ile radikal süpürme aktivitesi incelenmiştir. Bu yöntemde radikal (DPPH) süpürme aktivitesi için 2,2- difenil-1-pikrilhidrazil kullanılmıştır. Ekstraktların serbest radikal süpürme aktivitelerini belirlemek için kararlı DPPH kullanılmıştır. DPPH süpürme aktivitesi Brand-Williams (1995) metoduna göre saptanmıştır. 0,1 ml *L. decemlineata* ekstresi 0,1 mM metanol DPPH solüsyonunun 2,9 ml'sine eklenmiştir ve 30 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra, ekstrelerin absorbansları spektrofotometre kullanılarak 515 nm'de ölçülmüştür. Metanollü DPPH solüsyonu kontrol, metanol ise kör olarak kullanılmıştır. Trolox ise referans antioksidan olarak kullanılmıştır. DPPH süpürme kapasitesi formülü kullanılarak hesaplanmış ve (%) olarak verilmiştir (Brand-Williams ve ark. 1995). Ekstraktların % radikal süpürme aktivitesi (RSA) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ RSA} = \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs örnek}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \quad (4.1)$$

Burada RSA, radikal süpürme aktivitesidir; Abs kontrol, DPPH radikali ve metanol absorbansıdır; Abs örnek DPPH radikali ve *L. decemlineata* ekstraktının absorbansıdır.



Şekil 4.12. *Leptinotarsa decemlineata*'nın metanol ekstraktının radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi



Şekil 4.13. *Leptinotarsa decemlineata*'nın etanol ekstraktının radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi

BÖLÜM 5

BULGULAR

5.1. Taksonomik Bulgular

5.1.1. Sınıflandırma

Leptinotarsa decemlineata Say, 1824

Domain: Eukaryota

Regnum: Metazoa

Phylum: Arthropoda

Subphylum: Uniramia

Classis: Insecta

Ordo: Coleoptera

Familia: Chrysomelidae

Genus: *Leptinotarsa*

Species: *Leptinotarsa decemlineata*

5.1.2. Sinonimler

Doryphora decemlineata Say 1824 (Stål, 1863)

Doryphora decemlineata Roger (Jermy ve Balázs 1990)

Leptinotarsa multitaeniata (Stål 1859) (Jacques 1988)

Chrysomela decemlineata Say 1824 (Stål 1865)

Leptinotarsa decemlineata (Kraatz 1874)

Leptinotarsa intermedia (Tower 1906) (Jacques 1988)

Leptinotarsa oblongata (Tower 1906) (Jacques 1988)

Leptinotarsa rubicunda (Tower 1906) (Jacques 1988)

Polygramma decemlineata Mlelić (Jermy ve Balázs 1990)

Polygramma decemlineata Mels (Balás ve Sáringer 1982)

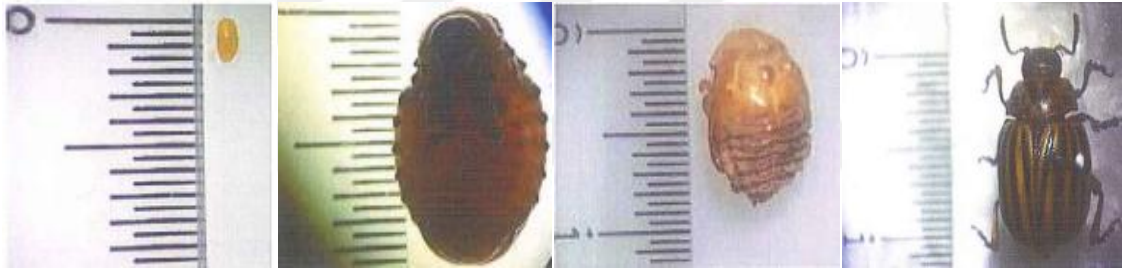
Leptinotarsa Chevrolat, 1837 = (*Chrysomela* Auct. = *Doryphora* Auct. = *Polygramma* Motschulsky, (1860)

5.1.3. Teşhis-Tanım-Biyomorfoloji-Ekoloji

L. decemlineata, tam başkalaşım gösteren yaşam sürecine ve yumurta, larva, pupa, ergin olmak üzere dört farklı yaşam formuna sahiptir.

I. Yumurta

Yumurtalar koni şeklinde, uzun ve oval yapıdadır. Yumurtalar sarı veya turuncu renkte, 0,7 mm genişliğinde ve 1,5-2 mm uzunluğundadır. Yumurtalar genellikle yaprağın alt yüzeyine dikey olarak 25-26'lı gruplar şeklinde, 9-49 adet arasında değişmekle birlikte nadiren yaprağın üst kısmına veya dal ve toprak üzerine tek tek, dağınık veya toplu olarak gruplar halinde bırakılmaktadır (Şekil 5.1).



Şekil 5.1 *Leptinotarsa decemlineata*'nın yumurta, larva (4. evre), pupa ve ergin formlarının ölçümleri

II . Larva

Larvalar, ilk dönemde 1,5 mm uzunluğunda, kiraz kırmızısı renkte, parlak siyah baş ve ayaklara sahiptir. Daha sonraki dönemlerde, larvalar soluk turuncuya doğru giderek soluklaşır ve vücudun her iki tarafında spirakülleri işaretleyen birkaç küçük siyah noktadan oluşan bir çizgi bulunmaktadır (Şekil 5.2).

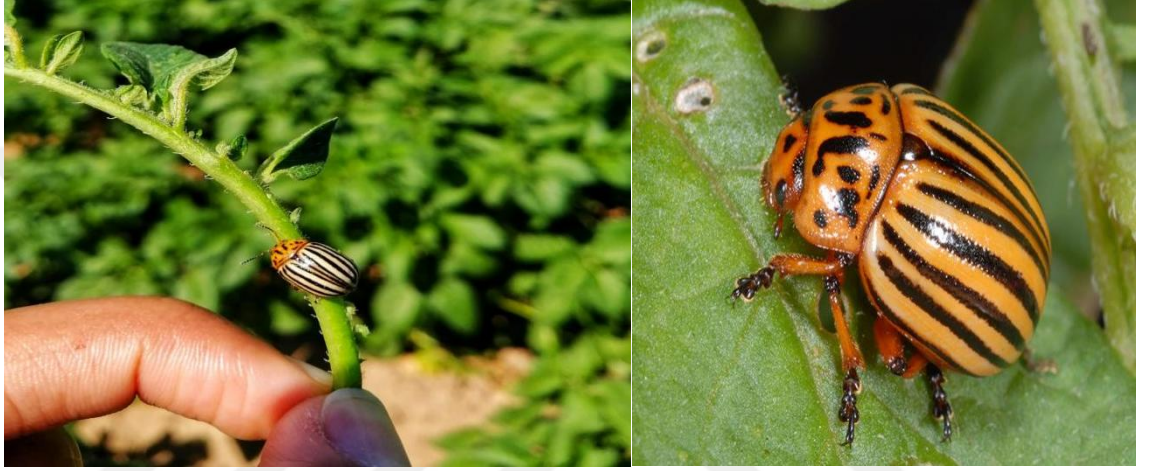


Şekil 5.2. *Leptinotarsa decemlineata*'nın 1., 2., 3. ve 4. dönem larvaları

III. Pupa Patates böceğinin pupası koni şeklindedir. Pupanın boyu yaklaşık 8-9mm ve eni 5-6mm ölçülerindedir. Pupanın rengi parlak sarı ya da açık turuncu tonlarındadır.

IV. Ergin

Ergin 8,5-11,5 mm uzunluğunda, kalın, oval ve konveks bir böcektir. İki krem sarısı elitranın her birinde beş dar siyah çizgi dışında sarımsı kahverengidir ve baş ile göğüs bölgesinde yaklaşık 12 küçük siyah noktaya sahiptir. Turuncu bacakların uç kısımları koyu kahverengi ya da siyahtır (Şekil 5.3). Güçlü çene kemikleri, patates de dahil olmak üzere çeşitli solanaceous bitkilerde beslenmeyi kolaylaştırır ve yaygın bir tarım zararlısı olarak statüsüne katkıda bulunur.



Şekil 5.3. *Leptinotarsa decemlineata*; ergin birey

L.decemlineata'nın gelişiminde temell olarak etkili olan bazı ekolojik veriler; arazi çalışmalarının yürütüldüğü, 2021 ve 2022 yılları bakımından; sıcaklık, nem, yağış, 5 cm ve 10 cm toprak sıcaklığı olarak değerlendirilmiştir ve veriler Nevşehir İl Meteoroloji Müdürlüğü tarafından temin edilmiştir (Tablo 5.1, 5.2) (İnternet 1).

Tablo 5.1. 2021 yılı aylık Nevşehir ekolojik verileri

İklim Elemanları / Aylar	Sıcaklık (°C)	Basınç (N/m ²)	Nem (%)	Rüzgâr Hızı (m/s)	5cm Toprak Sıcaklığı	10cm Toprak Sıcaklığı
Mart	20,3	1017,5	75,3	19,8	9,3	9,3
Nisan	25,4	1016,6	83,0	25,4	13,9	13,8
Mayıs	28,9	1013,6	77,0	16,6	19,2	18,9
Haziran	29,0	1013,2	80,6	15,0	24,1	23,5
Temmuz	32,7	1009,6	74,2	16,9	32,2	30,7
Ağustos	33,0	1011,5	74,2	17,3	30,4	30,1

Tablo 5.2. 2022 yılı aylık Nevşehir ekolojik verileri

İklim Elemanları / Aylar	Sıcaklık (°C)	Basınç (N/m ²)	Nem (%)	Rüzgâr Hızı (m/s)	5cm Toprak Sıcaklığı	10cm Toprak Sıcaklığı
Mart	16,1	874,3	77,6	11,3	10,4	7,0
Nisan	28,3	873,0	42,9	22,1	25,5	19,5
Mayıs	30,9	875,7	60,2	13,4	29,5	23,4
Haziran	19,4	872,6	58,5	1,8	22,4	21,7
Temmuz	20,2	873,9	50,0	2,1	24,9	24,1
Ağustos	24,8	872,2	38,6	1,7	28,4	27,6

5.2. Biyoaktivite - Biyokontrol Bulguları

5.2.1. Patates Böceği Verimi

Bu çalışmada kullanılan *L. decemlineata*'nın ekstraksiyon işlemleri sonunda verimi formülünden yararlanarak hesaplanmıştır. Buna göre *L. decemlineata*'nın verimi % 30,75 olarak saptanmıştır. Verim, aşağıda verilen formülden yararlanarak hesaplanmıştır.

$$\text{Verim (\%)} = \frac{\text{ekstraktın ağırlığı (g)}}{\text{ham materyalin ağırlığı (g)}} \times 100 \quad (5.1)$$

5.2.2. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre, ergin böceklerden elde edilen metanol ekstraktının inhibisyon zon çapları 7.00 ila 12.00 mm arasında değişmiştir. Buna karşılık, etanol ekstraktında bu değer 8 mm'dir. Patates böceklerinin metanol ekstraktı, en yüksek inhibisyon zon çapını *Pseudomonas putida*'ya karşı göstermiş ve 12 mm zon saptanmıştır. Patates böceğinin metanol ekstraktının en düşük antibakteriyel aktivitesi ise *Pseudomonas tomatoe*'ye karşı belirlenmiş olup, 7 mm'lik bir inhibisyon zonu saptanmıştır. Metanol ekstraktının diğer dört bakteriye karşı (*Agrobacterium vitis*, *Erwinia caratovora*, *Rathayibacter iranicus* ve *Rathayibacter tritici*)'ye karşı inhibisyon zon çapı 10 mm olarak belirlenmiştir.

Leptinotarsa decemlineata'nın etanol ekstraktının *Erwinia caratovora*'ya karşı etkili olduğu ve inhibisyon zon çapının 8 mm olduğu saptanmıştır. Etanol ekstresinin diğer bakterilere karşı herhangi bir inhibitör etkisi bulunamamıştır. Ayrıca, pozitif kontrol olarak kullanılan streptomisin, patates böceklerinin metanol ve etanol ekstraktları ile karşılaştırıldığında test edilen tüm bakterilere karşı daha yüksek bir inhibitör etki göstermiştir. Streptomisin, *Rathayibacter iranicus*'a karşı en etkili olup, 28 mm'lik bir inhibisyon zon çapı saptanmıştır. Streptomisin, *Pseudomonas tomatoe*, *Erwinia caratovora* ve *Pseudomonas putida* gibi bakterilere karşı 27 mm'lik inhibisyon zonları göstermiştir. Streptomisin'in en zayıf inhibitör aktivitesi *Agrobacterium vitis* ve *Rathayibacter tritici*'ye karşı olmuş ve 25 mm inhibisyon zon çapı olarak saptanmıştır (Tablo 5.3).

Bu çalışmada, genel olarak, patates böceklerinin metanol ve etanol özütleri Gram-negatif bakterilere karşı Gram-pozitif bakterilerden daha güçlü antibakteriyel etkinlik göstermiştir. Gram-negatif bakterilerin hücre yüzeyindeki negatif yük Gram-pozitif bakterilerinkinden daha yüksektir, bu da daha fazla miktarda kitosanın adsorbe edilmesine ve Gram-negatif bakterilere karşı daha yüksek bir inhibitör etkiye neden olur. MİK (minimum inhibisyon konsantrasyonu) değerlerinin test edilen tüm bakterilere karşı neredeyse aynı olduğu, yani ergin patates böceğinin hem metanol hem de etanol özütleri için >13000 µg/ml olduğu bulunmuştur (Tablo 5.4)

Tablo 5.3. *Leptinotarsa decemlineata*'nın antimikrobiyal aktiviteleri

Mikroorganizmalar	İnhibisyon zon çapı (mm)				
	LDME	LDEE	S	M	E
<i>Agrobacterium vitis</i>	10	-	25	-	-
<i>Pseudomonas tomatoe</i>	7	-	27	-	-
<i>Erwinia caratovora</i>	10	8	27	-	-
<i>Rathayibacter iranicus</i>	10	-	28	-	-
<i>Rathayibacter tritici</i>	10	-	25	-	-
<i>Pseudomonas putida</i>	12	-	27	-	-

LDEE: *Leptinotarsa decemlineata* etanol ekstresi; LDME: *Leptinotarsa decemlineata* metanol ekstresi; M: Metanol; E: Etanol; S: Streptomycin (30 µg); LD: *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824

Tablo 5.4. *Leptinotarsa decemlineata*'nın minimum inhibitör konsantrasyonu ($\mu\text{g/ml}$)

Mikroorganizmalar	LDME	LDEE
<i>Agrobacterium vitis</i>	>13000	-
<i>Pseudomonas tomatoe</i>	>13000	-
<i>Erwinia caratovora</i>	>13000	>13000
<i>Rathayibacter iranicus</i>	>13000	-
<i>Rathayibacter tritici</i>	>13000	-
<i>Pseudomonas putida</i>	>13000	-

LDEE: *L. decemlineata* etanol ekstresi; LDME: *L. decemlineata* metanol ekstresi

5.2.3. Antioksidan Aktivite

Bu çalışma, *Leptinotarsa decemlineata*'dan elde edilen metanol ve etanol ekstraktlarının antioksidan özelliklerini inceleyen ilk çalışmadır. DPPH radikal süpürme aktivitesi testi, ergin patates böceklerinden elde edilen metanol ekstresinin antioksidan aktivitesinin etanol ekstresinden daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ergin patates böceklerinden elde edilen metanol ekstresi %86,4 radikal süpürme yüzdesi aktivite gösterirken, etanol ekstresi DPPH radikallerinin %79,8'ünü süpürmüştü (Tablo 5.5)

Tablo 5.5. *Leptinotarsa decemlineata*'nın DPPH radikali süpürme aktivitesi

Ekstreler	Radikal süpürme aktivitesi (%)
LDEE	79,84
LDME	86,41

LDEE: *L. decemlineata* etanol ekstresi; LDME: *L. decemlineata* metanol ekstresi

BÖLÜM 6

TARTIŞMA VE SONUÇLAR

“Kapadokya bölgesi, Nevşehir ili ve çevresi *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824 (Insecta: Coleoptera: Chrysomelidae) türünün antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerinin araştırılması”, konulu tez çalışmamız patates böceği olarak bilinen *L. decemlineata*'nın temelde biyokontrol özelliklerinin tespiti için farklı patojenlere karşı antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Tez çalışmamız genel olarak iki aşamada gerçekleştirilmiştir.

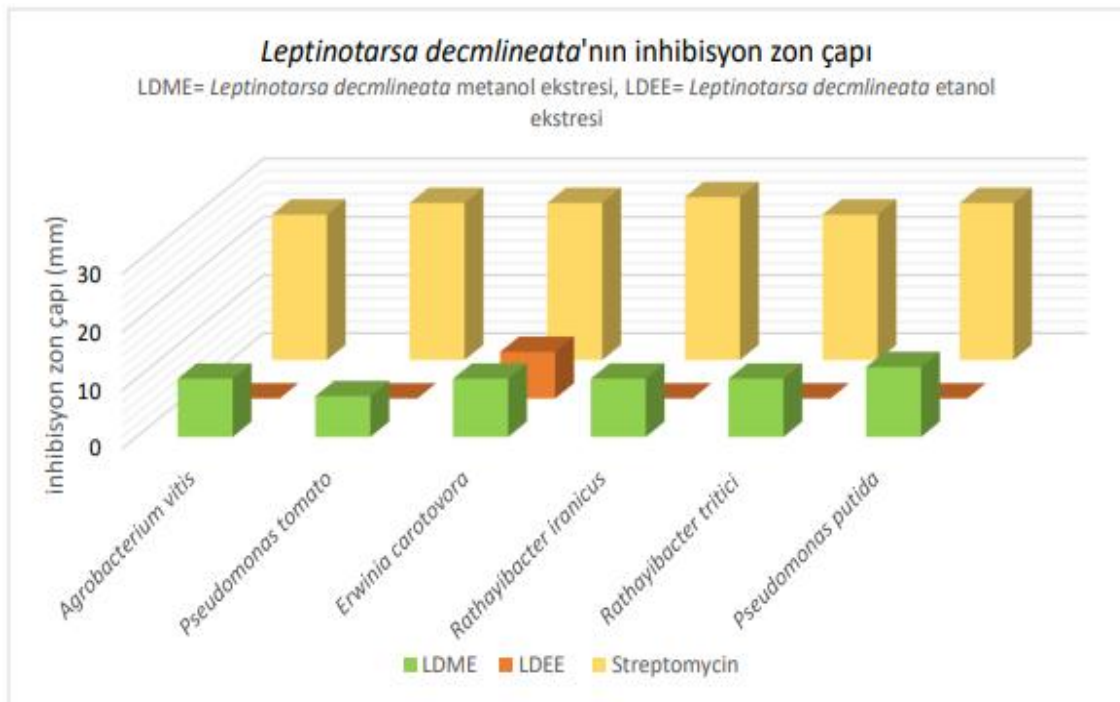
Bu aşamaların birincisi belirlenen araziden *L. decemlineata* örneklerinin toplanmasıdır. Patates böcekleri önemli tarımsal ve ekolojik etkilere sahiptir. Doğal ortamında bir tür kamuflaj görevi gören sarı ve siyah çizgili elytrası da dahil olmak üzere farklı morfolojik özellikler göstermektedir. *L. decemlineata*'nın yaşam döngüsü genellikle bir yıl sürer ve yumurta, larva, pupa ve ergin evrelerini içermektedir. Ergin böcekler ilkbaharda ortaya çıkıp patates yapraklarının alt kısımlarına turuncu-sarı yumurtalar bırakmaktadır. Larvalar patates yapraklarıyla beslenip sonunda önemli ölçüde yaprak dökülmesine neden olmaktadır. Ekolojik olarak *L. decemlineata*, Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya'nın bazı bölgelerinde birincil hedefi patates bitkileri (*Solanum tuberosum*), domates ve patlıcan gibi diğer solanaceous ürünler de dahil olmak üzere geniş bir konukçu yelpazesi göstermektedir. Patates böceklerinin ergin olarak kışı geçirme konusundaki kapasitesi, zorlu bir tarım zararlısı olarak başarısına katkıda bulunmaktadır.

L. decemlineata bireyleri doğal yaşam alanlarında önemli bir ekolojik role sahiptir ve tarımsal uygulamaların yönlendirilmesinde rol oynamaktadır. Bu böceğin önemi, ekosistemlerle olan etkileşimlerinde ve tarım uygulamalarında yeniliği teşvik etme potansiyelinde bulunmaktadır. *L. decemlineata* doğal habitatında kuşlar, böcekler ve örümcekler de dahil olmak üzere çeşitli avcılar için bir besin kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bu etkileşim ekosistemdeki dengenin korunmasına yardımcı olup biyoçeşitliliği desteklemektedir. Patates böceği, patates mahsulleri üzerindeki etkisi nedeniyle bir zararlı olarak kabul edilebilirken, varlığı tarımsal uygulamalarda ve

ekolojik araştırmalarda olumlu değişiklikleri etkilemektedir. İnsanlar ve doğal dünya arasındaki etkileşimin oluşmasında önemli bir rol oynamaktadır.

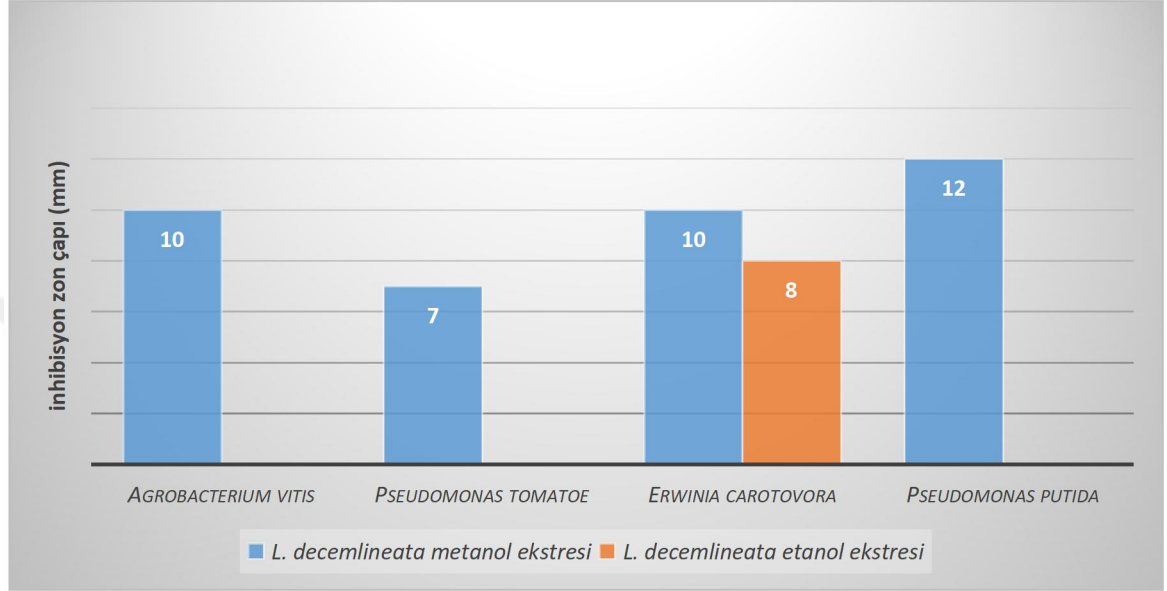
Patates böceği olarak bilinen *L. decemlineata*'ya ait örnek materyaller Mayıs 2021-Ağustos 2022 döneminde Nevşehir ili ve çevresindeki patates tarla ve bahçelerinden farklı tarihlerde çoğunlukla ergin yaşam formunda toplanmıştır. Arazi çalışması sürecinde ve sonrasında yaptığımız gözlem ve incelememiz ve temin ettiğimiz ekolojik verilerin değerlendirmesi sonucunda; *L. decemlineata* bireylerinin, Haziran-Ağustos ayları aralığında; 15.5°C-21°C sıcaklık, 50%-70% nem ve 17°C-24°C toprak sıcaklığı değerlerinde optimum gelişim gösterdiği tespit edilmiştir.

Çalışmamızın ikinci bölümünde, *L. decemlineata* örneklerinin laboratuvar işlem ve analizleri yapılmıştır. Bu kapsamda toplanan ve etiketlenen örneklerin antibakteriyel ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Çalışmamızda, patates böceklerinin ekstraktları incelendiğinde, metanol ekstraktının etanol ekstraktına kıyasla daha yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği görülmüştür. *L. decemlineata*'nın metanol ve etanol ekstraktının ürün bozan patojenlere ve Streptomycin antibiyotiğine karşı inhibisyon zon çapı aşağıdaki şekilde kıyaslanmıştır (Şekil 6.1). Çalışma sonunda, patates böceğinin metanol ve etanol ekstraktlarının en yüksek inhibisyon gösterdiği bakteriler belirlenmiştir.



Şekil 6.1. *Leptinotarsa decemlineata*'nın inhibisyon zon çapı

Çalışmamızda, metanol ekstresi Gram-negatif bakteri *Pseudomonas putida*'ya karşı en yüksek antibakteriyel aktiviteyi göstermiştir. Bu durumda, inhibisyon zon çapı 12 mm olarak belirlenmiştir. Patates böceğinin metanol ekstresinin en düşük inhibisyon zonu ise *Pseudomonas tomatoe*'ye karşı 7 mm olarak belirlenmiştir (Şekil 6.2).



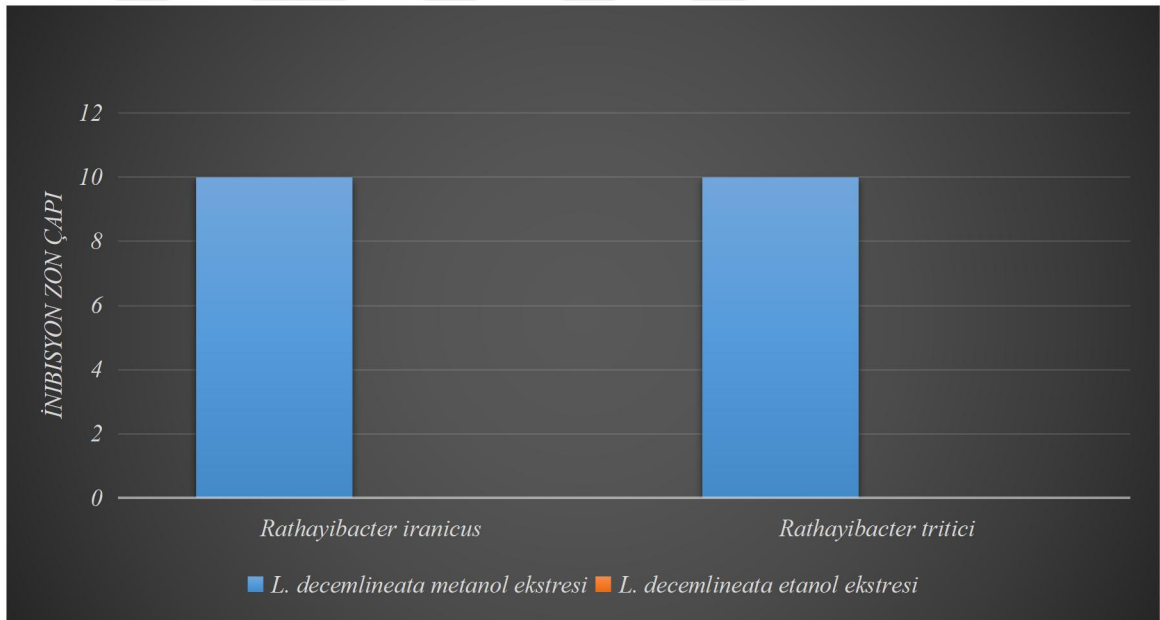
Şekil 6.2. *Leptinotarsa decemlineata*'nın Gram-negatif bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesi

Farklı bir çalışmada, *Hermetia Illucens*. L metanol ekstresi gram-negatif bakterilere karşı güçlü bir antibakteriyel aktivite göstermiştir. İnhibisyon zon çapı 320 mg/ml konsantrasyonda *Salmonella sp.* karşı $6,33\pm 2,08$ mm ve *Escherichia coli*'ye karşı $6,00\pm 1,00$ mm olarak ölçülmüştür (Harlystiarini 2019). Gübre böcekleri inhibisyon zonu, 10 ve 20 saat sonraki işlemlerde *E.coli*'ye karşı sırasıyla $166,51 \pm 166,43$ mm² ve $128,49 \pm 119,86$ mm² ölçülmüştür (Gundappa ve ark. 2012).

Yapılan bir çalışmada, *Litsea cubeba*'nın inhibitör etkisinin *Serratia marcescens*'e karşı güçlü (inhibisyon zonu = 14,33 mm) ve *Azotobacter chroococcum*'a karşı 11,33 mm olduğu bulunmuştur (Borotova ve ark. 2022). Gerchman (2020) antibakteriyel aktivitelerini kontrol etmek için yaprak bitleri üzerinde bir çalışma gerçekleştirmiştir. Ölçülen en yüksek inhibisyon bölgesi *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı 18 mm, *E.coli B'*ye karşı 6,5 mm ve *Klebsiella oxytoca*, *K pneumonia*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Agrobacterium sp.* karşı neredeyse hemen hemen aynı (5 mm) bulunmuştur. Başka bir çalışmada, *Hermetia illucens* Linnaeus'un antibakteriyel aktivitesi *Escherichia coli*'ye karşı incelenmiştir. İnhibisyon zonu testi %10 konsantrasyonda hiçbir aktivite

göstermemişken, %40 ve %80 konsantrasyonlarda sırasıyla 11 mm ve 3 mm inhibisyon zonları göstermiştir (Alvarez ve ark. 2019). Auza ve ark. (2020) tarafından yapılan bir başka çalışmada, *Hermetia illucens*. L'nin *Salmonella typhimurium*, *E. coli* ve *Pseudomonas aureginosa*'ya karşı inhibisyon zonunun ortalama çapı 325 mg/ml konsantrasyonda sırasıyla $11,77 \pm 0,03$ mm, $10,15 \pm 0,05$ mm ve $11,15 \pm 0,35$ mm olup güçlü inhibisyon zonu olarak değerlendirilmiştir. *Ceriodaphnia quadrangula ephippia*'nın *Salmonella enteritidis*'e karşı 16,28 mm, *Yersinia enterocolitica*'ya karşı 14,06 mm ve *Vibrio alginolyticus*'a karşı 13,88 mm inhibisyon zon çapına gösterdiği rapor edilmiştir (Asan Ozusaglam ve ark. 2016).

Çalışmamızda, *Rathayibacter iranicus* ve *Rathayibacter tritici*' ye karşı patates böceği metanol ekstresinin inhibisyon zon çapı 10mm olduğu saptanmıştır (Şekil 6.3).



Şekil 6.3. *Leptinotarsa decemlineata*'nın Gram-pozitif bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesi

Cryptotympanapustulata Fabricius ve *Mole cricket* ekstraktları 2019 yılında yapılan bir çalışmada *Staphylococcus aureus* ATCC6538 ve *Mycobacterium tuberculosis* H37RA'ya karşı inhibitör etkiler göstermiştir. *C. fabricius*, *M. tuberculosis* ve *S. aureus*'a karşı sırasıyla 16 mm ve 13 mm inhibisyon zon çapı göstermiştir. *M. cricket* ekstraktının inhibitör zonu *Mycobacterium tuberculosis* ve *Enterococcus faecalis*'e karşı sırasıyla 10 mm ve 9 mm olarak ölçülmüştür. *Statilia maculate*'nin *E. faecalis*'e karşı 8 mm'lik inhibisyon zonuna sahip olduğu bulunmuştur (Guangqiang ve ark. 2019).

Halyomorpha halys, Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın in vitro büyümesini önemli ölçüde inhibe etmiştir. Yüzde yirmilik konsantrasyonda, *H. halys* MRSA ve *E.coli*'ye karşı 30 mm (3 cm) inhibisyon zon çapı gösterirken, *P. aeruginosa*'ya karşı 27 mm (2,7 cm) inhibisyon zon çapı göstermiştir (Sagun ve ark. 2016). Gübre böceklerinin metanol ekstraktlarının in vitro antimikrobiyal aktivitesi en çok *S. aureus*'a karşı etkili olmuştur. İnhibisyon zonunun çapı, *S. aureus*'a karşı 10 ve 20 saat sonraki işlemlerde sırasıyla $179,79 \pm 120,08 \text{ mm}^2$ ve $188,34 \pm 125,85 \text{ mm}^2$ olarak kaydedilmiştir (Gundappa ve ark. 2012).

Litsea cubeba'nın disk difüzyon testi ile ölçülen antibakteriyel aktivitesi, *Priestia megaterium* ve *Micrococcus luteus*'a karşı sırasıyla 11,33 mm ve 9,67 mm inhibisyon zonu göstermiştir (Borotova ve ark. 2022). Yaprak bitleri en yüksek inhibisyonu *Bacillus megaterium*'a karşı göstermiştir. Bunun için, inhibisyon zonu 14 mm olarak ölçülürken, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus* için sırasıyla 12,5 mm, 12 mm ve 11 mm olarak ölçülmüştür (Gerchman 2020). Başka bir çalışmada, *Ceriodaphnia quadrangula ehippia*'nın *Bacillus subtilis*'e karşı en yüksek antibakteriyel etkisi rapor edilmiştir. İnhibisyon zonu *Bacillus subtilis*, *Lactococcus garvieae* ve *Listeria monocytogenes* için sırasıyla 19.01mm, 13.48mm ve 13.38mm olarak ölçülmüştür (Asan Ozusaglam ve ark. 2016). Bu sonuçlarla karşılaştırıldığında, çalışmamızda kullanılan böcekler daha sınırlı antibakteriyel aktivite göstermektedir. Çalışmamızda tüm bakterilere karşı minimum inhibitör konsantrasyonu 13000 µg/mL bulunmuştur (Tablo 6.1).

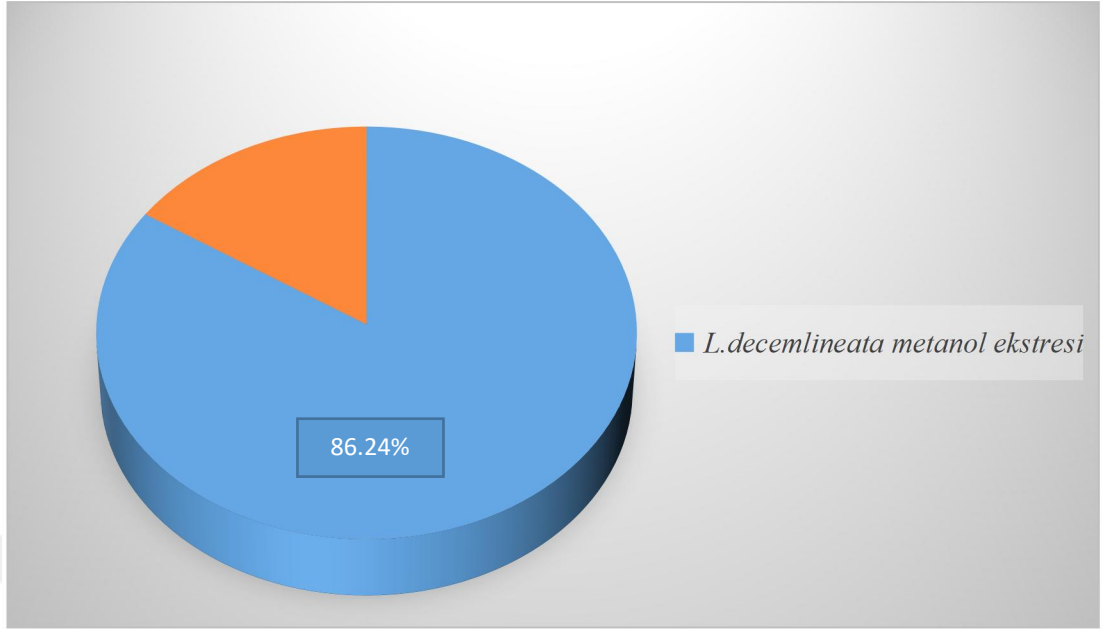
Tablo 6.1. *Leptinotarsa decemlineata*'nın ürün bozan patojenlere karşı minimum inhibitör konsantrasyonu

Mikroorganizmalar	<i>L. decemlineata</i> metanol ekstresi (µg/mL)	<i>L. decemlineata</i> etanol ekstresi (µg/mL)
<i>Agrobacterium vitis</i>	>13000	-
<i>Pseudomonas tomatoe</i>	>13000	-
<i>Erwinia caratovora</i>	>13000	>13000
<i>Rathayibacter iranicus</i>	>13000	-
<i>Rathayibacter tritici</i>	>13000	-
<i>Pseudomonas putida</i>	>13000	-

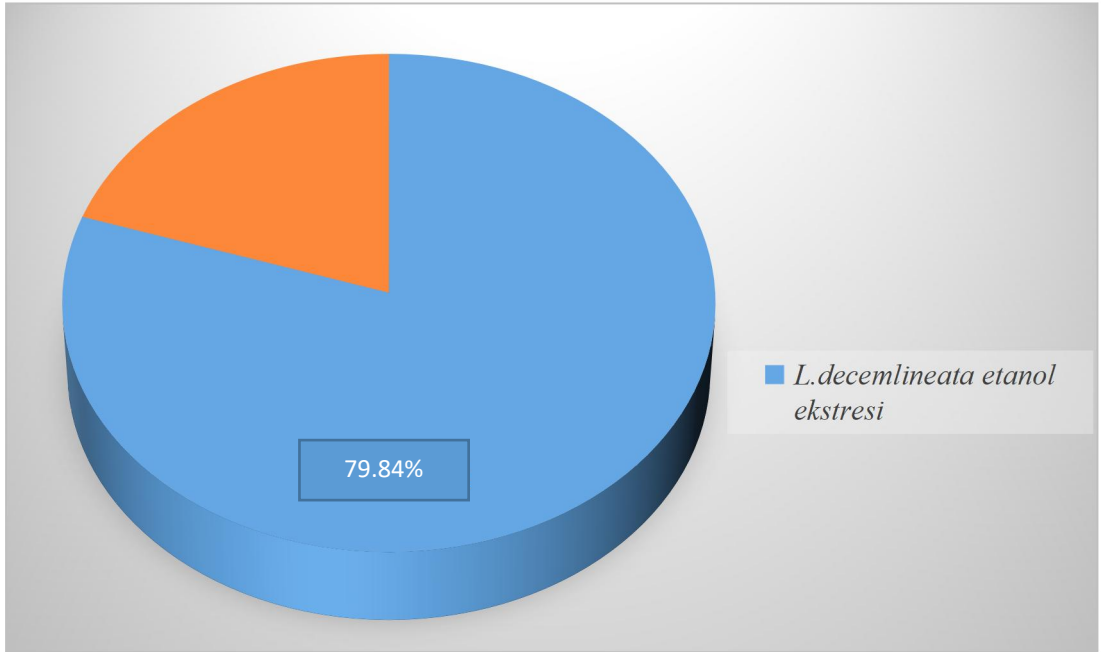
Guangqiang ve arkadaşları 2019 yılında *Mole cricket* ve *Cryptotympanapustulata fabricius*'un *Staphylococcus aureus* ve *Mycobacterium tuberculosis* üzerinde güçlü inhibitör etkiye sahip olduğunu belirtmiştir. *M cricket*'ın MİK değeri *S aureus* ve *M tuberculosis* üzerinde ayrı ayrı 0,1 g.mL⁻¹ ve 0,01 g.mL⁻¹ iken, *C fabricius*'un etil asetat ekstraktının MİK değeri *S aureus* üzerinde 0,01 g.mL⁻¹ olarak bulunmuştur. Ayrıca, *C fabricius*'un su ekstraktının MİK değeri de *M. tuberculosis* için 0,01 g.mL⁻¹ olarak saptanmıştır.

Başka bir çalışmada, kene böceği ekstraktının test edilen tüm gram-pozitif bakteriler *Bacillus cereus* (MİK = 20 µg/ml), *Bacillus subtilis* (MİK = 0,1µg/ml), *Enterococcus faecalis* (MİK = 1 µg/ml), *Micrococcus luteus* (MİK = 0,1 µg/ml), *Staphylococcus aureus* (MİK = 0,1 µg/ml) ve metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) (MİK = 0,75 µg/ml)'a karşı aktif olduğu bulunmuştur. Diğer tarafta, gram-negatif bakterilere (*Acinetobacter calcoaceticus*, *Alcaligenes faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella typhimurium*) karşı MİK 50 µg/ml konsantrasyonda bile belirlenememiştir (Nakajima ve ark. 2003).

Lee ve arkadaşları (2020), *Hermetia illucens* larva ekstraktının *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Salmonella sp.* karşı minimal inhibitör konsantrasyonunun (MİK) 100~200 µg/100 µL arasında değiştiğini belirlemiş ve *Hermetia illucens* ekstraktının *Salmonella sp.* tarafından kontaminasyonu önlemek için güçlü bir doğal antibiyotik olduğunu ortaya koymuştur. 2021'de yapılan bir çalışmada, *Hermetia illucens* ekstraktının *Staphylococcus aureus*'a karşı inhibitör konsantrasyonu 35 µg/mL olarak saptanmıştır (Alsaggaf 2021). Ancak tez çalışmamızın temel araştırma içeriğini oluşturan *L. decemlineata*'nın MİK değerleri çok daha yüksektir ve yaklaşık 13 mg/mL olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda patates böceklerinin metanol ekstresinin antioksidan aktivitesi %86,4 bulunurken, etanol ekstresinin aktivitesi ise %79,8 olarak saptanmıştır (Şekil 6.4, 6.5).



Şekil 6.4. *L. decemlineata*' metanol ekstraktının antioksidan aktivitesi



Şekil 6.5. *L. decemlineata*' etanol ekstraktının antioksidan aktivitesi

Tenebrio molitor ve *Ulomoides dermestoides* böceklerinin ekstraktları için antioksidan aktivite sırasıyla 41,4 ve 54,8 $\mu\text{mol/g}$ civarında değerleri göstermiştir (Flores ve ark. 2020). Başka bir çalışmada, *Acheta domesticus*'tan elde edilen ekstraktlar, ekstraksiyon yöntemi ve kullanılan çözücünden bağımsız olarak *Tenebrio molitor*'dan elde edilen ekstraktlardan daha etkili olmuştur. Genel olarak, *Acheta domesticus* ve *Tenebrio molitor*'un etanol ekstraktının antioksidan aktiviteleri sırasıyla %72 ve %57 civarında

ölçülmüştür (Del Hierro ve ark. 2020). Liu ve arkadaşları (2012) *Holotrichia parallela* Motschulsky'nin hem etanol hem de su ekstraktının radikal süpürme aktivitesinin artan konsantrasyonla önemli ölçüde arttığını belirlemiştir. *Holotrichia parallela* Motschulsky'nin su ve etanol ekstraktları için radikal süpürme aktivitesi sırasıyla %85 ve %50 olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda, *Leptinotarsa decemlineata*'nın iki farklı ekstraktının, ürün bozan patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesi ölçülmüştür. Sonuç olarak, her iki ekstrenin test edilen bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitesinin olduğu ve ayrıca antioksidan aktivite de gösterdiği saptanmıştır. Bu çalışma, öncelikli olarak biyo-kontrol çalışmalarında patates böceğinin kullanılabilmesini göstermektedir. Bunun dışında *Leptinotarsa decemlineata*'nın yeni ilaçların veya tedavilerin geliştirilmesinde kullanılabilir potansiyel bir antibakteriyel ve antioksidan madde kaynağı olarak tanımlanmasının yolunu açan öncül çalışma niteliği taşımaktadır. Bu çalışma, *Leptinotarsa decemlineata*'dan elde edilen antibakteriyel ve antioksidan maddelerin bakteriyel enfeksiyonları ve oksidatif stresle ilgili hastalıkları tedavi etmek için potansiyel kullanımının olabileceği önerilmektedir.

Sonuç olarak, *L. decemlineata*'nın sentetik antibakteriyel ve antioksidan maddeler yerine, doğal bir alternatif kaynak olarak kullanılmasının daha az yan etki yaratabileceği ve daha çevre dostu olabileceği önerilmektedir. Bu çalışma; yeni antibakteriyel ve antioksidan madde potansiyeli taşıyan çeşitli kaynaklarının belirlenmesi için *L. decemlineata* ve benzer diğer organizmalar üzerinde daha fazla araştırma yapılması gerekliliğini de göstermektedir. Söz konusu tez çalışmamızda olduğu gibi genellikle *in vitro* olarak uygulanan ekstraktların *in vivo* etkinliğini belirlemek için daha farklı ve kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bununla birlikte, çalışmamızda olanaklar ölçüsünde sınırlı sayıda bakteri türüne karşı uygulanabilen ekstraktların daha fazla çeşitlilikteki mikroorganizmalara karşı test edilerek etkinliklerinin tespitinin de yeni araştırmalarda ortaya konulması gerekmektedir. Ayrıca patates böceği ekstraktlarının kimyasal kompozisyonlarının belirlenmesine ve elde edilen bileşenlerin ayrı ayrı farklı bakterilere denenmesine ve kimyasal formülünün belirlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Abd El-Hack, M. E., El-Saadony, M. T., Shafi, M. E., Zabermawi, N. M., Arif, M., Batiha, G. E., and Al-Sagheer, A. A. (2020). Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* 164: 2726-2744.
2. Ali, A. M., Rauf, A. and Abdallah, E. M. (2020) Insects as producers of antimicrobial polypeptides: A short review. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences* 12(3): 102-107.
3. Al-saggaf, M. S. (2021). Formulation of insect chitosan stabilized silver nanoparticles with propolis extract as potent antimicrobial and wound healing composites. *International Journal of Polymer Science* 2:1-9.
4. Alvarez, D., Wilkinson, K. A., Treilhou, M., Téné, N., Castillo, D. and Sauvain, M. (2019). Prospecting peptides isolated from black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* (Campylobacterales: Helicobacteraceae). *Journal of Insect Science* 19(6): 17-18.
5. Alyokhin, A. (2009). Colorado potato beetle management on potatoes: current challenges and future prospects. *Fruit, vegetable and cereal science and biotechnology* 3(1): 10-19.
6. Alyokhin, A. V. and Ferro, D. N. (1999). Relative fitness of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) resistant and susceptible to the *Bacillus thuringiensis* Cry3A toxin. *Journal of Economic Entomology* 92(3): 510-515.
7. Arnoldy, B. Afghanistan War: <https://www.csmonitor.com/World/Asia-South-Central/2010/0728/Afghanistan-war-How-USAID-loses-hearts-and-minds> (Erişim Tarihi: 28.05.2010)
8. Asan-Ozusaglam, M., Cakmak, Y. S., Kaya, M., Erdogan, S., Baran, T., Mentés, A. and Saman, I. (2016). Antimicrobial and antioxidant properties of *Ceriodaphnia quadrangula* Ehippia chitosan. *Romanian Biotechnological Letters* 21(5): 11881.
9. Auza, F. A., Purwanti, S., Syamsu, J. A. and Natsir, A. (2020). Antibacterial activities of black soldier flies (*Hermetia illucens*) extract towards the growth of

- Salmonella* Typhimurium, *E. coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Earth and Environmental Science 492(1):4-7.
10. Bach, C. E. (1982) The influence of plant dispersion on movement patterns of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). The Great Lakes Entomologist 15(4): 4.
 11. Bacon, R. T., Sofos, J. N., Kendall, P. A., Belk, K. E. and Smith, G. C. (2003). Comparative analysis of acid resistance between susceptible and multi-antimicrobial-resistant *Salmonella* strains cultured under stationary-phase acid tolerance-inducing and noninducing conditions. Journal of Food Protection 66(5): 732-740.
 12. Bajaj Y. P. S. (2013) Biotechnology in Agriculture and Forestry. Springer Science and Business Media, Berlin
 13. Baker, M. B., Alyokhin, A., Dastur, S. R., Porter, A. H., and Ferro, D. N. (2005) Sperm precedence in overwintered Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) and its implications for insecticide resistance management. Annals of the Entomological Society of America 98(6): 989-995.
 14. Balás, G., & Sáring, G. (1982). Pests of Horticultural Plants. Akadémiai Kiadó, Budapest.
 15. Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., and Turck, M. (1966) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology 45(4): 493-496.
 16. Bechyné, J. (1952). Supplement to the catalogues of Blackwelder and Junk-Schenkling on the Neotropical Chrysomelidae (Col. Phytophaga). Entomologische Arbeiten aus dem Museum George Frey. 3(1): 1-62.
 17. Biever, K. D., and Chauvin, R. L. (1990) Prolonged dormancy in a Pacific Northwest population of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say)(Coleoptera: Chrysomelidae). The Canadian Entomologist 122(1): 175-177.
 18. Boiteau, G. (1988) Sperm utilization and post-copulatory female-guarding in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. Entomologia Experimentalis et Applicata 47(2): 183-187.

19. Boiteau, G., Alyokhin, A., and Ferro, D. N. (2003) The Colorado potato beetle in movement. *The Canadian Entomologist* 135(1): 1-22.
20. Boiteau, J. G., Imbos, R., Minnaard, A. J., and Feringa, B. L. (2003) Rhodium-catalyzed asymmetric conjugate additions of boronic acids using monodentate phosphoramidite ligands. *Organic Letters* 5(5): 681-684.
21. Boman, S. (2008) Ecological and genetic factors contributing to invasion success: The northern spread of the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*). University of Jyväskylä. *Jyväskylä Studies in Biological and Environmental Science* 194 (1): 30-37
22. Booth, E., Alyokhin, A. and Pinatti, S. (2017). Adult cannibalism in an oligophagous herbivore, the Colorado potato beetle. *Insect Science* 24(2): 295-302.
23. Borotová, P., Galovičová, L., Vukovic, N. L., Vukic, M., Tvrđá, E. and Kačániová, M. (2022). Chemical and biological characterization of *Melaleuca alternifolia* essential oil. *Plants* 11(4): 558.
24. Botella-Martínez, C., Lucas-González, R., Pérez-Álvarez, J. A., Fernández-López, J., and Viuda-Martos, M. (2021) Assessment of chemical composition and antioxidant properties of defatted flours obtained from several edible insects. *Food Science and Technology International* 27(5): 383-391.
25. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., and Berset, C. L. W. T. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology* 28(1): 25-30.
26. Buzby, J. C. and Roberts, T. (1997). Economic costs and trade impacts of microbial foodborne illness. *World Health Statistics Quarterly* 50 (2): 57-66.
27. Cabib, E. (1981) Chitin: structure, metabolism, and regulation of biosynthesis. In *Plant Carbohydrates II: Extracellular Carbohydrates*. Springer Berlin Heidelberg 395-415.
28. Cabib, E., Bowers, B., Sburlati, A., and Silverman, S. J. (1988) Fungal cell wall synthesis: the construction of a biological structure. *Microbiological Sciences* 5(12): 370-375.

29. Caprio, M. A., and Grafius, E. J. (1990) Effects of light, temperature, and feeding status on flight initiation in postdiapause Colorado potato beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology* 19(2): 281-285.
30. Cingel, A., Savić, J., Lazarević, J., Ćosić, T., Raspor, M., Smigocki, A., and Ninković, S. (2016) Extraordinary adaptive plasticity of Colorado potato beetle: Ten-Striped Spearman in the era of biotechnological warfare. *International Journal of Molecular Sciences* 17(9): 1538.
31. Clements, J., Olson, J. M., Sanchez-Sedillo, B., Bradford, B., and Groves, R. L. (2020) Changes in emergence phenology, fatty acid composition, and xenobiotic-metabolizing enzyme expression is associated with increased insecticide resistance in the Colorado potato beetle. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 103(3): e21630.
32. CLSI, E. A. (2003) Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach. Approved Guideline CLSI.
33. CLSI, E. A. (2006) Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach. Approved Guideline CLSI.
34. Cohen, Z. P., Brevik, K., Chen, Y. H., Hawthorne, D. J., Weibel, B. D., and Schoville, S. D. (2021) Elevated rates of positive selection drive the evolution of pestiferousness in the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*, Say). *Molecular Ecology* 30(1): 237-254.
35. Da Silva Lucas, A. J., de Oliveira, L. M., Da Rocha, M., and Prentice, C. (2020) Edible insects: An alternative of nutritional, functional and bioactive compounds. *Food Chemistry* 311: 126022.
36. De Kort, C. A. D. (1990) Thirty-five years of diapause research with the Colorado potato beetle. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 56(1): 1-13.
37. Del Hierro, J. N., Gutiérrez-Docio, A., Otero, P., Reglero, G. and Martin, D. (2020). Characterization, antioxidant activity, and inhibitory effect on pancreatic lipase of extracts from the edible insects *Acheta domesticus* and *Tenebrio molitor*. *Food Chemistry* 309 (2): 125742.

38. Devienne, K. F. and Raddi, M. S. G. (2002) Screening for antimicrobial activity of natural products using a microplate photometer. *Brazilian Journal of Microbiology* 33: 166-168.
39. Di Mattia, C., Battista, N., Sacchetti, G., and Serafini, M. (2019) Antioxidant activities *in vitro* of water and liposoluble extracts obtained by different species of edible insects and invertebrates. *Frontiers in Nutrition* 6: 106-113.
40. Drummond, F. A., Casagrande, R. A. and Groden, E. (1987). Biology of *Oplomus dichrous* (Heteroptera: Pentatomidae) and its potential to control Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology* 16(3): 633-638.
41. Dubis, E., Maliński, E., Dubis, A., Szafranek, J., Nawrot, J., Popłlawski, J., and Wróbel, J. T. (1987) Sex-dependent composition of cuticular hydrocarbons of the Colorado beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 87(4): 839-843.
42. Edwards, M. A. (1997) Mate location in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae). University of New Brunswick. <https://library-archives.canada.ca/>
43. Edwards, M. A., and Seabrook, W. D. (1997) Evidence for an airborne sex pheromone in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *The Canadian Entomologist* 129(4): 667-672.
44. Efimenko, T. A., Yakushev, A. V., Demiankova, M. V., Glukhova, A. A. and Khusnetdinova, T. I. (2022). Antimicrobial activity of bacteria isolated from *Leptinotarsa decemlineata* and *Solanum tuberosum*. *Ann Environ Sci Toxicol* 6(1): 105-119.
45. Ehrlich H., P. Simon, M. Motylenko, M. Wysokowski, V.V. Bazhenov, R. Galli, A.L. Stelling, D. Stawski, M. Ilan, H. Stöcker, B. Abendroth, R. Born, T. Jesionowski, and D.C. Meyer (2013b) Extreme Biomimetics: Formation of Zirconium Dioxide Nanophase Using Chitinous Scaffolds under Hydrothermal Conditions. *J. Mater. Chem. B* 1: 5092-5099.
46. Ehrlich, H., O.V. Kaluzhnaya, M.V. Tsurkan, A. Ereskowsky, K.R. Tabachnick, M. Ilan, A. Stelling, R. Galli, O.V. Petrova, S.V. Nekipelov, V.N. Sivkov, D. Vyalikh, R. Born, T. Behm, A. Ehrlich, L.I. Chernogor, S. Belikov, D. Janussen, V.V.

- Bazhenov, and G. Wörheide (2013a) First report on chitinous holdfast in sponges (Porifera). Proc. R. Soc. B. 280: 1471-2954.
47. Eleftherianos, I., Zhang, W., Heryanto, C., Mohamed, A., Contreras, G., Tettamanti, G., and Bassal, T. (2021) Diversity of insect antimicrobial peptides and proteins-A functional perspective: A review. International Journal of Biological Macromolecules 191: 277-287.
 48. Farkaš, V. (1990). Fungal cell walls: Their structure, biosynthesis and biotechnological aspects. Acta biotechnologica 10(3): 225-238.
 49. Fasulati, S. R. (2007). Studying Adaptive Variation for Ecologization of Plant Protection Systems: The Example of the Colorado Potato Beetle. Inform. Byull. VPRS MOBB 2:246-250.
 50. Ferro, D. N., Alyokhin, A. V. and Tobin, D. B. (1999). Reproductive status and flight activity of the overwintered Colorado potato beetle. Entomologia Experimentalis et Applicata 91(3): 443-448.
 51. Ferro, D. N., Logan, J. A., Voss, R. H. and Elkinton, J. S. (1985). Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) temperature-dependent growth and feeding rates. Environmental Entomology 14(3): 343-348.
 52. Feytaud, J. (1938). Recherches sur le doryphore. L'acclimatation d'insectes entomophages américains ennemis du *Leptinotarsa decemlineata* Say. Ann. Epiphyt. Phytogen, Paris 4(1); 27-93.
 53. Feytaud, J. (1950) The Coleoptera infesting *Pinus pinaster*. Annales de l'Ecole nationale des eaux et forets et de la Station de recherches et experiences 12(1): 1-96.
 54. Fleet, G. H., and Phaff, H. J. (1981) Fungal glucans—structure and metabolism. In Plant Carbohydrates II: Extracellular Carbohydrates. Springer Berlin Heidelberg 416-440.
 55. Flores, D. R., Casados, L. E., Velasco, S. F., Ramírez, A. C. and Velázquez, G. (2020). Comparative study of composition, antioxidant and antimicrobial activity of two adult edible insects from Tenebrionidae family. BMC chemistry 14(1):1-9.

56. French, N. M., Follett, P., Nault, B. A., and Kennedy, G. G. (1993) Colonization of potato fields in eastern North Carolina by Colorado potato beetle. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 68(3): 247-256.
57. Gao, X., Zhao, Q., Wei, J. and Zhang, H. (2022). Study on the potential distribution of *Leptinotarsa decemlineata* and its natural enemy *Picromerus bidens* under climate change. *Frontiers in Ecology and Evolution* 9: 786436.
58. Garrett, B. C. (1996) The Colorado potato beetle goes to war. In *Chemical Weapons Convention Bulletin* 33: 2-3.
59. Gauthier, N. L., Hofmaster, R. N., and Semel, M. (1981) History of Colorado potato beetle control. *Advances in Potato Pest Management* 23: 13-33.
60. Gerchman, Y. (2020). Antimicrobial activities in *Pistacia atlantica*—aphids make a difference!. In *Proceedings MDPI* 66(1): 9.
61. Giampieri, F., Alvarez-Suarez, J. M., Machì, M., Cianciosi, D., Navarro-Hortal, M. D. and Battino, M. (2022). Edible insects: A novel nutritious, functional, and safe food alternative. *Food Frontiers* 3(3): 358-365.
62. Giordanengo, P., Vincent, C. and Alyokhin, A. (2013). *Insect pests of potato*. Glob. Perspect. Biol. Manag. Elsevier Inc Wyman Str. Walth. USA.
63. Göldel, B., Lemic, D. and Bažok, R. (2020). Alternatives to synthetic insecticides in the control of the colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) and their environmental benefits. *Agriculture* 10(12): 611.
64. Gonil, P., and Sajomsang, W. (2012) Applications of magnetic resonance spectroscopy to chitin from insect cuticles. *International Journal of Biological Macromolecules* 51(4): 514-522.
65. Grafius, E. J. (1995) Is local selection followed by dispersal a mechanism for rapid development of multiple insecticide resistance in the Colorado potato beetle?. *American Entomologist* 41(2): 104-109.
66. Grapputo, A., Boman, S., Lindstroem, L., Lyytinen, A., and Mappes, J. (2005) The voyage of an invasive species across continents: genetic diversity of North American and European Colorado potato beetle populations. *Molecular Ecology* 14(14): 4207-4219.

67. Gui, L. Y. and Boiteau, G. (2010). Effect of food deprivation on the ambulatory movement of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Entomologia experimentalis et applicata* 134(2): 138-145.
68. Gundappa, S., Jayappa, J. and Chandrashekara, K. (2012). Bioprospecting for antimicrobial peptides from insects: *In vitro* antimicrobial activity of acidified methanol extract of dung beetles. *Journal of Entomological Research* 36(1): 41-44.
69. Gunderson, S. and Schiavone, R. (1989) The insect exoskeleton: a natural structural composite. *JOM* 41: 60-63.
70. Harcourt, D. G. (1971) Population Dynamics of *Leptinotarsa decemlineata* (Say) In Eastern Ontario: III. Major Population Processes¹. *The Canadian Entomologist* 103(7): 1049-1061.
71. Hare, J. D. (1990) Ecology and management of the Colorado potato beetle. *Annual Review of Entomology* 35(1): 81-100.
72. Harlystiarini, H., Mutia, R., Wibawan, I. W. T. and Astuti, D. A. (2019). *In vitro* antibacterial activity of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larva extracts against Gram-negative bacteria. *Buletin Peternakan*, 43(2): 125-129.
73. Hsiao, T. H. (1988). Host specificity, seasonality and bionomics of *Leptinotarsa* beetles. In *Biology of chrysomelidae*. Dordrecht: Springer Netherlands 4: 581-599
74. Hsiao, T. H., and Fraenkel, G. (1968) Selection and specificity of the Colorado potato beetle for solanaceous and nonsolanaceous plants. *Annals of the Entomological Society of America* 61(2): 493-503.
75. Hunt, D. W. A., and Tan, C. S. (2000) Overwintering densities and survival of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) in and around tomato (Solanaceae) fields. *The Canadian Entomologist* 132(1): 103-105.
76. İnternet: Climate: <https://www.en.climate-data.org/asia/turkey/nevsehir/nevsehir-253> (Erişim Tarihi: 14.08.2022)
77. İnternet: EPPO Global Database: <https://gd.eppo.int/taxon/LPTNDE> (Erişim Tarihi: 29.10.2002).
78. İnternet: Spedona: <https://www.persee.fr/doc/geo> (Erişim Tarihi: 24.02.2013)

79. Internet: WordPress: <https://travelflightoffer.wordpress.com/tourist-map-of-cappadociaturkey> (Erişim Tarihi: 01.09.2013)
80. Ivanchik, E. P. and Izhevsky, S. S. (1981). The history of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say dispersal and its current range. The Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say. 3:11-26.
81. Izzo, V. M., Chen, Y. H., Schoville, S. D., Wang, C., and Hawthorne, D. J. (2018) Origin of pest lineages of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology* 111(2): 868-878.
82. Jacobson, J. W., and Hsiao, T. H. (1983) Isozyme variation between geographic populations of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Annals of the Entomological Society of America* 76(2): 162-166.
83. Jacques Jr R. L. (1972) Taxonomic Revision of the Genus *Leptinotarsa* (Coleoptera: Chrysomelidae) of North America. Xerox University Microfilms, Ann Arbor, USA. 8(2): 180-183.
84. Jacques R. L. (2019) *The Potato Beetles*. CRC Press, New York.
85. Jacques, P. F., Chylack, L. T., McGandy, R. B. and Hartz, S. C. (1988). Antioxidant status in persons with and without senile cataract. *Archives of Ophthalmology* 106(3): 337-340.
86. Jermy, T. and Balazs, K. (1990). A növényvédelmi állattan kézikönyve. Handbook of Agricultural Entomology, Akadémiai Kiadó, Budapest.
87. Jermy, T., and Butt, B. A. (1991) Method for screening female sex pheromone extracts of the Colorado potato beetle. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 59(1): 75-78.
88. Jermy, T., Szentesi, Á., and Horváth, J. (1988) Host plant finding in phytophagous insects: the case of the Colorado potato beetle. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 49(1-2): 83-98.
89. Jolivet, P. (1991). The Colorado beetle threatens Asia. *Leptinotarsa decemlineata* Say 1824 (Col. Chrysomelidae). *Entomologiste* 47(1): 29-48.
90. Kaya, M., Baran, T., Erdoğan, S., Menteş, A., Özüsağlam, M. A. and Çakmak, Y. S. (2014) Physicochemical comparison of chitin and chitosan obtained from larvae

- and adult Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*). Materials Science and Engineering: C 45: 72-81.
91. Kaya, M., Baublys, V., Šatkauskienė, I., Akyuz, B., Bulut, E., and Tubelytė, V. (2015) First chitin extraction from *Plumatella repens* (Bryozoa) with comparison to chitins of insect and fungal origin. International Journal of Biological Macromolecules 79: 126-132.
 92. Kaya, M., Mujtaba, M., Bulut, E., Akyuz, B., Zelencova, L., and Sofi, K. (2015) Fluctuation in physicochemical properties of chitins extracted from different body parts of honeybee. Carbohydrate Polymers 132: 9-16.
 93. Kekillioğlu A., Yılmaz M. (2018a) Nevşehir ili ve çevresindeki *Leptinotarsa decemlineata* (Insecta: Coleoptera)'nın biyoekolojisi üzerine bir araştırma. IJANS 1(1): 25-28.
 94. Kekillioğlu A., Yılmaz M. (2018b) Patates böceği [*Leptinotarsa decemlineata* Say. (Coleoptera: Chrysomelidae)]'nin Nevşehir ilinde yaşamsal etkileşim ve çeşitliliği üzerine bir ön çalışma. Journal of AARI 28(1): 100-107.
 95. Knorr, D. (1984) Use of chitinous polymers in food. Food technology Chicago 38(1): 85-97.
 96. Kobayashi, S., Kiyosada, T. and Shoda, S. I. (1996). Synthesis of artificial chitin: irreversible catalytic behavior of a glycosyl hydrolase through a transition state analogue substrate. Journal of the American Chemical Society 118(51): 13113-13114.
 97. Kraatz, G. (1874). On the nomenclature of the Colorado potato beetle. Berlin Entomological Journal 18 (3-4): 442-444.
 98. Kraatz, G. (1874). On the nomenclature of the Colorado potato beetle. Berlin Entomological Journal 18 (3-4): 442-444.
 99. Krishnan, N., Kodrık, D., Kludkiewicz, B., and Sehnal, F. (2009) Glutathione–ascorbic acid redox cycle and thioredoxin reductase activity in the digestive tract of *Leptinotarsa decemlineata* (Say). Insect Biochemistry and Molecular Biology 39(3): 180-188.

100. Kroschel, J., Mujica, N., Okonya, J., and Alyokhin, A. (2020) Insect pests affecting potatoes in tropical, subtropical, and temperate regions. *The potato crop: Its agricultural, nutritional and social contribution to humankind*. Hugo Campos Oscar Ortiz International Potato Center Lima, Peru 10: 251-306.
101. Kumar, M. N. R. (2000) A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers* 46(1): 1-27.
102. Lactin, D. J., and Holliday, N. J. (1994) Behavioral responses of Colorado potato beetle larvae to combinations of temperature and insolation, under field conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 72(3): 255-263.
103. Landolt, P. J., Tumlinson, J. H., and Alborn, D. H. (1999) Attraction of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) to damaged and chemically induced potato plants. *Environmental Entomology* 28(6): 973-978.
104. Lashomb, J. H., and Ng, Y. S. (1984) Colonization by Colorado potato beetles, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) in rotated and nonrotated potato fields. *Environmental Entomology* 13(5): 1352-1356.
105. Lee, K. S., Yun, E. Y. and Goo, T. W. (2020). Antimicrobial activity of an extract of *Hermetia illucens* larvae immunized with *Lactobacillus casei* against *Salmonella* species. *Insects* 11(10): 704-708.
106. Lefevre, K. S., and De Kort, C. A. D. (1989) Adult diapause in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*: effects of external factors on maintenance, termination and post-diapause development. *Physiological Entomology* 14(3): 299-308.
107. Liu, S, J. Sun, L. Yu, C. Zhang, J. Bi, F. Zhu, M. Qu, C. Jiang, and Q. Yang (2012a) Extraction and characterization of chitin from the beetle *Holotrichia parallela* motschulsky. *Molecules* 17: 4604-4611.
108. Liu, S., Sun, J., Yu, L., Zhang, C., Bi, J., Zhu, F. and Yang, Q. (2012b). Antioxidant activity and phenolic compounds of *Holotrichia parallela* Motschulsky extracts. *Food Chemistry* 134(4): 1885-1891.
109. Lockwood, J. A. (2012). Insects as weapons of war, terror, and torture. *Annual Review of Entomology* 57: 205-227.

110. Logan, J. A., Wollkind, D. J., Hoyt, S. C., and Tanigoshi, L. K. (1976) An analytic model for description of temperature dependent rate phenomena in arthropods. *Environmental Entomology* 5(6): 1133-1140.
111. Logan, P. A., Casagrande, R. A., Faubert, H. H., and Drummond, F. A. (1985) Temperature-dependent development and feeding of immature Colorado potato beetles, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology* 14(3): 275-283.
112. Ma, G., Wu, L., Shao, F., Zhang, C. and Wan, H. (2019). Antimicrobial Activity of 11 Insects Extracts Against Multi Drug Resistant (MDR) Strains of Bacteria and Fungus. *Earth and Environmental Science* 252(2): 022132.
113. MacQuarrie, C. J., and Boiteau, G. (2003) Effect of diet and feeding history on flight of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 107(3): 207-213.
114. Marei, N. H., Abd El-Samie, E., Salah, T., Saad, G. R. and Elwahy, A. H. (2016). Isolation and characterization of chitosan from different local insects in Egypt. *International Journal of Biological Macromolecules* 82: 871-877.
115. Matuschek, E., Brown, D. F., and Kahlmeter, G. (2014) Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clinical Microbiology and Infection* 20(4): O255-O266.
116. Mazzanti, G., Mascellino, M. T., Battinelli, L., Coluccia, D., Manganaro, M., and Saso, L. (2000) Antimicrobial investigation of semipurified fractions of *Ginkgo biloba* leaves. *Journal of Ethnopharmacology* 71(1-2): 83-88.
117. Mead, P. S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L. F., Bresee, J. S., Shapiro, C. and Tauxe, R. V. (1999). Food-related illness and death in the United States. *Emerging infectious diseases* 5(5): 607.
118. Medvedev, Z. A. (1981) On the immortality of the germ line: genetic and biochemical mechanisms. A review. *Mechanisms of ageing and development* 17(4): 331-359.

119. Meltem, A. Ö., Çakmak, Y. S., Kaya, M., Erdoğan, S., Baran, T., Menteş, A., and Saman, İ. (2016) Antimicrobial and antioxidant properties of *Ceriodaphnia quadrangula ephippia chitosan*. Romanian Biotechnological Letters 21(5): 1-8.
120. Misener, G. C., and Boiteau, G. (1993) Holding capability of the Colorado potato beetle to potato leaves and plastic surfaces. Canadian Agricultural Engineering 35(1): 27-32.
121. Mossel, D. A. A. (1988). Impact of foodborne pathogens on today's world, and prospects for management. Animal and Human Health 1(1): 13-23.
122. Motschulsky, V., 1845. Remarques sur la collection de Coléoptères Russes. Bull. Soc. Nat. Moscou, Moscou 18(1): 3-127.
123. Muxika, A., Etxabide, A., Uranga, J., Guerrero, P., and De La Caba, K. (2017) Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications. International Journal of Biological Macromolecules 105: 1358-1368.
124. Muzzarelli, R. A. A., Rocchetti, R., Stanic, V., and Weckx, M. (1997) Methods for the determination of the degree of acetylation of chitin and chitosan. European Chitin Society Torrette, AN 161: 109-119.
125. Nakajima, Y., Ishibashi, J., Yukuhiro, F., Asaoka, A., Taylor, D. and Yamakawa, M. (2003). Antibacterial activity and mechanism of action of tick defensin against Gram-positive bacteria. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects 1624(1-3): 125-130.
126. Nault, B. A., and Kennedy, G. G. (1998) Limitations of using regression and mean separation analyses for describing the response of crop yield to defoliation: a case study of the Colorado potato beetle (*Coleoptera: Chrysomelidae*) on potato. Journal of Economic Entomology 91(1): 7-20.
127. Nemtsev SV, Zueva OY, Khismatullin MR, Albulov AI, Varlamov VP (2004) Isolation of chitin and chitosan from honeybees. Appl Biochem Micro 40:39-43.
128. Ng, Y. S., and Lashomb, J. (1983) Orientation by the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say). Animal Behaviour 31(2): 617-619.
129. Orsetti, D. M., and Rutowski, R. L. (2003) No material benefits, and a fertilization cost, for multiple mating by female leaf beetles. Animal Behaviour 66(3): 477-484.

130. Peter, M. G. (1995) Applications and environmental aspects of chitin and chitosan. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry* 32(4): 629-640.
131. Piironen, S., Ketola, T., Lyytinen, A., and Lindström, L. (2011) Energy use, diapause behaviour and northern range expansion potential in the invasive Colorado potato beetle. *Functional Ecology* 25(3): 527-536.
132. Poos, F.W. 1932. Biology of the potato leafhopper, *Empoasca fabae* (Harris), and some closely related species of *Empoasca*. *Journal of Economic Entomology* 25: 639-646.
133. Prabu, K., and Natarajan, E. (2012) *In vitro* antimicrobial and antioxidant activity of chitosan isolated from *Podophthalmus vigil*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 2(9): 075-082.
134. Pulatov, B., Jönsson, A. M., Wilcke, R. A., Linderson, M. L., Hall, K., and Barring, L. (2016) Evaluation of the phenological synchrony between potato crop and Colorado potato beetle under future climate in Europe. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 224: 39-49.
135. Qin, Y., and Li, P. (2020) Antimicrobial chitosan conjugates: Current synthetic strategies and potential applications. *International Journal of Molecular Sciences* 21(2): 499.
136. Radcliffe, E. B. (1982) Insect pests of potato. *Annual Review of Entomology* 27(1): 173-204.
137. Rao, P. S., Sharma, H., Singh, R., Meghawal, K., and Pradhan, D. (2018) Chitosan and its Application in Dairy Industry. In *Quality control and waste utilization for agriculture and dairy products*. Prince Chawla New India publishing agency-Nipa India 123-134.
138. Riley, C. V. (1875) Annual report on the noxious, beneficial and other insects of the state of Missouri. Eegan and Carter, State Printers and Binders, Washington.
139. Roderick, G. K., de Mendoza, L. G., Dively, G. P. and Follett, P. A. (2003). Sperm precedence in Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera:

- Chrysomelidae): temporal variation assessed by neutral markers. *Annals of the Entomological Society of America* 96(5): 631-636.
140. Saadoun, J. H., Sogari, G., Bernini, V., Camorali, C., Rossi, F., Neviani, E., and Lazzi, C. (2022) A critical review of intrinsic and extrinsic antimicrobial properties of insects. *Trends in Food Science & Technology* 122: 40-48.
141. Sagun, S., Collins, E., Martin, C., Nolan, E. J. and Horzempa, J. (2016). Alarm odor compounds of the brown marmorated stink bug exhibit antibacterial activity. *Journal of Pharmacognosy and Natural Products* 2(3): 3-8.
142. Sakai, A. K., Allendorf, F. W., Holt, J. S., Lodge, D. M., Molofsky, J., With, K. A., and Weller, S. G. (2001) The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematics* 32(1): 305-332.
143. Salmabi, K.A. and P.N. Seema (2013) Antibacterial potential of chitosan on pathogenic Gram positive cocci. *Advanced BioTech* 12: 10-13.
144. Sanchez, D. M. (2003). Resistance and metabolism of imidacloprid in Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae). Doctoral dissertation, Michigan State University, USA.
145. Sanin, V. A. (1976). Colorado potato beetle. Kolos Farmer Company, Chicago.
146. Saruhan, I. (2012) Discrimination of the *Palomena prasina* L. (Heteroptera: Pentatomidae) nymph stages and sex using some morphological parameters by the multiple regression analysis. *African Journal of Biotechnology* 11(9): 2365-2370.
147. Say, T. (1824) Descriptions of coleopterous insects collected in the late expedition to the Rocky Mountains, performed by order of Mr. Calhoun, Secretary of War, under the command of Major Long. *J Acad. Nat. Sci. Phila.* 3(1): 139-216.
148. Schoville, S. D., Chen, Y. H., Andersson, M. N., Benoit, J. B., Bhandari, A., Bowsher, J. H. and Richards, S. (2018). A model species for agricultural pest genomics: the genome of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Scientific reports* 8(1): 1931.
149. Senanayake, D. G., and Holliday, N. J. (1989) Seasonal abundance of foliage-dwelling insect pests in commercial fields and insecticide-free plots of potato in Manitoba. *The Canadian Entomologist* 121(3): 253-265.

150. Sonia, T. A., and Sharma, C. P. (2011) Chitosan for Biomaterials I. Springer Berlin, Heidelberg.
151. Stål C. (1863). Beitrag zur Kenntnis der Fulgoriden. Entomologische Zeitung. Herausgegeben von dem entomologischen Vereine zu Stettin 24: 230–251.
152. Stål, C. (1859). Monographie der Gattung Conorhinus und Verwandten. Berl. Ent. Zeitschr. 3: 99–117.
153. Stegwee, D., Kimmel, E. C., De Boer, J. A., and Henstra, S. (1963) Hormonal control of reversible degeneration of flight muscle in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera). The Journal of Cell Biology 19(3): 519-527.
154. Suffrian, E. (1858) Uebersicht der in den Verein. Staaten von Nord-Amerika einheimischen chrysomelen. Ent. Ztg. Stettin 19: 237-278.
155. Szafranek, B. M., and Synak, E. E. (2006) Cuticular waxes from potato (*Solanum tuberosum*) leaves. Phytochemistry 67(1): 80-90.
156. Szentesi, A., Weber, D. C., and Jermy, T. I. B. O. R. (2002) Role of visual stimuli in host and mate location of the Colorado potato beetle. Entomologia Experimentalis et Applicata 105(2): 141-152.
157. Tauber, M. J., and Tauber, C. A. (2002) Prolonged dormancy in *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae): a ten-year field study with implications for crop rotation. Environmental Entomology 31(3): 499-504.
158. Thibout, E., Auger, J. and Lecomte, C. (1982) Host plant chemicals responsible for attraction and oviposition in *Acrolepiopsis assectella*. In Proceedings of the 5th International Symposium on Insect-Plant Relationships. Dordrecht: Kluwer Academic Publications 107-116.
159. Thiery, D., and Visser, J. H. (1995) Satiation effects on olfactory orientation patterns of Colorado potato beetle females. Comptes Rendus de l'Academie des Sciences-Serie III-Sciences de la Vie 318(1): 105-112.
160. Tokoro, A., Kobayashi, M., Tatewaki, N., Suzuki, K., Okawa, Y., Mikami, T. and Suzuki, M. (1989) Protective effect of N-acetyl chitohexaose on *Listeria monocytogenes* infection in mice. Microbiology and Immunology 33(4): 357-367.

161. Tower, W. L. (1906) An investigation of evolution in chrysomelid beetles of the genus *Leptinotarsa*. Carnegie institution of Washington, Washington, D.C.
162. Tower, W. L. and Breitenbecher, J. K. (1918). The mechanism of evolution in *Leptinotarsa*. Carnegie Institution of Washington 2: 263.
163. Tripathi, P., and Dubey, N. K. (2004). Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 32(3), 235-245.
164. Trouvelot, B. (1932). Research on the parasites and predators attacking the Colorado potato beetle in North America. In *Annales des Epiphyties et de Phytogénétique* 17:408-445.
165. Tufail, M. ve Takeda, M. (2008) Molecular characteristics of insect vitellogenins. *Journal of Insect Physiology* 54(12): 1447-1458.
166. Ushatinskaya, R. S. (1966) Seasonal Migration of the Imago of the Colorado Potato Beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) in Different Types of Soil and the Physiological Variations of Specimens in Hibernating Populations. *Ecological Bulletins* 25: 526-529.
167. Venkatesan, J., and Kim, S. K. (2010) Chitosan composites for bone tissue engineering-an overview. *Marine Drugs* 8(8): 2252-2266.
168. Vermetten, Y. J., Vermunt, J. D., and Lodewijks, H. G. (1999) A longitudinal perspective on learning strategies in higher education-different view-points towards development. *British Journal of Educational Psychology* 69(2): 221-242.
169. Visser, J. H., and Avé, D. A. (1978) General green leaf volatiles in the olfactory orientation of the Colorado beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 24(3): 738-749.
170. Visser, J. H., Van Straten, S., and Maarse, H. (1979) Isolation and identification of volatiles in the foliage of potato, *Solanum tuberosum*, a host plant of the Colorado beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Journal of Chemical Ecology* 5: 13-25.
171. Vlasova, V. A. (1978) Forecasting the area of distribution of the Colorado beetle in the Asiatic territory of the USSR. *Zashchita Rastenii* 6: 44-45.

172. Voss, R. H. and Ferro, D. N. (1990). Phenology of flight and walking by Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) adults in western Massachusetts. *Environmental Entomology* 19(1): 117-122.
173. Walsh, B. D. (1868). First annual report on the noxious insects of the state of Illinois. Prairie Farmer Company Steam Print, Chicago.
174. Wang, J., Gao, Z., Yang, M., Xue, R., Yan, H., Fu, K. and Zeng, R. (2020) Geographically isolated Colorado potato beetle mediating distinct defense responses in potato is associated with the alteration of gut microbiota. *Journal of Pest Science* 93: 379-390.
175. Waśko, A., Bulak, P., Polak-Berecka, M., Nowak, K., Polakowski, C. and Bieganski, A. (2016). The first report of the physicochemical structure of chitin isolated from *Hermetia illucens*. *International Journal of Biological Macromolecules* 92: 316-320.
176. Weber, D. (2003) Colorado beetle: pest on the move. *Pesticide Outlook* 14(6): 256-259.
177. Weber, D. C., and Ferro, D. N. (1993) Distribution of overwintering Colorado potato beetle in and near Massachusetts potato fields. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 66(2): 191-196.
178. Wellik, M. J., Slosser, J. E., and Kirby, R. D. (1981) Effects of simulated insect defoliation on potatoes. *American Potato Journal* 58: 627-632.
179. Yılmaz, ME. (2017) Kapadokya Bölgesi: Nevşehir İli-Mazı Lokalitesi *Leptinotarsa decemlineata* (Insecta: Coleoptera) Türünün Biyoekolojisi ve Morfolojisinin İncelenmesi. Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Nevşehir.
180. Yocum, G. D. (2003) Isolation and characterization of three diapause-associated transcripts from the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Journal of Insect Physiology* 49(2): 161-169.
181. Yocum, G. D., Rinehart, J. P., and Larson, M. L. (2011) Monitoring diapause development in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, under field

- conditions using molecular biomarkers. *Journal of Insect Physiology* 57(5): 645-652.
182. Yoon, K. A., Kim, J. H., Nauen, R., Alyokhin, A., Clark, J. M. ve Lee, S. H. (2022) Characterization of molecular and kinetic properties of two acetylcholinesterases from the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 185: 105137.
183. Yüncü, Z. T. (2015) A proposal for a method of cultural landscape character assessment: a research on the context, method and results for the cappadocia landscape, Turkey. Middle East Technical University Institute of Natural and Applied Sciences, Ph.D. Thesis, Ankara.
184. Zehnder, G. and Speese III, J. (1987) Assessment of color response and flight activity of *Leptinotarsa decemlineata* (Say)(*Coleoptera: Chrysomelidae*) using window flight traps. *Environmental Entomology* 16(5): 1199-1202.
185. Zhang, M., Haga, A., Sekiguchi, H. and Hirano, S. (2000) Structure of insect chitin isolated from beetle larva cuticle and silkworm (*Bombyx mori*) pupa exuvia. *International Journal of Biological Macromolecules* 27(1): 99-105.