

**T.C.**  
**AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI CURCULONIDAE (COLEOPTERA) FAMILİYASI**  
**BİREYLERİNİN SİNDİRİM SİSTEMLERİNDEKİ**  
**BAKTERİ FLORASININ İNCELENMESİ**

**Yasemin İPEK ERBEY**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KIRŞEHİR 2015**

**T.C.**  
**AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI CURCULONIDAE (COLEOPTERA) FAMILİYASI**  
**BİREYLERİNİN SİNDİRİM SİSTEMLERİNDEKİ**  
**BAKTERİ FLORASININ İNCELENMESİ**

**Yasemin İPEK ERBEY**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Hatice ÖĞÜTCÜ**

**KIRŞEHİR 2015**

## Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Doç. Dr. Hikmet KATIRCIOĞLU

Üye

Doç. Dr. Hatice ÖĞÜTCÜ

Üye

Doç. Dr. Makbule ERDOĞDU

Onay

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../.../20..

Doç. Dr. Mahmut YILMAZ

Enstitü Müdürü V.

## **TEZ BİLDİRİMİ**

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Yasemin ERBEY

# BAZI CURCULONIDAE (COLEOPTERA) FAMILYASI BİREYLERİNİN SİNDİRİM SİSTEMLERİNDEKİ BAKTERİ FLORASININ İNCELENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Yasemin ERBEY

Ahi Evran Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü

## ÖZET

Bu çalışmada Curculionidae (Coleoptera) familyasına ait 5 türün (*Curculio nucum* (Linnaeus, 1758); *Eusomus ovulum* Germar, 1824; *Hypera postica* Gyllenhal, 1813; *Lixus cardui* Olivier, 1808; *Sitona pucticollis* Stephens, 1831) sindirim sistemlerindeki bakteri floraları incelenmiştir. Örnekler 2014 yılı Mayıs-Ağustos ayları arasında Kırşehir ilindeki farklı lokalitelerden toplanmıştır. Yakalanan örnekler steril tüpler içerisine konularak laboratuvara canlı olarak getirilmiş, disekte edilerek sindirim sistemleri çıkarılmış ve steril koşullarda nutrient agar plaklara yayma ekim yapılmıştır. Gelişen tek koloniler seçilerek saflaştırma işlemi gerçekleştirilmiş ve 17 izolat elde edilmiştir. Morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal testler ve moleküler tanı yöntemi ile (16S rRNA PCR ve 16S rRNA gen bölgesi DNA dizi analizi) izolatlar tanımlanmıştır. Fenotipik ve genotipik verilerin birlikte değerlendirilmesi sonucunda; 17 izolatın karakterizasyonu ve tanısı yapılarak 11 tanesinin farklı bakteri türü (*Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Lactococcus garviae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Stenotrophomonas rhizophila*, *Pantoea agglomerans* ve *Pseudomonas trivialis*) olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak ekolojik ve ekonomik öneme sahip Curculionidae familyası bireylerinden elde edilen bu türlerin aynı gruba karşı biyolojik kontrol amaçlı kullanılabilmesi düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Curculionidae, Sindirim sistemi florası, *Bacillus* sp.,  
*Enterobacter* sp., *Pseudomonads* sp., *Lactococcus garviae*

Sayfa Adedi: XI+53

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Hatice ÖĞÜTCÜ

# THE INVESTIGATION OF BACTERI FLORA IN DIGESTION SYSTEM OF SOME MEMBERS OF CURCULIONIDAE (COLEOPTERA) FAMILY

Master's Thesis

Yasemin ERBEY

Ahi Evran University

Institute of Sciences

## ABSTRACT

In this study, the bacteria flora in digestive system of 5 species (*Curculio nucum* (Linnaeus, 1758); *Eusomus ovulum* Germar, 1824; *Hypera postica* Gyllenhal, 1813; *Lixus cardui* Olivier, 1808; *Sitona pucticollis* Stephens, 1831) of Curculionidae (Coleoptera) were investigated. The samples were collected from different localities in Kırşehir city between May and August in 2014 year. The catch samples put in steril tube and lively bring to laboratory. Samples dissected and removed to digestive system, and spreaded to plaque of nutrient agar at the steril conditions. Developed single colonies selected and purified and achieved 17 isolates. The isolates were described by morphologic, physiological, biochemical tests and method of molecular methods ( 16S rRNA PCR and 16S rRNA sequence analysis). As a result of assessment which datums of phenotypic and genotypic characterization and identified of 17 isolates were made and 11 different bacterial species (*Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Lactococcus garviae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Stenotrophomonas rhizophila*, *Pantoea agglomerans* ve *Pseudomonas trivialis*) determined. As a result, the bacterial species that achieved from the spesies of Curculionidae family which have economic and ecological importance can used.

**Key Words:** Curculionidae, gut flora, *Bacillus* sp., *Enterobacter* sp., *Pseudomonads* sp., *Lactococcus garviae*

Number of Pages: XI+53

Thesis Advisor: Doç. Dr. Hatice ÖĞÜTCÜ

## TEŞEKKÜR

Araştırmanın planlanmasından yürütülmesine ve sonuçlarının değerlendirilmesine kadar her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, destek olan, bilgi ve görüşlerinden yararlandığım, büyük özveride bulunan, danışmanım, Sayın Doç. Dr. Hatice ÖĞÜTCÜ'ye, Curculionidae örneklerinin toplanıp teşhis edilmesi ve diseksiyon çalışması ile sindirim sistemlerinin elde edilmesinde yardımcı olan hocam Yrd. Doç. Dr. Mahmut ERBEY'e, laboratuvar çalışmalarım esnasında görüş ve yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Tayfun KAYA ve Arş. Gör. Esin KIRAY'a, çalışmalarımda yardımcı olan arkadaşlarım Hülya AVŞAR, Muhammed Yunus Emre KARAMAN'a, ayrıca izolatlarımın moleküler tanısı aşamasında destek olan Prof. Dr. Medine GÜLLÜCE, Doç. Dr. Özlem BARIŞ, Doç. Dr. Elif SEVİM, Arş. Gör. Mehmet KARADAYI ve Biyolog Selma SEZEN'e teşekkürü bir borç bilirim. Yine çalışmalarım esnasında sevgi, ilgi, maddi ve manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim Annem, Babam ve Kardeşlerime en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (4003/2.13.002) kapsamında desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

<b>ÖZET</b> .....	I
<b>ABSTRACT</b> .....	III
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	V
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	VIII
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	IX
<b>RESİMLER DİZİNİ</b> .....	X
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. MATERYAL VE METOD</b> .....	12
2.1. Çalışılan Curculionidae (Coleoptera) türleri.....	12
2.2. Mikroorganizmaların İzolasyonu.....	12
2.3. Kullanılan Mikroorganizmalar.....	13
2.4. Kullanılan Besiyerleri.....	13
2.4.1. Glukoz fosfat peptonlu su.....	14
2.4.2. Nutrient agar (Fluka-70148).....	14
2.4.3. Triptik soy agar (%10 NaCl).....	14
2.4.4. Triptik soy agar (%15 NaCl).....	15
2.4.5. Kanlı Agar.....	15
2.5. Kullanılan ayıraçlar.....	15
2.5.1. Metil kırmızısı.....	15
2.5.2. $\alpha$ -Naftol ayıracı (% 5'lik).....	15
2.5.3. Tetrametil-p-fenilendiamin ayıracı (% 0.5'lik).....	16
2.6. Kullanılan boyalar.....	16
2.6.1. Kristal viyole.....	16
2.6.2. Safranin.....	16
2.6.3. Lugol.....	16
2.7. Kullanılan çözeltiler.....	17
2.7.1. KOH Çözeltisi (%40'lık).....	17
2.8. Mikroorganizmaların Tanımlanması.....	17
2.9. Morfolojik ve biyokimyasal testler.....	17
2.9.1. Gram boyama.....	17
2.9.2. Hemoliz testi.....	18

2.9.3. Katalaz testi.....	19
2.9.4. Oksidaz testi.....	19
2.9.5. Metil Kırmızısı (MR) Testi.....	19
2.9.6. Voges - Proskauer (VP) Testi.....	20
2.9.7. Sitrat testi.....	20
2.9.8. Üç Şekerli Demir (TSI) Agar Testi.....	21
2.9.9. Hareketlilik testi.....	21
2.9.10. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim.....	22
2.9.11. Farklı sıcaklıklarda gelişim.....	22
2.9.12. İzolatların Bazı Genetiksel Özelliklerinin Belirlenmesi.....	22
2.9.12.1. Bakteri Hücrelerinden Genomik DNA'ların İzolasyonu.....	22
2.9.12.2. Bakteri İzolatlarının 16S rDNA Bölgesinin PCR ile Amplifikasyonu.....	24
2.9.12.3. Reaksiyonun (Master mix'in) Hazırlanması.....	24
2.9.12.4. PCR Programı.....	25
2.9.12.5. 16S rRNA PCR Ürünlerinin Elektroforezi.....	25
2.9.12.6. 16S rDNA Sekans Analizi.....	25
2.9.13. Stok oluşturma.....	26
<b>3. BULGULAR.....</b>	<b>27</b>
3.1. Bakteri İzolasyonu Sonuçları.....	29
3.2. İzolatların Morfolojik Özellikleri.....	29
3.3. İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları.....	31
3.4. İzolatların Fizyolojik Test Sonuçları.....	35
3.5. İzolatların 16S rRNA BLAST Sonuçları.....	37
3.6. Filogenetik Ağaç.....	39
3.7. İzolatların Stoklanması.....	42
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>43</b>
<b>5. KAYNAKLAR.....</b>	<b>52</b>
<b>6. EKLER.....</b>	<b>57</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>63</b>

## TABLÖLAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Bakteriyel İzolatlarının Morfolojik Özellikleri.....	31
<b>Tablo 2.</b> Bakteriyel İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları.....	35
<b>Tablo 3.</b> Bakteriyel İzolatların Fizyolojik Test Sonuçları.....	37
<b>Tablo 4.</b> İzolatların 16S rRNA BLAST Sonuçları.....	38
<b>Tablo 5.</b> Bakteriyel izolatların tür tayini sonuçları.....	41

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Böceklerde görülen sindirim kanalı.....	5
Şekil 3.1. Bakteriyal izolatların filogenetik ağacı.....	41

## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.1.</b> a) Curculionidae familyasında rostrum durumları.....	2
<b>Resim 1.2.</b> Curculionidae familyası bireylerinde rostrumun ucunda bulunan mandibul yapıları.....	2
<b>Resim 1.3.</b> Curculionidae familyasında; a- Larva, b- Pupa.....	3
<b>Resim 1.4.</b> Konukçu bitki üzerinde bulunan Curculionidae familyası bireyleri.....	3
<b>Resim 1.5.</b> Konukçu bitki üzerinde beslenen larva.....	4
<b>Resim 2.1.</b> Atrapla süpürme tekniği.....	12
<b>Resim 2.2.</b> a- Steril tüp içerisindeki örnekler, b- Sindirim kanalı.....	13
<b>Resim 3. 1.</b> <i>Curculio nucum</i> ; a- Lateral görünüm, b- Dorsal görünüm.....	27
<b>Resim 3. 2.</b> <i>Eusomus ovulum</i> ; a- Lateral görünüm, b- Dorsal görünüm.....	27
<b>Resim 3. 3.</b> <i>Hypera postica</i> ; a- Lateral görünüm, b- Dorsal görünüm.....	28
<b>Resim 3. 4.</b> <i>Lixus cardui</i> ; a- Lateral görünüm, b- Dorsal görünüm.....	28
<b>Resim 3. 5.</b> <i>Sitona pucticollis</i> ; a- Lateral görünüm, b- Dorsal görünüm.....	29
<b>Resim. 3. 6.</b> Gram Boyama Mikroskopik Görüntü Örnekleri; a) <i>Bacillus pumilus</i> , b) <i>Enterobacter ludwigii</i> c) <i>Bacillus</i> sp.....	30
<b>Resim 3. 7.</b> Hareketlilik Testi Sonuçları.....	30
<b>Resim 3. 8.</b> Katalaz Testi Sonuçları.....	31
<b>Resim 3. 9.</b> Oksidaz Testi Sonuçları.....	32
<b>Resim 3. 10.</b> Hemoliz Testi Sonuçları a) $\alpha$ -hemoliz, b) $\beta$ -hemoliz, c) $\gamma$ -hemoliz....	32
<b>Resim 3. 11.</b> Metil Kırmızısı Testi Sonuçları (+) <i>Stenotrophomonas rhizophila</i> , (-) <i>Lactococcus garviae</i> .....	33
<b>Resim 3. 12.</b> Voges-Proskauer Testi Sonuçları (+) <i>Stenotrophomonas rhizophila</i> , (-) <i>Bacillus pumilus</i> .....	33
<b>Resim 3. 13.</b> Sitrat Testi Sonuçları (+) <i>Pseudomonas orientalis</i> , (-) <i>Escherichia coli</i> .....	34
<b>Resim 3. 14.</b> Üç Şekerli Demir Agar Testi Sonuçları.....	34
<b>Resim 3. 15.</b> İzolatların %10'luk Tuz Toleransı Sonuçları.....	35
<b>Resim 3. 16.</b> İzolatların %15'lik Tuz Toleransı Sonuçları.....	36
<b>Resim 3. 17.</b> İzolatların Sıcaklık Testi Sonuçları.....	36
<b>Resim 3. 18.</b> Saklama Örnekleri.....	42

## 1. GİRİŞ

Böcek mikrobiyal florasının en önemli üyelerini bakteriler oluşturmakta ve bu mikroorganizmalar böcekler için uygun gıda oluşturmak, besin sindirimine yardımcı olmak, faydalı enzimler üretmek, vitaminler sentezlemek, azot bağlamak, feromonlar üretmek ve böcek patojenleri ile rekabet etmek suretiyle onların yaşamına önemli katkılar sağlarlar. Ancak bütün bu yararlı etkilerine rağmen böcekleri öldüren, hastalandıran, pasifize eden ve kontrol eden bakteriler de bulunmaktadır (Gök, 2012).

Böceklerin gerek larva gerekse ergin dönemlerinde bağırsak sistemleri ve diğer vücut bölgelerinde birçok mikroorganizmayı içerdiği bu mikroorganizmaların böcekler ile patojenik ilişkilerden zorunlu mutualistik ilişkilere kadar birçok etkileşim tipine kaynaklık yaptığı da bilinmektedir (İskender ve Algur, 2009).

Mikroorganizma, virüsler dahil bir hücre veya hücre topluluğundan oluşmuş mikroskopik organizmalardır. Bazıları patojeniktir, genellikle böceklerin ölümüne neden olurlar ve bunların çoğu belli böcek cinslerine veya familyalarına özelleşmişlerdir. Böceğin çevresinde ve genellikle toprakta bulunan organizmalar, sporlar ve viral partiküller enfeksiyona neden olur. Bu patojenler böceklerin vücuduna çeşitli yollarla girerler. Doğal veya kültüre edilmiş böcek popülasyonlarında hastalığa neden olan mikroorganizmalar, diğer doğal düşmanlar gibi biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilirler (Gök, 2012).

Curculionidae; Coleoptera takımının tür sayısı bakımından en zengin familyalarından biridir. Bu familya, üyelerinin baş kısımlarının ileriye doğru uzamasıyla oluşan hortumdan dolayı “Hortumlu Kınkanatlılar” olarak bilinmektedir. Familya bireyelerinin vücutları oval, silindirik veya dikdörtgeni andırır biçimde olup boyları 1-35 mm arasında değişmektedir. Vücut şeklini genellikle pronotum ve elitranın dış görünümü belirlemektedir (Sert, 1995; Marvaldi ve Lanteri, 2005).

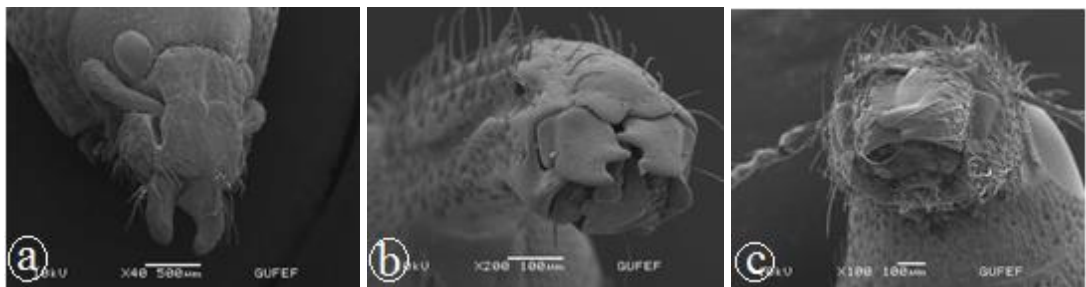
Başın gözlerin önünde ileriye doğru uzamasıyla oluşan hortum (rostrum) türlere göre değişen şekil, uzunluk ve kalınlıkta olmaktadır (Lodos, 1960; Sert,

1995). Rostrumun şekli ve uzunluğu beslenme ve yumurta koyma davranışına bağlı olarak değişmektedir (Rhichards ve Davies, 1977) (Resim 1.1). Rostrumun apikaline ağız kısımları yerleşmiştir. Bu durum Curculionoidea'nin karakteristik bir özelliğidir. Rostrumun şekli, uzunluğu ve genişliği taksonlar arasında önemli varyasyonlar göstermektedir. Rostrum, Curculioninae altfamilyasında ince, uzun, Entiminae altfamilyasında kısa, geniş olabilmektedir (Marvaldi ve Lanteri, 2005) (Resim 1 a-c).



**Resim 1.1.** a) Curculinidae familyasında rostrum durumları (a-c) (Erbey, 2010).

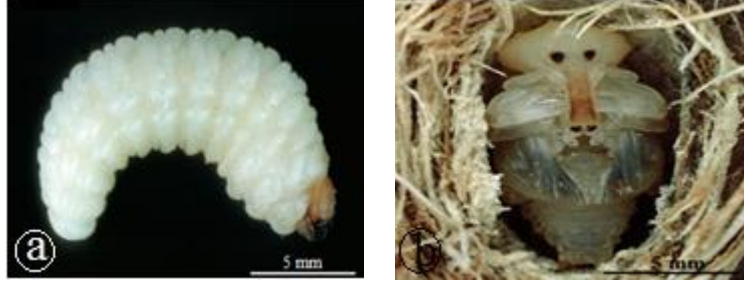
Rostrum eşeyssel dimorfizm gösterir, genellikle dişlerde erkeklere oranla daha uzundur. Çiğneyici tipte olan ağız parçaları hortumun ucunda yer almaktadır. Mandibullar çok değişik şekillerde olmakla birlikte genellikle küçük ve hançer şeklinde görünmektedir (Resim 1.2). Mandibulların iç yüzeyi genellikle dişli, dış yüzeyi düzdür. Mandibullar geniş burunlu grupta belirgin olarak büyük, güçlü ve üzeri kıllı, uzun burunlularda ise daha küçük, zayıf ve daha az tüylüdür (Marvaldi ve Lanteri, 2005).



**Resim 1.2.** Curculionidae familyası bireylerinde rostrumun ucunda bulunan mandibul yapıları (a-c) (Erbey ve Candan, 2013).

Curculionidae familyasının tümünde bacaksız (apode) larva tipi görülür. Larva genellikle iğ veya "C" şeklindedir (Resim 1.3a). Curculionidae familyası

türlerinde serbest pupa tipi görülür (Resim 1.3b). Başın dorsalinde tüy ve dikenler yer almış olup hortum her zaman belirgindir. Anten uzun ve belirgin segmentlidir. Pupa üzerinde kanat izleri belirgindir. Pupa dönemi toprakta yada konukçu bitki üzerinde geçirilir (Lodos, 1960).



**Resim 1.3.** Curculionidae familyasında; a- Larva, b- Pupa (www.barkbeetles.org).

Curculionidae familyası bireyleri birkaç istisnanın dışında tümü fitofagdır. Bu büyük grup aynı zamanda ekonomik önemi olan birçok bitkide büyük zararlara neden olmaktadır (Hoffmann, 1950) . Bitkilerin kök, gövde, yaprak veya meyve gibi kısımları üzerinde birden çok tür bulunabildiği gibi aynı türe ait hem larva hem de ergin aynı bitki üzerinde zarara neden olabilmektedir (Mihajlova, 1978) (Resim 1.4).



**Resim 1.4.** Konukçu bitki üzerinde bulunan Curculionidae familyası bireyleri (a-c) (www.barkbeetles.org).

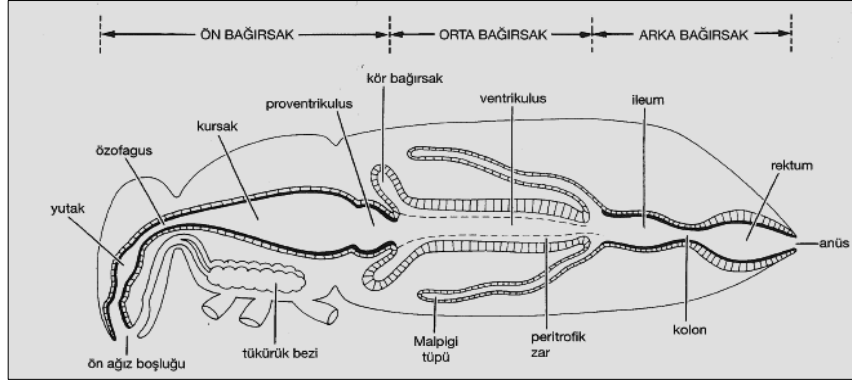
Familya türleri kışı genellikle ergin formda geçirirler. İlkbaharda böcek faaliyetinin başlamasıyla erginler zarar vermeye başlar. Dişi böcek konukçu bitki üzerinde rostrumuyla delikler açar. Bu deliklerin içine genellikle birer tane yumurta bırakır. Yumurtadan çıkan larva bulunduğu yerde beslenmeye başlar. En çok zarar verdiği dönem larva dönemidir (Resim 1.5). Pupa dönemini aynı bitki üzerinde veya toprakta geçirdikten sonra çıkan ergin zarara devam eder (Richard ve Davies, 1977).



**Resim 1.5.** Konukçu bitki üzerinde beslenen larva (a-c) ([www.barkbeetles.org](http://www.barkbeetles.org)).

Böceklerde ve dolayısıyla çalışma materyalimizi oluşturan Curculionidae (Coleoptera) familyasında, sindirim kanalı önde ağız ve arkada anüs açıklığı olan vücudu baştan sona kateden bir boru şeklindedir. Sindirim kanalı üç kısımdan oluşmaktadır: Önbağırsak (stomodeum), ortabağırsak (mesenteron) ve arkabağırsak (proctodeum) (Gök, 2012).

Yapı olarak önbağırsak ile arkabağırsak ektodermden, ortabağırsak endodermden gelişmiştir. Sindirim kanalının uzunluğu ot yiyenlerde (herbivor, fitofag), et yiyenlere göre (kornivor, zoofag) daha uzundur. İç yüzeyi kitinden oluşmuş diş gibi çıkıntılarla kaplı olan önbağırsak, besinin ufalanmasını sağlar; fakat yüzeyi kitinsel olduğundan besin absorpsiyonu olmaz. Ortabağırsak yani mideye geçen besin maddesi, sindirim için gerekli sıvılarla karşılaşır ve yavaş yavaş absorpsiyona uğrayarak sindirilir. Ortabağırsak sindirim kanalının başlıca salgı bölgesidir. Besin sindirildikten ve büyük bir kısmı absorpsiyona uğradıktan sonra geri kalan kısmı arka bağırsağa geçer. Burada da (ön kısımda) az miktarda absorpsiyon olur; özellikle besin artıklarından kalmış olan su bu bölümde alınır. Geriye kalan sindirim atıkları anüsten dışarı atılır. Böceklerde bağırsak bölgeleri farklı türlerde beslenmeye bağlı olarak çeşitli şekillerde gelişmiş bazı lokal özelleşmeler gösterirler (Gök, 2012).



**Şekil 1.1.** Böceklerde görülen sindirim kanalı (Gök, 2012).

Çalışma konusu ile ilgili literatür incelendiğinde; Nuttall (1899) şarbonun sineklerle bulaşması konusundaki gözlemlerini yayınlamıştır. Daha sonra Tabanidlerin şarbon basilini transmit etmeye uyumlu olduğunu kanıtlayan ilk çalışma Mitzman (1914) tarafından Filipinler’de yapılmıştır. Kolonin (1969), *Tabanus autumnalis*, *Tabanus bovinus*, *Tabanus bromius*, *Tabanus rusticus*, *Tabanus solstitialis*, *Haematopota pluvialis* ve *Chrysops caecutiens*’in Anthraxbasili (şarbon basili) *Bacillus anthracis* (Cohn)’i taşıdıklarını bildirmiştir (Tetik, 2007).

Morris (1918) enfekte ve sağlıklı domuzlar arasında şarbon basilinin mekanik transmisyonunu *Tabanus nigrovittatus* ile sağlayarak taşınımın tabanid türleri ile yakından ilgili olduğunu kanıtlamıştır (Tetik, 2007).

Steinhaus (1941) 7 takıma ait 30 türün bakteri florasını çalışmıştır. 30 böcek türünden *Escherichia* spp., *Aerobacter* spp., *Proteus* spp., *Eberthella* spp., *Serratia* spp., *Pseudomonas* spp., *Alcaligenes* spp., *Achromobacter* spp., *Flavobacterium* spp., *Bacterium* spp., *Micrococcus* spp., *Sarcina* spp, *Streptococcus* spp., *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp. cinsine ait 83 bakteri türünü morfolojik, kültürel ve fizyolojik karakterlerine göre belirlemiştir.

Amass ve ark., (1999) *Tabanus lineola* ve *Tabanus quinquevittatus* türlerinin enfekte olmuş domuzlarla beslendiğini ve deneysel olarak kolera etkenini taşıdıklarını gözlemlemiştir. At sineklerinin bu bakteriyi hasta olan domuzların

gözlerine temas ederek aldıkları ve daha sonra sağlıklı olan domuzların gözlerine temas ederek enfeksiyona neden olduklarını bildirmişlerdir.

Vries ve ark., (2001) bir fitofag olan *Frankliniella occidentalis* böceğinin sindirim sistemi kanalında *Erwinia* cinsine ait bakteri türlerinin yoğun olarak bulunduğunu ifade etmiştir.

Demir ve ark., (2002) fındık ve meşe ağaçları zararlısı olan *Anoplus roboris* Suf., (Coleoptera: Curculionidae)'den *Bacillus circulans*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus sphaericus* ve *Enterobacter* sp. bakterilerini izole etmişlerdir. Bu bakterilerin insektisidiyal etkilerinin kullanılması ile biyolojik kontrolünün yapılabileceğini ifade etmişlerdir.

Dharme ve ark., (2006) bütün böcek türlerinin vücutlarında ve sindirim sistemlerinde zengin ve kompleks mikroorganizma topluluğunun olduğunu ifade etmişlerdir. Bu mikrobiyotaların çoğunluğunun patojen ve zorunlu mutualist olduklarını belirtmişlerdir. Gelecekte böceklerin sindirim sistemlerindeki mikroorganizmaların bilinmesinin iki temel faydası olacaktır. Birincisi, mikrobiyal çeşitlilik biyoaktif içerikler açısından (örneğin; antimetabolitler, antiviral, antitümör peptitler, enzimler ve metabolitler) önemli bir kaynak oluşturacak; ikincisi ise mikrobiyal simbiyotlar böceklerin sindirim kanalında bulunan patojenlerin yayılmasının kontrolünde ve dolayısıyla biyolojik mücadelede etkili olarak kullanılabilir.

Tetik (2007) Tabanidae (Diptera) familyasına ait 10 türün sindirim sisteminde bulunan 36 bakteri türü tanımlamıştır; *Aeromonas caviae*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Bacillus alvei*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Brevundimonas vesicularis*, *Burkholderia mallei*, *Chryseobacterium indolegenes*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter cloacea*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus gallinarum*, *Klebsiella oxytoca*, *Micrococcus lylae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P.alcaligenes*, *P. stutzeri*, *Raoultella (Klebsiella) terrigena*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus cohnii*, *S. epidermidis*,

*Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus hominis* ss *novobiosepticus*, *Staphylococcus pasteurii*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Stenotrophomonas maltophilia*' dir.

Brinkmann ve ark., (2008) Lepidopter larvası olan *Manduca sexta*'nin bağırsak florasını inceleyerek *Enterococcus* sp. ve *Citrobacter sedlakii* türlerini teşhis etmişlerdir.

İskender ve Algur (2009) ladin ağaçlarının en önemli zararlılarından biri olan sekiz dişli kabuk böceğinin (*Ips typographus*, Coleoptera: Scolytidae) bakteriyal florasını araştırmışlardır. Burada zararlının erginlerinden 7 bakteriyal izolatu; *Paenibacillus macquariensis*, *Erwinia chrysanthemi*, *Serratia odorifera*, *Photorhabdus luminescens*, *Kluyvera cryocrescens* ve *Chryseobacterium balustinum* elde etmişlerdir.

Killer ve ark., (2010) *Bombus* (Hymenoptera) cinsine ait türlerin (*Bombus lucorum*, *Bombus pascuorum* ve *Bombus lapidarius*) sindirim sisteminde bulunan mikroorganizmaları incelemişler, fakültatif anaerob ve laktobasilleri izole etmişlerdir.

Seçil ve ark., (2011) mısır kurdu (*Ostrinia nubilalis*, Lepidoptera: Pyralidae)'nin sindirim sisteminde bulunan mikroorganizmaları incelemişlerdir. Morfolojik, biyokimyasal, fizyolojik ve moleküler özellikleri dikkate alarak; *Pseudomonas aeruginosa*, *Brevindimonas aurantiaca*, *Cryseobacterium formosense*, *Acinetobacter* sp., *Microbacterium thalassium*, *Bacillus megaterium*, *Ochrobactrum* sp., *Variovorax paradoxus*, *Microbacterium testaceum*, *Leucobacter* sp., *Serratia marcescens* türlerini tespit etmişlerdir.

Muratoğlu ve ark., (2011) önemli bir ladin zararlısı olan *Ips typographus* (L.) türünden 8 bakteri izolatu (*Bacillus sphaericus*, *Acinetobacter* sp., *Kluyvera cryocrescens*, *Acinetobacter* sp., *Vagococcus* sp., *Acinetobacter* sp., *Proteus vulgaris* ve *Serratia liquefaciens*) elde etmişlerdir. İnsektisidiyal etki sonuçlarına göre en

yüksek etkiyi gösteren *Serratia liquefaciens* türünün *Ips typographus*'e karşı biyolojik kontrol özelliğine sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Muratoğlu ve ark., (2011) Patates böceği olan *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Col.: Chrysomelidae) türünden yeni bir bakteri izolatu (*Pseudomonas putida*) elde etmişlerdir. İnsektisidial test sonuçlarına göre elde edilen izolatu *Leptinotarsa decemlineata* türünün biyolojik kontrolü için önemli bir biyolojik ajan olabileceğini ifade etmişlerdir.

Ademoğlu ve Idowu (2011) bir orthopter türü olan *Grasshopper zonocerus variegatus*' un sindirim kanalındaki bakteri florasını incelemişlerdir. *Staphylococcus aureus* türünün geniş yayılış gösterdiğini ifade ederek, *Klebsiella* sp. *Penicillium* sp. *Aspergillus niger*, *Candida* sp. türlerini elde etmişlerdir.

Demir ve ark., (2012) özellikle meyve ve orman ağaçları zararlısı olan *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae)'da bulunan patojenik bakterileri rutin tekniklerle izole etmişler, biyokimyasal ve metabolik enzim profillerini API20E ve Phoenix 1000A ile belirlemişlerdir. Testler sonucunda, *Pantotea agglomerans*, *Klebsiella* sp., *Acinetobacter calcoaceticus*, *Serratia marcescens*, *Erwinia* sp., *Bacillus thuringiensis* türlerini tespit etmişlerdir.

Tang ve ark., (2012) kara sineklerdeki (Diptera: Simuliidae) bakteri florasını incelemişler. Aeromonadaceae, Enterobacteraceae, Moraxellaceae, Pseudomonadaceae, Neisseriaceae, Sphingomonadaceae familyaları ve Actinobacteria, Bacteroidetes cinslerine ait 16sRNA gen bölgesini çalışarak bunların biyolojik kontrol amaçlı kullanılıp kullanılmayacağını belirlemişlerdir.

Geiger ve ark., (2013) *Glossina* spp. (Diptera) bağırsak florasını incelemişlerdir. *Sphingobacterium* sp., *Cryobacterium* sp., *Enterococcus* sp., *Providencia* sp., *Staphylococcus* sp., *Lactococcus* sp., *Enterobacter* sp., *Acinetobacter* sp. cinslerine ait bakteri türlerini izole etmişlerdir.

Toprak çok sayıda ve çeşitlilikte mikroorganizma topluluklarını barındırır. Bu mikroorganizma toplulukları arasında bitki kökleri ile ilişkili olan bakterilere kök bakterileri denir. Bu kök bakterileri bitki kökleri ile olan etkileşimleri göz önüne alındığında bir kısmının yararlı bir kısmının zararlı etkide bulunduğu görülmektedir. Yararlı etkide bulunan kök bakterilerinin bazıları bitkilerde gelişmeyi uyarıcı veya biyokontrol ajanı gibi rol oynayarak ya da her iki şekilde de davranarak bitkilere yararlı etkide bulunurlar (Romerio, 2000). Bu tür yararlı etkide bulunan kök bakterileri için dilimizde “bitki gelişimini uyarıcı kök bakterileri” diyebileceğimiz İngilizcede “Plant Growth Promoting Rhizobacteria” denilmekte ve PGPR olarak kısaltılmaktadır. Bu terim ilk kez 1978 yılında kullanılmıştır (Kloepper ve Schroth, 1978). Bitki gelişimini uyarıcı kök bakterilerinin bitki gelişimini uyarıcı etkisinin yanı sıra hastalıklara özellikle de toprak kaynaklı patojenlere karşı biyolojik savaşta etkili oldukları bilinmektedir (Kloepper, 1993; Lucas ve ark., 2000; Lemanceau ve ark., 2000; Parmar ve Dudarwal, 2000). Ancak, pek çok araştırmacı tarafından bitki gelişimini uyarıcı kök bakterilerinin yararlı etkileri olarak ortaya konmuş olan bitki gelişimini uyarıcı etkisi ile biyolojik kontrol etkilerini birbirinden kesin bir şekilde ayırmanın o kadar kolay olmadığı vurgulanmaktadır (Chen ve ark., 1996). Bu durum bir metal paranın iki yüzü gibidir. Bir yüzü bitki gelişimini uyarıcı etki diğer yüzü de biyolojik savaş etkisi gösterir (Kloepper, 1993). Zaten kök bakterilerinin bitki gelişimini uyarması dolaylı bir biyolojik savaş mekanizmi olarak da kabul edilmektedir (Altın ve Bora, 2005).

Bugün dünyanın pek çok ülkesinde, hem bitki gelişimini uyarıcı hem de biyokontrol ajanı olarak hastalıkları önleyen bu kök bakterileri ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde bitki gelişimini uyarıcı kök bakterilerinin genelde *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Paenibacillus*, *Arthobacter*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Comamonas*, *Hydrogenophaga*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes variovorax*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Klebsiella*, *Xanthomonas*, *Serratia*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter* gibi genuslarda yer aldığı görülmektedir. Bu genuslar arasında özellikle *Pseudomonas* ve *Bacillus*’lar bitki gelişimini uyarıcı etkilerinin yanı sıra patojenler açısından çok iyi antagonistik özelliklere sahip olmaları nedeniyle de dikkat çekmektedirler (Yaman ve Demirbağ, 1998).

Kimyasal insektisitlerin olumsuz etkilerinin keşfedilmesi bilim adamlarım daha etkili ve daha güvenli bir mücadele ajanı bulmaya yöneltmiştir. Gelecekte kimyasal mücadelenin yerini biyolojik mücadelenin alacağı düşünülmektedir. Biyolojik mücadelede kullanılan ajanlar ya doğadan izole edilmekte ya da rekombinant tekniklerle üretilmektedirler. Gerek doğal şartlarda zararlı böceklerde bulunabilen virüs, bakteri, protozoa gibi patojenlerin gerekse rekombinant tekniklerle üretilen *Bacillus thuringiensis* toksinleri gibi protein veya transgenik organizmaların zararlı böcekler üzerindeki insektisidal etkileri belirlenmelidir (Yaman ve Demirbağ, 1998).

Zararlı böceklerden izole edilen mikroorganizmaların ve rekombinant tekniklerle elde edilen biyolojik ajanların zararlı böcekler üzerinde insektisidal etkiye sahip olup olmadıkları, sahip iseler ne oranda insektisidal etkiye sahip oldukları, bu ajanların ziraî alanlarda pratik uygulamasının gerçekleşip gerçekleşmeyeceği ve uygulama esnasında ne gibi sorunların ortaya çıkacağı hakkında bilgiler elde edilecektir. Bu bilgiler sayesinde zararlı böcekler ile mücadelede yeni biyolojik kontrol teknikleri geliştirilecek ve kimyasal insektisitlerin olumsuz etkilerinden kurtularak ekolojik çevre bozulmadan mücadele sürdürülecektir (Yaman ve Demirbağ, 1998).

Çalışma materyalimiz olan Curculionidae (Coleoptera) familyası bireylerinin sindirim sistemlerinde bulunan bakteriler ile ilgili dünyada ve ülkemizde çalışma bulunmamaktadır. Yukarıda belirtilen literatür taraması incelendiğinde böceklerin sindirim sistemlerinde bulunan mikroorganizmalar ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışma grubumuzu oluşturan Curculionidae (Coleoptera) familyası bireyleri belirtildiği gibi fitofagdır. Bu familya bireyleri ekonomik önemi olan bitkilerde, tarımsal ürünlerde ve ormanlık alanlarda önemli derecede zararlar meydana getirmektedirler. Dolayısıyla ekonomik ve ekolojik öneme sahip böcek grubunu oluşturmaktadırlar. Bu nedenle familyaya ait bireylerin sindirim sistemlerinde bulunan mikroorganizmaların ve özellikle de bakteri florasının bilinmesi zararlı olan bu gruba karşı yapılacak biyolojik mücadeleye doğrudan katkı sağlayacaktır. Aynı zamanda bu familya üyelerinin önemli bir zararlı olması ve

sindirim sistemlerinde bulunan mikroorganizmalar ile ilgili çalışmaların yetersiz oluşu bu konunun seçilmesinde etkili olmuştur.

## 2. MATERYAL VE METOD

Örnekler 2014 yılı Nisan-Temmuz ayları arasında Kırşehir ilindeki farklı lokalitelerden toplanmıştır. Örneklerin yakalanmasında atrapla süpürme tekniği kullanılmıştır (Resim 2.1). Yakalanan örnekler steril tüpler içerisine konularak laboratuvara canlı olarak getirilerek (Resim 2.1) teşhisleri Ahi Evran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Mahmut ERBEY tarafından yapılmıştır.



**Resim 2.1.** Atrapla süpürme tekniği (a-b).

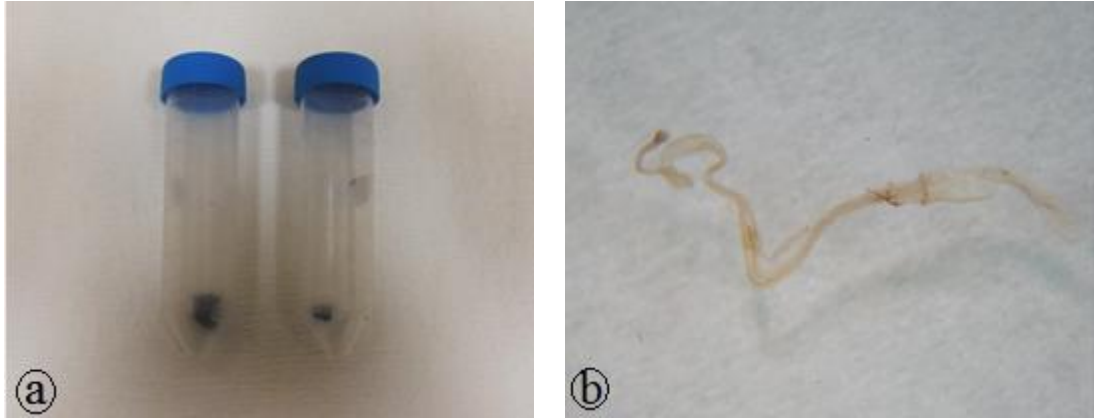
### 2.1. Çalışılan Curculionidae (Coleoptera) türleri

- *Curculio nucum* (Linnaeus, 1758)
- *Eusomus ovulum* Germar, 1824
- *Hypera postica* Gyllenhal, 1813
- *Lixus cardui* Olivier, 1808
- *Sitona pucticollis* Stephens, 1831

### 2.2. Mikroorganizmaların İzolasyonu

Teşhis edilen örnekler laboratuvarında steril bir ortamda disekte edilmiş, sindirim kanalları çıkarılarak (Resim 2.2) 5 ml steril fizyolojik tuzlu su içerisinde cam baget ile ezilerek, vorteks yardımıyla homojenize edilmiştir. Buradan ayrı ayrı 10 cm çapında içerisinde nutrient agar bulunan petrilere yayma plak yöntemiyle ekim

yapılmıştır. Bunun için orijinal örnekten otomatik pipet yardımıyla 1000 µl alınarak petrilere aktarılmış,



**Resim 2.2.** a- Steril tüp içerisindeki örnekler, b- Sindirim kanalı.

alkol ile steril edildikten sonra iyice yakılarak steril edilmiş drigalski spatülü ile tüm agar yüzeyine yayılmış ve petrilere aerob ve anaerob şartlarda 32°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen farklı koloniler seçilerek saflaştırılmak amacı ile nutrient agar petrilere ekim yapılmıştır. Buradan gelişen tek kolonilerden yatık nutrient agar bulunan tüplere alınarak + 4 °C’de saklanmıştır. Stok ortamına aktarım esnasında her mikroorganizmanın izole edildiği Curculionid türünü belirtecek şekilde izolat numarası verilmiştir.

### **2.3. Kullanılan Mikroorganizmalar**

Yapılan biyokimyasal testlerde kullanılan mikroorganizmalar *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*’dur.

### **2.4. Kullanılan Besiyerleri**

- Glukoz fosfat peptonlu su,
- Kanlı agar,
- Nutrient agar (Fluka-70148),
- Simmons sitrat agar (Fluka-85463),
- Triptik soy agar (Merck-1.05458),
- Triptik soy agar (%10 NaCl),

- Triptik soy agar (%15 NaCl),
- Üç sekerli demir agar ( TSI ) (Merck-1.03915)

#### **2.4.1. Glukoz fosfat peptonlu su**

Pepton	7.0 g
Glukoz	5.0 g
Sodyum Klorür	7.5 g
Dipotasyum Hidrojen Fosfat	2.5 g
Distile Su	1.0 lt

Maddeler karıştırılarak pH 7.0'ye ayarlanmıştır. Tüplere dağıtılarak 121 °C'de 1.5 atm. basınçta 15 dk. sterilize edilmiştir (Tetik, 2007; Temiz, 2010).

#### **2.4.2. Nutrient agar (Fluka-70148)**

Et Ekstrat	3.0 g
Pepton	5.0 g
Agar	15.0 g
Distile Su	1.0 lt

Bu maddeler distile suda eritilerek pH 7'ye ayarlanmış ve 121 °C'de 1.5 atm. basınçta 15 dk. sterilize edilmiştir (Tetik, 2007; Temiz, 2010).

#### **2.4.3. Triptik soy agar (%10 NaCl)**

Trypticase	17.0 g
Phytone	3.0 g
Sodyum Klorür	100.0 g
Dipotasyum Hidrojen Fosfat	2.5 g
Glukoz	2.5 g
Agar	15.0 g
Distile Su	1.0 lt

Ticari Triptik soy agar besiyerine (Merck-1.05458) 100.0 g NaCl eklenmiştir. Maddeler distile su içerisinde karıştırılarak pH'sı 7.2'ye ayarlanmış ve 121 °C'de 1.5 atm. basınçta 15 dk. sterilize edilmiştir (Tetik, 2007; Temiz, 2010).

#### **2.4.4. Triptik soy agar (%15 NaCl)**

Tripticase	17.0 g
Phytone	3.0 g
Sodyum Klorür	150.0 g
Dipotasyum Hidrojen Fosfat	2.5 g
Glukoz	2.5 g
Agar	15.0 g
Distile Su	1.0 lt

Ticari Triptik soy agar besiyerine (Merck-1.05458) 150.0 g NaCl eklenmiştir. Maddeler distile su içerisinde karıştırılarak pH'sı 7.2'ye ayarlanmış ve 121 °C'de 1.5 atm. basınçta 15 dk. sterilize edilmiştir (Tetik, 2007; Temiz, 2010).

#### **2.4.5. Kanlı Agar**

Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilmiştir.

Simmons sitrat agar (Fluka-85463), Üç şekerli demir agar ( TSI ) (Merck-1.03915) besiyerleri ticari olarak temin edilmiştir.

### **2.5. Kullanılan ayıraçlar**

#### **2.5.1. Metil kırmızısı**

Metil Kırmızısı	0.1 g
Etil Alkol (% 95)	30.0 ml
Distile Su	20.0 ml

Metil kırmızısı etil alkol içerisinde çözülmüş ve üzerine distile su ilave edilmiştir (Tetik, 2007; Temiz, 2010).

#### **2.5.2. $\alpha$ -Naftol ayıracı (% 5'lik)**

$\alpha$ -Naftol	5.0 g
Etil Alkol	100.0 ml

$\alpha$ -Naftol 80 ml etil alkol  $\text{öz}{\ddot{u}}\text{l}{\ddot{m}}{\ddot{u}}\text{}$  ve hacmi 100 ml ye tamamlanmıştır (Tetik, 2007; Temiz, 2010).

### **2.5.3. Tetrametil-p-fenilendiamin ayıracı (% 0.5'lik)**

Tetrametil-p-fenilendiamin	0.5 g
Distile Su	100.0 ml

Tetrametil-p-fenilendiamin 80.0 ml distile su içerisinde  $\text{öz}{\ddot{u}}\text{l}{\ddot{m}}{\ddot{u}}\text{}$  ve hacmi 100.0 ml'ye tamamlanmıştır (Tetik, 2007; Temiz, 2010).

## **2.6. Kullanılan boyalar**

### **2.6.1. Kristal viyole**

#### *Çözelti A*

Kristal Viyole	2.0 g
Etil Alkol (% 95)	10.0 ml

#### *Çözelti B*

Amonyum Oksalat	0.8 g
Distile Su	80.0 ml

Çözelti A ve B karıştırılmış distile su ile 1:10 oranında sulandırılıp filtre kağıdından süzölmüştür (Tetik, 2007; Temiz, 2010).

### **2.6.2. Safranin**

Safranin	0.25 g
Etil Alkol (% 95)	10.0 ml
Distile Su	100.0 ml

Safranin etil alkolde eritilip su ile karıştırılmıştır (Tetik, 2007; Temiz, 2010).

### **2.6.3. Lugol**

İyot	5.0 g
Potasyum iyodit	10.0 g
Distile Su	100.0 ml

Potasyum iyodit 30 ml distile su içerisinde çözüldükten sonra iyot çözeltiye eklenmiş ve çözelti hacmi 100 ml 'ye tamamlanmıştır (Tetik, 2007; Temiz, 2010).

## 2.7. Kullanılan çözeltiler

### 2.7.1. KOH Çözeltisi (%40'lık)

Potasyum hidroksit 40.0 g

Distile Su 60.0 ml

50.0 ml su içinde 40 gr potasyum hidroksit çözülmüş ve hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır (Tetik, 2007; Temiz, 2010).

## 2.8. Mikroorganizmaların Tanımlanması

Mikroorganizmaların tanımlanmasında “Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology” ve “The Prokaryotes” den yararlanılmıştır. İzole edilen her örnek nutrient agar plaklarına ekilerek 24-48 saat 32°C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen kolonilerden preparat hazırlanarak gram boyama tekniği ile boyamaları yapılmış ve kültürün gram özelliği, hücre morfolojisi, mikroskopik inceleme ile belirlenmiştir. Ayrıca her izolat ayrı ayrı katalaz, oksidaz, metil kırmızısı, Voges-Proskauer, sitrat, TSI, hareketlilik gibi biyokimyasal testlere tabi tutulmuştur. Ayrıca moleküler tanı amacıyla; 16S rRNA PCR ve 16S rRNA gen bölgesi DNA dizi analizi yapılmıştır.

## 2.9. Morfolojik ve biyokimyasal testler

### 2.9.1. Gram Boyama

Gram-pozitif ve gram-negatif *Bacteria*'nın duvar yapıları arasındaki farklılıkların, gram boyama tepkimesindeki farklılıklardan sorumlu olduğu düşünülür. Gram boyama sırasında hücre içinde kristal viyole-iyot kompleksi oluşur. Çözünmeyen bu kompleks, alkol ile gram-negatif *Bacteria*'dan uzaklaştığı halde, gram-pozitif *Bacteria*'da hücre içinde kalır. Gram-pozitif bakteriler birkaç tabakalı peptidoglikandan oluşan çok kalın duvarlara sahiptir. Bu duvarlar alkol ile muamele sonucunda su kaybeder. Su kaybı duvardaki porların kapanmasına yol açar ve

çözünmeyen kristal viyole-iyot kompleksinin hücre dışına çıkmasına engel olur. Buna karşılık gram-negatif bakteride alkol, lipid açısından zengin dış duvardan hızla içeri girer ve kristal viyole-iyot kompleksini hücreden özütleyerek uzaklaştırır (Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi, 2010).

32<sup>0</sup>C’de 24 saat nutrient agarda gelişen kolonilerden preparat hazırlanmıştır. Preparat fikse edildikten sonra kristal viyole ile 1 dakika boyanmıştır. Süre sonunda su ile iyice yıkandıktan sonra lügol solüsyonu ile 1 dakika muamele edilip kristal viyole uzaklaştırılmıştır. Lugol, su ile giderildikten sonra 10 saniye %70’lik alkol içerisinde boya giderimi sağlanmıştır. Bu işlemden sonra preparat karşıt boya olan safranin solüsyonu ile 30 saniye boyanıp su ile yıkanmıştır. Kurutma kağıdıyla kurutulduktan sonra ışık mikroskopunun 100x objektifinde immersiyon yağı damlatılarak hücreler incelenmiştir. Mor renkte görülen bakteriler gram pozitif, pembe renkte görülenler gram negatif olarak değerlendirilmiştir (Orhan, 2013; Öğütücü ve ark., 2014).

### **2.9.2. Hemoliz testi**

Bazı bakteriler sahip oldukları çeşitli tipteki hemolizin enzimleri ile kandaki hemoglobini farklı derecelerde hemoliz etme yani parçalama yeteneğine sahiptirler. Bakterilerin hemoliz yeteneği kanlı agar besiyeri kullanılarak test edilebilmektedir. Hemoliz testi, daha çok streptokok ve stafilokokları kendi içlerinde ayırmak için kullanılmaktadır. Streptokoklar kanlı agar besiyerinde  $\alpha$ -,  $\beta$ - ve  $\gamma$ - hemolitik reaksiyon verirler.  $\alpha$ -hemolitik streptokokların kanlı agar besiyerinde oluşturdukları kolonilerin etrafında, kenarları keskin hatlı olmayan, bulanık ve yeşilimsi bir zon oluşur.  $\beta$ - hemolitik streptokoklar, aynı besiyerinde tam hemoliz yaparak, kolonilerin etrafında düzgün bir hatla çevrilmiş temiz ve berrak bir hemoliz zonu oluşturur.  $\gamma$ -hemolitik streptokoklar ise hemolizin enzimine sahip olmayan, kanlı agar besiyerinde hemoliz oluşturmayan streptokoklardır (Temiz, 2010).

Kanlı agar besi ortamında 32<sup>0</sup>C’de 18-24 saat inkübasyon sonucunda gelişen koloniler incelenmiştir. Koloni etrafında berrak açık renkli zon oluşmuş ise  $\beta$

hemoliz, koyu bulanık renkli bir zon oluşmuş ise  $\alpha$  hemoliz, zon oluşmamış ise  $\delta$  hemoliz olarak değerlendirilmiştir (Tetik, 2007; Çelebi, 2012; Orhan, 2013).

### 2.9.3. Katalaz testi

Genellikle aerobik ve fakültatif anaerobik mikroorganizmaların sahip olduğu katalaz enzimi, ortamdaki hidrojen peroksiti su ve oksijene ayrıştırır. Katı veya sıvı besiyerinde geliştirilen bakteri kültürüne  $H_2O_2$  ilave edildiğinde, serbest oksijenin gaz kabarcıkları halinde gözlenebilmesi, hidrojen peroksitin ayrışmasını, dolayısıyla katalaz enziminin varlığını gösterir.

32 °C'de 24-48 saat nutrient agarda gelişen kolonilerin üzerine birkaç damla %3'lük hidrojen peroksit damlatılarak gaz çıkışı olup olmadığı kontrol edilmiştir. Gaz çıkışı görülen petri kâğıtları katalaz enzimine sahip oldukları için pozitif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak *Staphylococcus aureus* kullanılmıştır (Öğütücü, 2010; Orhan, 2013).

### 2.9.4. Oksidaz testi

Sitokrom C oksidaz enzimin varlığını arayan bir testtir. Bu enzim demir içeren bir hemoproteindir ve aerobik solunuma katılır. Zorunlu anaeroplarda genellikle bulunmaz (Aydın, 2004; Adıgüzel ve ark., 2010).

İzolatlar 32°C'de 18-24 saat nutrient broth'a ekilerek inkübasyona bırakılmıştır. Tüplerin içine % 0.5'lik Tetrametil-p-fenilendiamin ayırıcı damlatılmıştır. Okside olmuş sitokrom C, ayrıca bulunan p-amino dimetilaniolini okside ederek, mavi renkli bileşik oluşturmaktadır. Mavi renk pozitif olarak değerlendirilmiş ve pozitif kontrol olarak *Pseudomonas aeruginosa* kullanılmıştır (Öğütücü ve ark., 2010; Orhan, 2013).

### 2.9.5. Metil Kırmızısı (MR) Testi

Bazı bakteriler ortamda bulunan glikozu kullanarak çeşitli organik asitleri oluştururlar. Sonuçta ortamın pH'sı düşer ve bu özellikten faydalanarak bakterilerin

glikozdan asit oluşturup oluşturmadığını belirleyebilmek amacıyla MR testi yapılır (Temiz, 2010).

İçerisinde 5 ml glukoz fosfat peptonlu su bulunan tüpler içerisine izolatlardan ekim yapılarak 32°C’de 24 saat inkübasyon sonunda gelişen kültürlerin üzerine 4-5 damla Metil kırmızısı ayırıcı damlatılmıştır. Metil kırmızısı ayırıcı pH 6.0 da sarı renk ve pH 4.4’den aşağıda kırmızı renk gösterir. Kırmızı renk pozitif olarak değerlendirilirken sarı renk negatif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol için *Escherichia coli*, negatif kontrol olarak da *Klebsiella pneumonia* kullanılmıştır (Tetik, 2007; Çelebi, 2012; Orhan, 2013).

#### **2.9.6. Voges - Proskauer (VP) Testi**

Bazı bakteriler glukoz bulunan ortamda glikozu kullanarak asetoin, 2,3-bütülen glikol gibi çeşitli nötral ürünler oluştururlar. Bunlardan asetoin, ortama alkali bir madde eklendiğinde okside olarak diasetil’e dönüşür. Bu madde ise peptondaki kreatin, arjinin veya kreatinin ile birleşerek pembe-kırmızı bir renk oluşumuna neden olur. Metil Red ve Voges-Proskauer testleri beraber uygulanacak ise MR-VP gibi bir besiyerine ekilen kültürün bir kısmı metil red testi için bir kısmı Voges-Proskauer testi için kullanılır (Temiz, 2010).

İçerisinde 5 ml glukoz fosfat peptonlu su bulunan tüpler içerisine ekim yapılarak 32°C’de 24 saatlik inkübasyon sonunda kültürün üzerine 0.6 ml % 5’lik  $\alpha$ -naftol ayırıcı ve 0.2 ml % 40’lık potasyum hidroksit (KOH) çözeltisi ilave edilmiştir. Tüpler çalkalanarak 5 dakika beklenmiş ve pembe-kırmızı renk pozitif kabul edilmiştir. Negatif tüplerde ise renk değişimi gözlenmemiştir. Pozitif kontrol olarak *Klebsiella pneumonia* kullanılır iken negatif kontrol olarak *Escherichia coli* kullanılmıştır (Tetik, 2007; Çelebi, 2012; Orhan, 2013).

#### **2.9.7. Sitrat testi**

Bazı bakteriler karbon ve enerji kaynağı olarak sitratları kullanabilirler. Sitrat testi, bakterinin tek karbon kaynağı olarak kullanıp kullanmadığını belirlemek amacıyla yapılır.

Saf kültürlerden tüp içerisinde yatık olarak hazırlanmış Simmons sitrat agara ekim yapılmış ve 18-24 saat 32 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda mavi renk oluşumu pozitif olarak kabul edilirken renk değişimi olmaması ya da üreme olmayışı negatif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak *Klebsiella pneumonia* kullanılır iken negatif kontrol olarak da *Escherichia coli* kullanılmıştır (Tetik, 2007; Orhan, 2013).

### **2.9.8. Üç Şekerli Demir (TSI) Agar Testi**

TSI, özellikle *Salmonella* gibi bazı enterik bakterileri tanımlamak amacıyla kullanılan üç şekerli-demirli bir besiyeridir. Bu besiyerinde; şekerlerin fermantasyonu, fermantasyon sonucu gaz ve hidrojen sülfid (H<sub>2</sub>S) oluşumu olmak üzere bakterilerin üç temel özelliği incelenir. Besiyeri glukoz, laktoz ve sükröz içeren üç farklı şeker, pH indikatörü olarak fenol kırmızısı ve H<sub>2</sub>S oluşumunun göstergesi olan ferrik ammonyum sülfat içerir.

Yatık olarak hazırlanmış üç şekerli demir agar besiyerine öze ile yüzeye ekim yapılırken transfer iğnesi ile de dibe daldırma şeklinde ekim yapılmıştır. Daldırma işlemi bir defada tüpün merkezinden geçecek bir hat boyunca dibe kadar iğnenin sokulması ile yapılmıştır. 24-48 saat 32 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda dip kısmın sarı renk alması glikozun kullanımı, siyah renk oluşması hidrojen sülfür oluşumu, yüzeyin kırmızı renkte olması laktoz ve sakkarozun kullanılmaması, besiyerinde gaz delikleri veya yarıkların oluşması ve besiyerinin dip kısmından yukarı doğru itilmesi de glikozdan gaz oluştuğunu göstermektedir. Bu şekilde oluşan renge ve gaza göre tüpler değerlendirilmiştir (Tetik, 2007; Çelebi, 2012; Orhan, 2013).

### **2.9.9. Hareketlilik testi**

Bazı bakteriler, flagella adı verilen hücre organelleri sayesinde aktif hareket yeteneğine sahiptirler. Bakterilerde hareket daha çok flagella varlığının belirlenmesi değil, hareketin gösterilmesi şeklinde ortaya konmaktadır.

Hareket muayenesi yarı katı besiyeri ortamında yapılmıştır. İçerisinde % 0.4-0.5 oranında agar bulunan nutrient agar besiyerine transfer iğnesi ile dibe kadar düz bir hat boyunca ekim yapılmış ve 24-48 saat 32 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda, besiyerinin yüzeyinde ve inokülasyon hattı boyunca üreme var, sağa veya sola doğru bir dallanma ve yayılma yok ise, mikroorganizma hareketsiz olarak; inokülasyon hattından etrafa agarın içine doğru bir yayılma ve dallanma gözlenir ise mikroorganizma hareketli olarak değerlendirilmiştir (Çelebi, 2012; Orhan, 2013 ve Öğütçü ve ark., 2014).

#### **2.9.10. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim**

Triptik soy agar , % 10 ve % 15 NaCl ilave edilmiş petrilere izolatlardan ekim yapılarak 32 °C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda mikroorganizmaların gelişimi derecelendirilerek değerlendirilmiştir (Orhan 2013).

#### **2.9.11. Farklı sıcaklıklarda gelişim**

Nutrient agar petrilere izolatlardan ekim yapılarak petrilere 15 ve 45 °C’de inkübe edilmiş ve inkübasyon sonunda mikroorganizmaların gelişimi derecelendirilerek değerlendirilmiştir (Tetik, 2007; Çelebi, 2012; Orhan, 2013).

#### **2.9.12. İzolatların Bazı Genetiksel Özelliklerinin Belirlenmesi**

##### **2.9.12.1. Bakteri Hücrelerinden Genomik DNA’ların İzolasyonu**

Araştırmada kullanılacak olan bakteri izolatlarından DNA ekstraksiyonu, Adıgüzel 2006 tarafından uyarlanan izolasyon metoduna göre aşağıda belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir.

1. DNA’sı izole edilecek olan bakteriler NA besiyerine 3 faz halinde ekilmiş ve petrilere 28-32°C’ye ayarlı inkübatörde 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır.
2. Steril edilmiş, ağzı kapaklı 1,5 ml’lik ependorflara 1000 µl STE (hücre duvarını parçalayarak hücre içeriğinin serbest hale gelmesini sağlar) tamponu konularak içerisinde 2-3 öze dolusu bakteri kültürü eklenmiştir.
3. Tüplerin 2500 rpm’de vorteksenerek homojenize olmaları sağlanmıştır.

4. Vortekslenen tüpler 10 000 rpm'de 10 dk süreyle santrifüjlendikten sonra üst faz mikropipetle alınarak atılmış ve peletin üzerine tekrar 1000 µl STE tamponu eklenerek, 10 dk 10 000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Bu işlem üst faz berrak olana kadar tekrar edilmiştir.
5. Santrifüj sonrası, oluşan üst faz atılarak pelletin üzerine 500 µl STE tamponu eklendikten sonra mikropipetle dikkatlice alıp vermek suretiyle tamponun pelletle iyice karışması sağlanmıştır.
6. Tüpler 75 °C'ye ayarlı su banyosunda 30 dk süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 15. dk'da tüpler alınarak 4-5 kez alt üst edilerek tekrar inkübe edilmiştir.
7. Su banyosundan çıkartılan tüplere 50 µl %10'luk SDS (proteinler arasındaki disülfid bağlarını parçalar) ve 7 µl proteinaz K (proteinleri parçalar) eklenmiş ve 40 °C'ye ayarlı su banyosunda 1 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır.
8. İnkübasyon sonrası tüplere ortamdaki tuz konsantrasyonu 0,75-0,8 M olacak şekilde 5 M NaCl ve 0,1 hacim %10'luk CTAB/0,7 M NaCl (DNA'yı polisakkaritlerden ve ortamdaki diğer bileşiklerden arındırır) ilave edilmiştir.
9. Tüpler 65 °C'ye ayarlı su banyosunda 15 dk inkübasyona bırakılmıştır.
10. Su banyosundan alınan tüplere eşit hacimde 25:24:1 fenol:kloroform:izoamilalkol (genellikle, nükleik asitlerden proteinlerin uzaklaştırılmasında kullanılır. Kloroform proteinleri denatüre ederek, sıvı ve organik fazların ayrışmasını sağlar. İzoamilalkol ise ekstraksiyon esnasında meydana gelebilecek köpürmeyi engeller) eklenerek 15 dk oda sıcaklığında çalkalayıcıyla çalkalanmıştır.
11. Tüpler 16 000 rpm'de 15 dk santrifüjlendikten sonra oluşan üst faz yeni steril ependorf tüplere konulmuştur. Her bir tüpe 0,1 hacim %10CTAB / 0.7 M NaCl (ortamda bulunabilecek polisakkarit kalıntılarını elimine etmede kullanılır) ilave edilmiştir.
12. 65°C'ye ayarlı su banyosunda tüpler 15 dk bekletilmiştir.
13. Tüplere eşit hacimde 24:1 kloroform:izoamilalkol ilave edilmiş ve tüpler 15 dk oda sıcaklığında, çalkalayıcıyla karıştırılmıştır.
14. Tüpler bir daha 16 000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiş, santrifüj sonrası oluşan üst faz tekrar yeni steril bir ependorfa konulmuştur.

15. Tüpler üzerine 0,6 hacim izopropanol (DNA'yı bağlayarak, iplikcikler halinde çökmesini sağlar) ilave edilmiştir.
16. Tüpler -20 °C'de 1 gece süresince bekletilmiştir.
17. Buzdolabından çıkartılan tüpler 15 000 rpm de 15 dk santrifüjlenmiştir.
18. Üzerine -20 °C'de bekletilen %70 lik etanolden (DNA'yı yıkamak amacıyla kullanılır) 500-600 µl eklenmiş ve 15 000 rpm de 15 dk süreyle santrifüjlendikten sonra süpernatant kısmı dikkatlice atılmıştır.
19. Peletin üzerine tekrar %70 lik etanolden 500-600 µl ilave edilerek, 15 000 rpm de 15 dk santrifüjlenmiştir. Süpernatant kısmı dikkatlice uzaklaştırılarak tüpler ağzı açık bir şekilde etil alkolün uçması, DNA'nın kuruyarak şeffaf bir görünüm alması amacıyla 2-3 saat süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir.
20. Kuruma işlemi gerçekleştikten sonra, DNA'lar 50-70 µl TE içinde oda sıcaklığında 30 dk bekletilerek, iyice çözümleri sağlanmış ve üzerlerine 2-3 µl RNase eklenmiştir.
21. DNA'lar %0,6'lık agaroz jelinde yürütülmüş ve jelde tek parça bant veren örnekler + 4 °C'ye kaldırılarak sonraki çalışmalar için saklanmıştır (Orhan 2013).

#### **2.9.12.2. Bakteri İzolatlarının 16S rDNA Bölgesinin PCR ile Amplifikasyonu**

Test izolatlarından elde edilen genomik DNA'lardan, bakteri sistematigi için önemli olan 16S rRNA bölgesi evrensel primerler (forward ve reverse primerler) kullanılarak PCR yardımı ile çoğaltılmıştır (Orhan 2013).

#### **2.9.12.3. Reaksiyonun (Master mix'in) Hazırlanması**

PCR'ı yapılacak her bir örnek için 3 µl 10 x PCR tamponu (100 mM Tris – HCl, 500 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>, %0.01 jelatin pH: 8.3), 0.6 µl dNTP (deoksiniükleotidtrifosfatlar: dATP, dGTP, dCTP, dTTP – 10mM), 3 µl UNI 16S-L (forward ATT CTA GAG TTT GAT CAT GGC TCA), 3 µl 16S-R (reverse ATG GTA CCG TGT GAC GGG GGG TGT GTA), 1.2 µl DMSO, 0.6 µl MgCl<sub>2</sub>(50 µM), 0.3 µM / ml *Taq* DNA polimeraz ve 15.3 µl sdH<sub>2</sub>O ile 27 µl'lik reaksiyon karışımı hazırlanmış ve karışıma son olarak 3 µl template DNA (100 ng/µl) ilave edilerek son hacim 30 µl'ye tamamlanmıştır. Master mix ve template DNA içeren ependorf

tüplerin üzerine buharlaşmayı engellemek için 15 µl mineral yağ eklenmiştir (Orhan 2013).

#### **2.9.12.4. PCR Programı**

PCR için hazırlanan örnekler, 95 °C'de 2 dk ön denetürasyon, bunu takiben 36 döngü olacak şekilde 94 °C'de 1 dk denatürasyon, 54 °C'de 1 dk bağlanma ve 72 °C'de 2 dk uzama basamakları ve son olarak 72 °C'de 5 dk uzama basamağından oluşacak şekilde programlanan PCR termal döngü cihazına konuldu. Seçilen programda hedef bölgelerin çoğaltılması yapıldı (Orhan 2013).

#### **2.9.12.5. 16S rRNA PCR Ürünlerinin Elektrofrez**

1.50 gr agaroz üzerine 150 ml 0.5X TBE (%1'lik agaroz jel) tamponu eklenerek karışım mikrodalga fırında iyice çözününceye kadar kaynatılmıştır. 50 °C'ye kadar soğutulan agaroz jelle 0.8 µg/ml olacak miktarda ethidium bromür eklenerek içerisine tarak yerleştirilmiş olan elektrofrez jel küvetine dökülmüştür. 30-35 dk beklenerek jelin donması sağlanmış, donan jelden taraklar dikkatlice çıkarılmış ve içerisinde 0.5X TBE tamponu bulunan elektrofrez tankının içine yerleştirilmiştir. Jeldeki ilk çukura, 10 kb DNA markırından [50-100-200-300-400-500-750-1000-1400-1500-2000-3000-4000-6000-8000-10000] (Sigma D-7058) 10 µl yüklenmiştir. Diğer çukurlara ise her bir örnek için 2.5 µl 6X yükleme tamponu, 10 µl PCR ürünü karıştırılarak yüklenmiştir. Elektrofrez jel düzeneğı 90 volta ayarlanarak örnekler 2 saat yürütülmüştür. Jel üzerinde bulunan ve ethidium bromür ile boyanan DNA bantları jel dökümantasyon sistemi ile görüntülenmiş ve bilgisayar ortamında (DNR BioImaging Systems Software) analiz edilmiştir (Orhan 2013).

#### **2.9.12.6. 16S rDNA Sekans Analizi**

16S rDNA PCR yöntemi ile çoğaltılan 16S rRNA gen bölgesinin baz dizilerinin analizi, Hollanda'da bulunan MacroGen firmasına gönderilerek yapılmıştır. Elde edilen 16S rDNA dizileri Gen Bankasında (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi>) var olan diğer bakteriyal dizilerle karşılaştırılmıştır (BLAST analizi). Karşılaştırma sonucu aralarındaki benzerlik oranları tespit edilmiş ve gen bankası kabul numaraları alınmıştır (Orhan 2013).

### **2.9.13. Stok oluşturma**

İzole edilen örneklerden nutrient agar bulunan petrilere ekim yapılmıştır. Buradan her bir izolat içerisinde %20' lik gliserol-besiyeri bulunan ependorflara ekilerek 32° C' de 18-24 saatlik inkübasyona bırakılmış ve üretildikten sonra -86° C' de saklanmıştır.

### 3. BULGULAR

Bu çalışmada Curculionidae (Coleoptera) familyasına ait 5 türün (*Curculio nucum* (Linnaeus, 1758); *Eusomus ovulum* Germar, 1824; *Hypera postica* Gyllenhal, 1813; *Lixus cardui* Olivier, 1808; *Sitona pucticollis* Stephens, 1831) sindirim sistemlerindeki bakteri florası incelenmiştir.

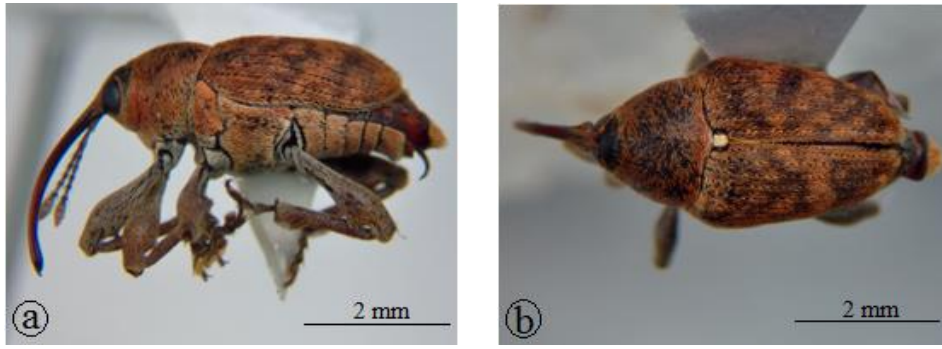
Takım: Coleoptera

Familya: Curculionidae

Cins: *Curculio* Linnaeus, 1758

*Curculio nucum* (Linnaeus, 1758)

Konukçu: *Corylus avellana*, *Quercus* sp. (Lodos ve ark., 2003).



**Resim 3. 1.** *Curculio nucum*; a- Lateral görünüm, b- Dorsal görünüm

Cins: *Eusomus* Germar, 1824

*Eusomus ovulum* Germar, 1824

Konukçu: *Medicago sativa*, *Centaurea* sp., *Pinus* sp., (Lodos ve ark., 2003).



**Resim 3. 2.** *Eusomus ovulum*; a- Lateral görünüm, b- Dorsal görünüm

Cins: *Hypera* Germar, 1817

*Hypera postica* Gyllenhal, 1813

Konukçu: *Medicago sativa*, *Centaurea* sp., *Verbascum* sp., *Onopordum* sp., *Cirsium* sp., *Quercus* sp., (Lodos ve ark., 2003).



**Resim 3. 3.** *Hypera postica*; a- Lateral görünüm, b- Dorsal görünüm

Cins: *Lixus* Fabricius, 1801

*Lixus cardui* Olivier, 1808

Konukçu: *Onopordum* sp, *Centaurea* sp., *Cirsium* sp., (Lodos ve ark., 2003).

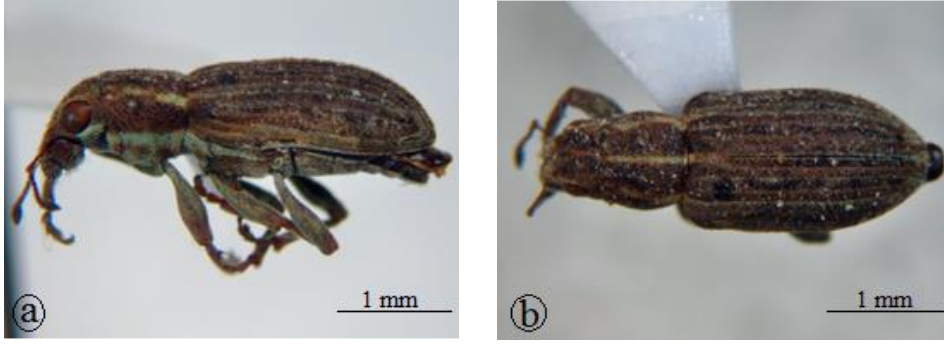


**Resim 3. 4.** *Lixus cardui*; a- Lateral görünüm, b- Dorsal görünüm

Cins: *Sitona* Germar, 1824

*Sitona pucticollis* Stephens, 1831

Konukçu: *Medicago sativa*, *Pinus* sp., *Quercus* sp., *Astragalus* sp., (Lodos ve ark., 2003).



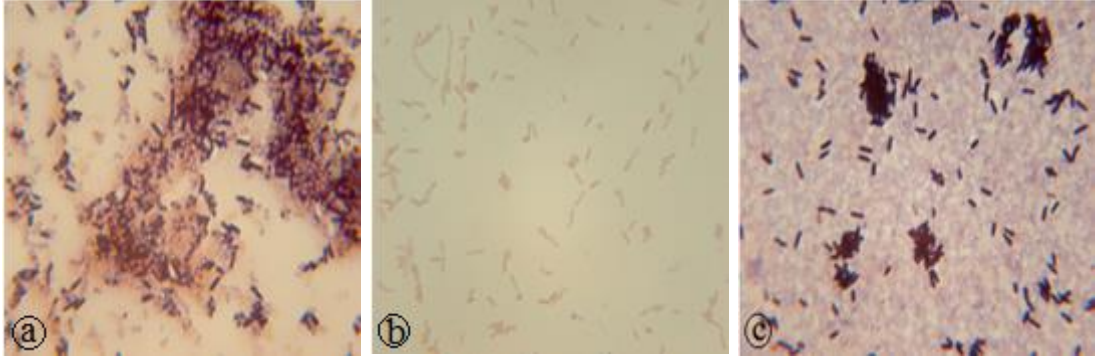
**Resim 3. 5.** *Sitona pucticollis*; a- Lateral görünüm, b- Dorsal görünüm

### 3.1. Bakteri İzolasyonu Sonuçları

Çalışma sonucunda; *Bacillus* sp., *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter ludwigii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp, *Lactococcus garviae*, *Stenotrophomonas rhizophila*, *Pantoea agglomerans* ve *Pseudomonas orientalis* olmak üzere toplam 10 farklı bakteri türü tespit edilmiştir. *Curculio nucum*-YHC, *Eusomus ovulum*-YHE, *Hypera postica*- YHH, *Lixus cardui* -YHL ve *Sitona pucticollis* -YHS olarak kodlanmıştır.

### 3.2. İzolatların Morfolojik Özellikleri

İzolatların morfolojik özellikleri Tablo 1’de detaylı olarak gösterilmiştir. Yapılan gram boyamada YHS-2 izolatın yuvarlak (kok), diğerlerinin ise çubuk (basil) olduğu belirlenmiş; YHE-1, YHE-3, YHE-4, YHE-5, YHE-7, YHE-8, YHL-1, ve YHL-4 izolatları pembe boyandığı için gram negatif olarak belirlenirken YHC-2, YHH-1, YHL-3, ve YHS-2 izolatları ise mor boyandığı için gram pozitif olduğuna karar verilmiştir.



**Resim. 3. 6.** Gram Boyama; a) *Bacillus pumilus*, b) *Enterobacter ludwigii* c) *Bacillus* sp.

% 4'lük yumuşak agarda yapılan hareketlilik testi sonucunda YHE-4, YHE-5, YHE-7 ve YHS-2 izolatlarının hareketsiz, diğer izolatların ise hareketli olduğu tespit edildi.



**Resim 3. 7.** Hareketlilik Testi Sonuçları

**Tablo 1.** Bakteriye İzolatlarnn Morfolojik Özellikleri

İZOLAT	GRAM BOYAMA	HÜCRE ŞEKLİ	HAREKET
YHC-2	+	Basil	+
YHE-1	-	Basil	+
YHE-3	-	Basil	+
YHE-4	-	Basil	-
YHE-5	-	Basil	-
YHE-7	-	Basil	-
YHE-8	-	Basil	+
YHH-1	+	Basil	+
YHL-1	-	Basil	+
YHL-3	+	Basil	+
YHL-4	-	Basil	+
YHS-2	+	kok	-

### 3.3. İzolatlarnn Biyokimyasal Test Sonuçları

İzolatlarnn biyokimyasal ve fizyolojik test sonuçları Tablo 2’de verilmiştir. Katalaz test sonucunda sadece YHS-2 izolatu negatif sonuç gösterirken diğere tüm izolatlarnn hidrojen peroksiti serbest oksijene ayırıştırarak gaz kabarcıkları oluşturup pozitif sonuç vermiştir.



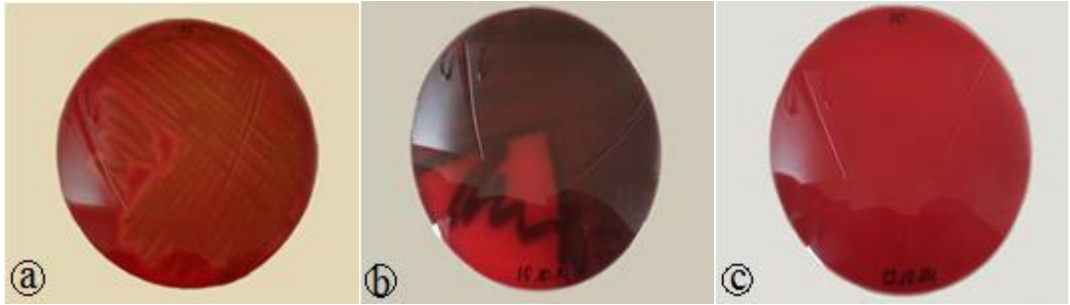
**Resim 3. 8.** Katalaz Testi Sonuçları

Oksidaz testi sonucunda; YHE-1, YHE-3, YHE-4, YHL-3, YHH-1 izolatlarnn p-amino dimetilanilin ayıracını oksidaz enzim varlığında okside ederek mor-mavi renk oluşturup pozitif sonuç veririrken YHC-2, YHE-5, YHE-7, YHE-8, YHL-1, YHL-4 ve YHS-2 izolatlarnn negatif sonuç vermiştir.



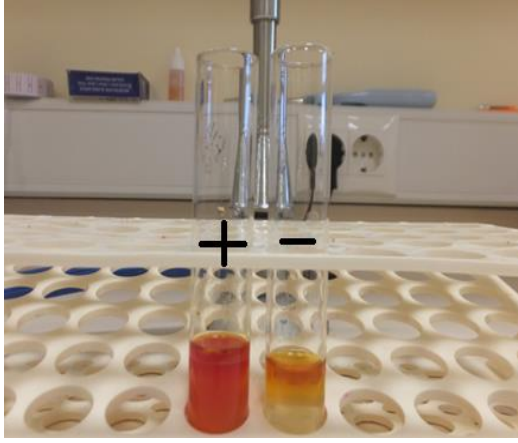
**Resim 3. 9.** Oksidaz Testi sonuçları

Hemoliz testi sonucunda; YHC-2, YHE-1, YHH-1, YHL-1, YHL-3, YHL-4 izolatları kanlı agar besiyerinde hemolitik zon oluşturken, diğer izolatlar (YHE-3, YHE-4, YHE-5, YHE-7, YHE-8 ve YHS-2) negatif sonuç vermiştir.



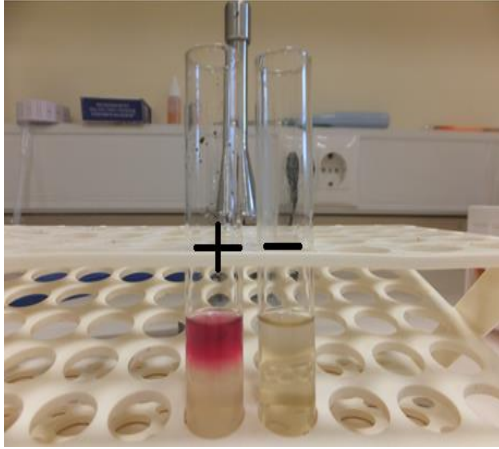
**Resim 3. 10.** Hemoliz Testi Sonuçları a)  $\beta$ -hemoliz, b)  $\alpha$ -hemoliz, c)  $\gamma$ -hemoliz

YHC-2, YHE-4, YHE-5, YHE-7, YHH-1, YHL-3 ve YHS-2 izolatları glikoz metabolizması sonucu metil kırmızısı besiyerinde renk değişimi meydana getirmedikleri için negatif sonuç verirken, diğer izolatlarda organik asit üretildiğinden renk değişimi gözlenmiş ve sonuç pozitif olarak kaydedilmiştir.



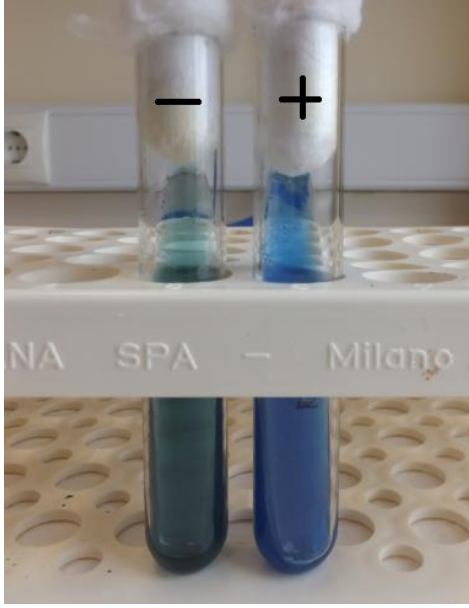
**Resim 3. 11.** Metil Kırmızısı Testi Sonuçları (+) *Stenotrophomonas rhizophila*, (-) *Lactococcus garviae*

Glukoz fosfat peptonlu su ile yapılan Voges-Proskauer testi sonucuna göre; YHC-2, YHE-5, YHL-1 ve YHL-4 izolatlarında pembe renk değişimi gözlenmediği için negatif sonuç verirken, diğer izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir.



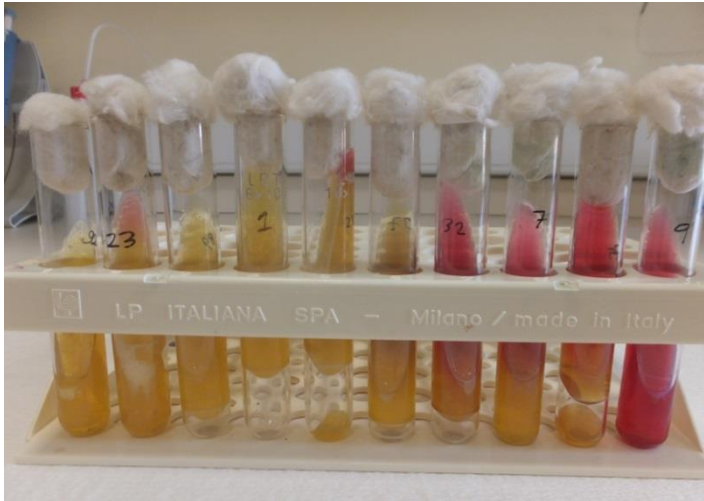
**Resim 3. 12.** Voges-Proskauer Testi Sonuçları (+) *Stenotrophomonas rhizophila*, (-) *Bacillus pumilus*

Simmon sitrat agara ekim yapılarak uygulanan sitrat test sonucunda; YHE-8, YHL-1, YHL-4 ve YHS-2 izolatları sitratı tek karbon kaynağı olarak kullanmadıkları için yeşilden maviye renk değişimi gözlenmemiş ve negatif sonuç verirken diğer izolatlar pozitif sonuç vermiştir.



**Resim 3. 13.** Sitrata Testi Sonuçları (+) *Pseudomonas orientalis*, (-) *Escherichia coli*

Üç Şekerli demir agar testinde; hiçbir izolat hidrojen sülfür oluŐturmamıŐtır. YHE-4, YHE-5, YHE-7, YHE-8, YHL-1 izolatları glikozdan asit üretip gaz oluşumu gözlenirken diğer izolatlarda gaz oluşumu gözlenmemiştir.



**Resim 3. 14.** Üç Şekerli Demir Agar Testi Sonuçları

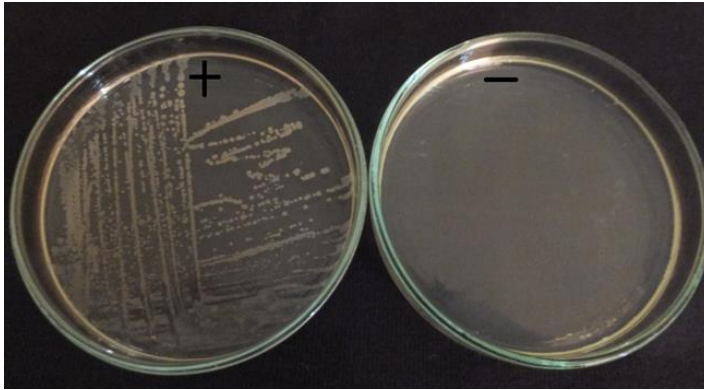
**Tablo 2.** Bakteriyel İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları

İzolat	Katalaz	Oksidaz	Hemoliz	MR	VP	Sitrat	TSI			H <sub>2</sub> S	TSA
							Glikoz	Laktoz-sakkaroz	Gaz		
YHC-2	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+
YHE-1	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+
YHE-3	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+
YHE-4	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+
YHE-5	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+
YHE-7	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+
YHE-8	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+
YHH-1	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
YHL-1	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+
YHL-3	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+
YHL-4	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+
YHS-2	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+

### 3.4. İzolatların Fizyolojik Test Sonuçları

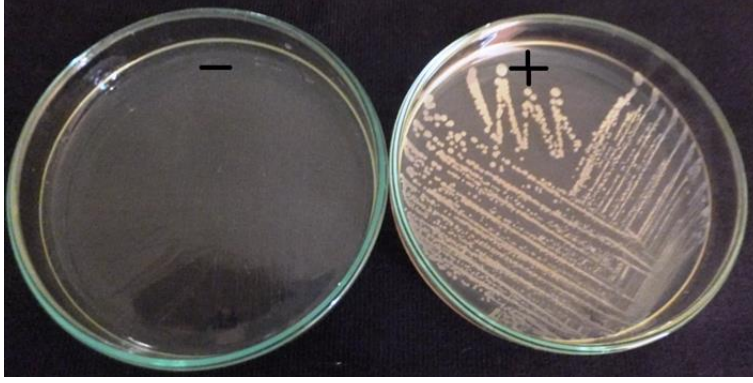
Bakteriyel izolatların fizyolojik test sonuçları Tablo 3’te verilmiştir.

İzolatların tuz toleranslarını belirlemek amacıyla yapılan testler sonucunda; YHE-6 ve YHH-1 nolu izolat %15’e kadar, YHC-2, YHE-1, YHE-3, YHL-3, YHL-4 ve YHS-2 izolatlarının %10’a kadar tuzu tolere ettikleri belirlendi. YHE-4, YHE-5, YHE-7, YHE-8 ve YHL-1 izolatları ise tuzu tolere etmemişlerdir.



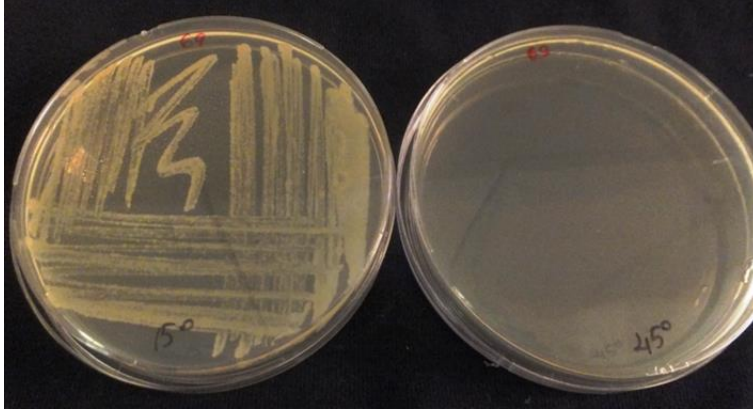
**Resim 3. 15.** İzolatların %10’luk Tuz Toleransı Sonuçları;

(+) *Bacillus pumilus*, (-) *Klebsiella* sp.



**Resim 3. 16.** İzolatların %15'lik Tuz Toleransı Sonuçları; (+) *Bacillus pumulis*,  
(-) *Bacillus subtilis*

Farklı sıcaklıklarda üreme incelendiğinde; YHC-2, YHE-4, YHE-5, YHE-7, YHE-8, YHH-1, YHL-1, YHL-3 izolatlarının 15-45<sup>0</sup>C; YHE-1, YHE-3, YHL-4 ve YHS-2 izolatlarının ise 15-37<sup>0</sup>C aralığında büyüebildiği tespit edilmiştir.



**Resim 3. 17.** İzolatların Sıcaklık Testi Sonuçları (*Pantoea agglomerans*)

**Tablo 3.** Bakteriyel İzolatların Fizyolojik Test Sonuçları

İZOLAT	%10 NaCl	%15 NaCl	15 <sup>0</sup> C	45 <sup>0</sup> C
YHC-2	+	-	+	+
YHE-1	+	-	+	-
YHE-3	+	-	+	-
YHE-4	-	-	+	+
YHE-5	-	-	+	+
YHE-7	-	-	+	+
YHE-8	-	-	+	+
YHH-1	+	+	+	+
YHL-1	-	-	+	+
YHL-3	+	-	+	+
YHL-4	+	-	+	-
YHS-2	+	-	+	-

### 3. 5. İzolatların 16S rRNA BLAST Sonuçları

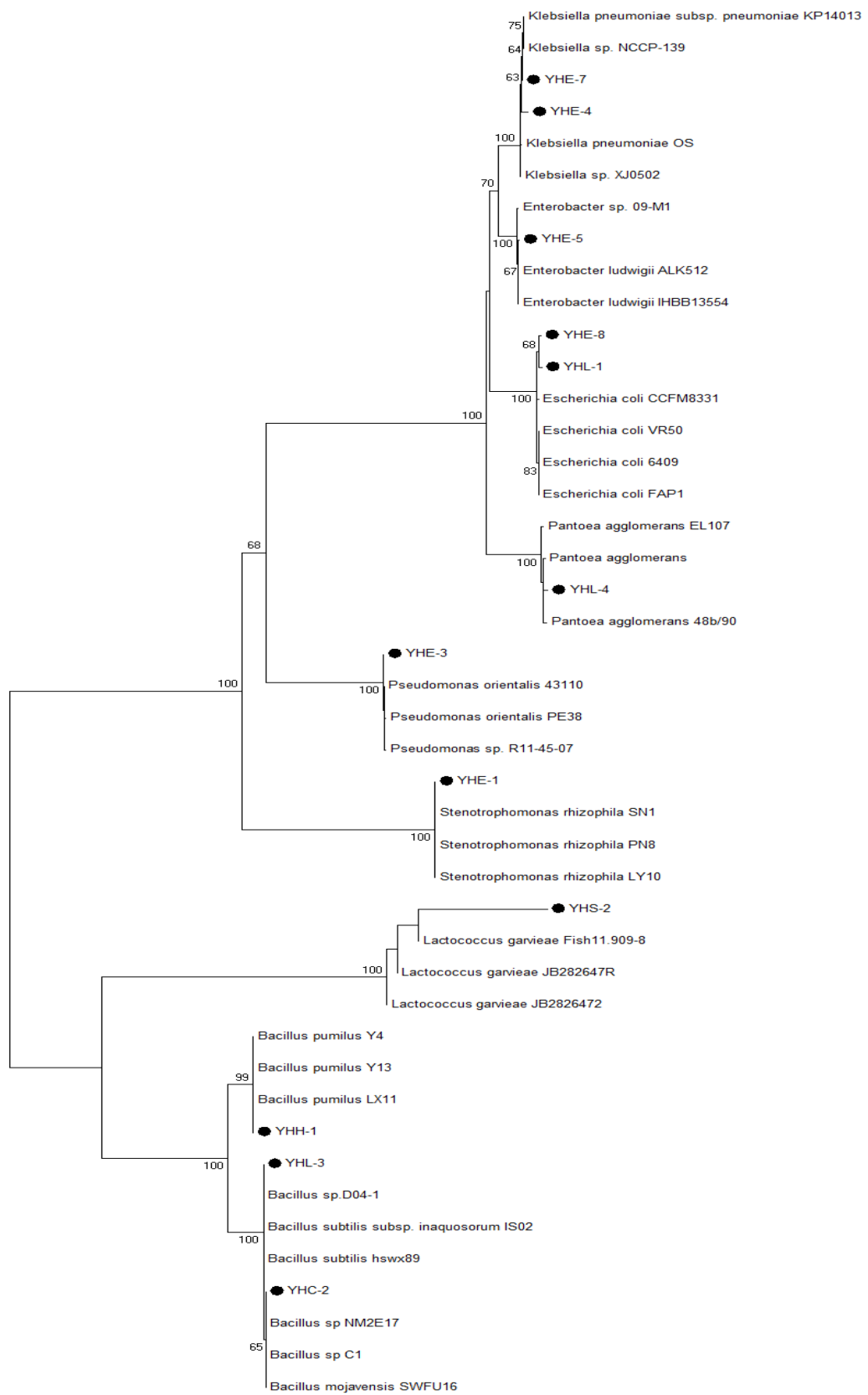
Curculionidae bireylerinin sindirim sisteminden elde edilen 17 izolatın 16S rDNA genlerinin baz dizileri belirlenmiş ve diziler Gen bankasında var olan 16S rDNA gen dizileri ile karşılaştırılmıştır. Karşılaştırmalar sonucunda elde edilen tanı sonucu, yüzdesi ve GenBank numarası Tablo 4' te verilmiştir. Ayrıca bu izolatların 16S rDNA gen bölgelerinin baz sıraları da EK' te verilmiştir.

**Tablo 4.** İzolatların 16S rRNA BLAST Sonuçları

İZOLAT	BENZER OLDUĞU BAKTERİLER	GenBank No	ÖRTÜŞME (%)	BENZERLİK (%)
YHC-2	<i>Bacillus</i> sp. NM2E17	KM874415.1	100	100
	<i>Bacillus</i> sp. C1	KM117215.1	100	100
	<i>Bacillus mojavensis</i> SWFU16	KJ756335.1	100	100
YHE-1	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> SN1	KC790309.1	100	100
	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> PN8	KC790262.1	100	100
	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> LY10	KC790249.1	100	100
YHE-3	<i>Pseudomonas orientalis</i> 43110	KC834315.1	99	99
	<i>Pseudomonas orientalis</i> PE38	KJ127247.1	99	99
	<i>Pseudomonas</i> sp. R11-45-07	FJ652598.1	99	99
YHE-4	<i>Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae</i> HE19	LN624808.2	100	99
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> OS	KM186520.1	100	99
	<i>Klebsiella</i> sp. XJ0502-Aks-C1	KJ881161.1	100	99
YHE-5	<i>Enterobacter ludwigii</i> ALK512	KC456581.1	100	99
	<i>Enterobacter</i> sp. 09-M1	KC920586.1	100	99
	<i>Enterobacter ludwigii</i> IHB B 13554	KJ767378.1	100	99
YHE-7	<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> KP14013	KJ845719.1	100	99
	<i>Klebsiella</i> sp. NCCP-139	AB558499-1	100	99
YHE-8	<i>Cronobacter sakazakii</i> M.D.E.NA5-10	JF690890.1	100	99
	<i>Escherichia coli</i> CCFM8331	KJ803888.1	100	99
YHH-1	<i>Bacillus pumilus</i> LX11	KP192031.1	100	100
	<i>Bacillus pumilus</i> Y4	KF641791.1	100	100
	<i>Bacillus pumilus</i> Y13	KF641806.1	100	100
YHL-1	<i>Escherichia coli</i> FAP1	CP009578.1	100	99
	<i>Escherichia coli</i> VR50	CP011134.1	100	99
	<i>Escherichia coli</i> 6409	CP010371.1	100	99
YHL-3	<i>Bacillus</i> sp. D04-1	JQ675539.1	100	100
	<i>Bacillus subtilis subsp. inaquosorum</i> IS02	JN856456.1	100	100
	<i>Bacillus subtilis</i> hswx89	JQ237657.1	100	100
YHL-4	<i>Pantoea agglomerans</i> 48b/90	FJ756354.1	100	99
	<i>Pantoea agglomerans</i> EL107	FJ357815.1	100	99
	<i>Pantoea agglomerans</i>	AY395010.1	100	99
YHS-2	<i>Lactococcus garvieae</i> JB282647 2	KM409707.1	99	96
	<i>Lactococcus garvieae</i> JB282647 R	KM409706.1	99	96
	<i>Lactococcus garvieae</i> Fish 11.909-8	KM409704.1	99	96

### 3. 6. Filogenetik Ağaç

Curculionidae familyası bireylerinden elde ettiğimiz izolatların yakın ilişkili olduğu bakteriler ile filogenetik benzerlikleri belirlenmiştir. Elde edilen dendogram'a göre YHC-2 izolatının *Bacillus* sp., YHE-1 izolatının *Stenotrophomonas rhizophila*, YHE-3 izolatının *Pseudomonas orientalis*, YHE-4 ve YHE-7 bakteriyel izolatlarının *Klebsiella* sp., YHE-5 izolatının *Enterobacter ludwigii*, YHE-8 ve YHL-1 izolatının en fazla *Escherichia coli*, YHH-1 bakteriyel izolatının *Bacillus pumilus*, YHL-3 izolatının *Bacillus subtilis*, YHL-4 izolatının *Pantoea agglomerans* ve YHS-2 bakteriyel izolatının en fazla *Lactococcus garviae* suşları ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 3.1).



**Şekil 3.1.** Bakteriyal izolatların filogenetik ağacı. Dendogram MEGA 5.0 filogenetik programı kullanılarak neighbor-joining (NJ) metodu ile yapılmıştır (Çelebi, 2012). Nodların yanındaki rakamlar seç-bağla (bootstrap) değerlerini göstermektedir. Şeklin altındaki skala ise benzerlik dercesini göstermektedir.

**Tablo 5.** Bakteriyal izolatların tür tayini sonuçları

İZOLAT	TÜR
YHC-2	<i>Bacillus</i> sp.
YHE-1	<i>Stenorophomonas rhizophila</i>
YHE-3	<i>Pseudomonas orientalis</i>
YHE-4	<i>Klebsiella</i> sp.
YHE-5	<i>Enterobacter ludwigii</i>
YHE-7	<i>Klebsiella</i> sp.
YHE-8	<i>Escherichia coli</i>
YHH-1	<i>Bacillus pumilus</i>
YHL-1	<i>Escherichia coli</i>
YHL-3	<i>Bacillus subtilis</i>
YHL-4	<i>Pantoea agglomerans</i>
YHS-2	<i>Lactococcus garviae</i>

### 3.7. İzolatların Stoklanması

Bakteriyel izolatlar % 20' lik gliserol besiyeri bulunan kapaklı ependorflarda -86°C'de Ahi Evran Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda saklanmıştır.



**Resim 3. 18.** Saklama Örnekleri

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Böceklerde sindirim sistemi, mikrobiyal koloniler ve bakteriler için önemli bir ortam olmasının yanısıra mikrobiyal toplulukları etkileyen çok farklı morfolojik ve fizikokimyasal faktörler içermektedir. Böceklerin sindirim sisteminde yeralan bakteriler, onların immün sistemini parazit ve patojenlere karşı korur ancak bu rolleri henüz tam olarak bilinmemektedir (Engel ve Moran, 2013).

Ayrıca son zamanlarda böceklerin sindirim sistemlerindeki bakterilerin zararlı gruplarda biyolojik kontrol amaçlı kullanılabilmesi ifade edilmektedir. Dharne ve ark., (2006) tüm böcek türlerinin vücutlarında ve sindirim sistemlerinde zengin ve kompleks mikroorganizma topluluğunun olduğunu ifade etmiş, bu mikrobiyaların çoğunluğunun patojen ve zorunlu mutualist olduklarını da belirtmişlerdir. Gelecekte böceklerin sindirim sistemlerindeki mikroorganizmaların bilinmesinin iki temel avantajının olabileceği tahmin edilmektedir. Bunlardan birincisi; mikrobiyal çeşitlilik biyoaktif içerikler açısından (örneğin; antimetabolitler, antiviral, antitümör peptitler, enzimler ve metabolitler) önemli bir kaynak olabileceği düşüncesi, ikincisi ise mikrobiyal simbiyotlar böceklerin sindirim kanalında bulunan patojenlerin yayılmasının kontrolünde ve dolayısıyla biyolojik mücadelede etkili olarak kullanılabilmesi fikridir.

Bu çalışmada sonucunda morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testlere ve moleküler yöntemlere (16S rRNA PCR ve 16S rRNA gen bölgesi DNA dizi analizi) göre; *Bacillus* sp., *Stenotrophomonas rhizophila*, *Pseudomonas orientalis*, *Klebsiella* sp., *Bacillus pumilus*, *Escherichia coli*, *Pantoea agglomerans*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter ludwigii* ve *Lactococcus garviae* olmak üzere 10 farklı bakteri türü tespit edilmiştir (Tablo 4).

*Bacillus* cinsi; çubuk şeklinde düz ya da düze yakın hücrelerdir. Çoğu kötü şartlara dirençli, genelde gram pozitif, peritrik flagellalı ve flagellaları hareketli, aerobik ve fakültatif anaerobtur. Çoğunda oksijen terminal elektron alıcısıdır. (Kalaylı ve Beyatlı, 2003).

*Bacillus* 'ların termofilik, mezofilik ve psikrofilik türleri bulunur. Çok yüksek sıcaklık derecelerinde bile canlı kalırlar. Genellikle 35-37 °C da ve pH 7 civarında ürerler. Bütün türleri nutrient agar, Trypticase Soy Agar, Brain Heart İnfusion ve kanlı agar gibi besiyerlerinde oldukça iyi ürerler. Karbon kaynağı olarak organik asit, şeker ve alkol içeren; nitrojen kaynağı olarak da amonyum bulunduran sentetik ortamlarda çok iyi gelişirler (Kalaylı ve Beyatlı, 2003).

Cawoy ve ark. (2011), bitkilerde ürün kaybına sebep olan zararlılara karşı kimyasal pestisitler yerine *Bacillus* grubunun biyopestisitler olarak biyolojik kontrol amacıyla kullanılabilceğini ifade etmişlerdir. Bizimde izole ettiğimiz *Bacillus* sp. türlerinin bu amaçla kullanılabilceğini düşünmekteyiz.

*Hypera postica* (Curculionidae) türünden izole edilen *Bacillus pumilus* türü simbiyotik bir bakteridir. Özellikle bitki gelişiminde rol oynamakla birlikte; klinikte (insan yüz ve kalın bağırsağında), evcil hayvanlarda, besinlerde ve sporları doğada (toprak ve bitkilerde) yayılış gösterir. Gram pozitif veya değışken, peritrik flagellalı, hareketli ve çubuk şeklinde, sporlu (elips veya silindirik, sentral, parasentral veya subterminal) koloni morfolojisi değışkendir (bükülmüş veya düzensiz). Pigmentleşme yok ve çoğu opaktır. Nutrient agarda düz ve hafif sarımsı renkte ürerler. Koyun kanlı agarda hemoliz oluşturmazlar. Aerobik olup, pH 5.7-9.5, bazıları pH 4.5 da ürerler. NaCl toleransları % 0-10 dur. Büyüme sıcaklığı 5-15°C ve 40-50°C'dir. Geniş bir yayılışa sahiptirler, sporları doğada (toprak, bitkiler) yaygın olup kliniklerden, evcil hayvanlardan izole edilir (Handtke ve ark., 2014)

*Lixus cardui* (Curculionidae) türünden izole edilen *Bacillus subtilis* türü; gram pozitif, çubuk şekilli, aerob, hareketli peritrik flagellalı, sporlu (elips veya silindirik, sentral veya parasentral, bazen subterminal), büyüme sıcaklığı 5-15°C ve 40-50°C olup optimum 28-30°C, NaCl toleransı % 2, % 5, % 7'dir. Agar ortamında koloniler yuvarlak veya düzensiz, yüzey mat, kalın veya opak, krem veya kahverengi, koloni morfolojileri değışkendir. Sporları doğada geniş yayılış gösterir. Genellikle sıcak materyallerde, bitkisel ve hayvansal örneklerde, asidik olmayan besinlerde bulunur (Earl ve ark., 2007).

Çalışmamız sonucunda *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis* ve *Bacillus* sp. olarak tanımlanan izolatların yukarıda belirtilen özelliklerde olduğu (Tablo-1, Tablo-2 ve Tablo-3) ve uygulanan testlerin sonuçları Karacaoğlu ve ark. (2014), Slepecky ve Hemphill (2006)'in belirttiği fiziksel ve biyokimyasal test sonuçlarıyla uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Göğüsgeren (2009), araştırmasında *Gonoderma lucidum* gibi endüstriyel mantarların ticari üretiminde büyük bir sorun teşkil eden besin ortakçısı *Trichoderma* sp. mantarına karşı *Bacillus* sp. bakterisinin biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılmasıyla problemin çözümünü amaçlamışlardır. Özellikle *Bacillus subtilis*'in ürettiği subtilin ve bacilycin gibi peptid antibiyotikler ile siklik proteinlerden olan iturin birçok mantar ve mayanın neden olduğu hastalıklarla mücadelede kullanılmaktadır.

Asaka ve Shoda (1996) çalışmalarında; domates bitkisinde kök çökerten *Rhizoctonia solani* 'nin biyolojik kontrolünde *Bacillus subtilis* RB14 'ü kullanmışlardır. Araştırmalarında *B. subtilis* RB14 tarafından üretilen iturin A ve surfaktin antibiyotiklerinin bazı fitopatojenlere karşı önemli düzeyde aktivite gösterdikleri kanıtlanmıştır. Nielsen ve Sorensen (1996) deneylerinde, arpa rizosperindeki *Bacillus polymyxa* ve *Bacillus pumilus*'un hidrolitik enzimlerinin patojen mantarlar üzerine etkisini incelemişler, çok yönlü ve farklı ortamlarda fungal antagonizm etkisini ve biyokontrol uygulamaları için çok uygun olduğunu tespit etmişlerdir. Kloepper ve ark. (2004) bitkilerde, *Bacillus* türleri tarafından indüklenmiş sistemik dirençlilik (ISD) ve bu niteliklerin artırılmasına yönelik çalışmalar yapmışlardır. Deneylerinde *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pateurii*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus sphaericus* gibi türlerin spesifik soylarının bitkilerde çeşitli hastalıklara neden olan ziyaretçileri ve etki alanlarını ciddi bir düzeyde azalttığını gözlemlemişlerdir. Sera koşullarında yapılan deneylerde bu soyların bitkilerde indüklenmiş sistemik dirençliliği sağladığını ve özellikle domates, kavun, karpuz, şekerpancarı, tütün, üzüm, arnavut biberi gibi ürünlerin üzerinde yaşayan tarım zararlılarının yok

edilmesine yönelik olumlu etkileri ortaya çıkarıldığı belirtilmektedir (Gögüsgeren, 2009).

Enterobacteriaceae familyası üyeleri, gram negatif çubuk, peritrik flagellalı, fakültatif anaerobik, kemoorganotrofik ve optimum büyüme sıcaklığı 30-37 °C'dir. D-glukoz ve diğer karbonhidratları katabolize edip asit ve gaz üretirler. İndol negatif olup birçok suşta Voges- Proskauer, Simmons Sitrat pozitif ve Metil Kırmızısı test sonuçları değişkendir. (Tetik, 2007)

Enterobacteriaceae ailesi geniş yayılım gösterirler; taze suda, toprakta, pis sularda, bitkilerde, hayvan ve insanların dışkılarında, serbest yaşayan organizmalarda yer alırlar. Doğal ortamları ise insan ve hayvan bağırsaklarıdır (Tetik, 2007).

Enterobacteriaceae, insan sağlığı açısından önem taşımakta olup bazıları karakteristik hastalık etkenidirler. Bu bakteriler sıklıkla hastane enfeksiyonlarından sorumludurlar. Bağırsak enfeksiyonları tüm dünya da en sık rastlanılan hastalıklardan biri olup üçüncü dünya ülkelerinde beş yaşın altındaki çocuklarda en sık rastlanılan ölüm etkenidir. (Tetik, 2007)

*Eusomus ovulum* (Curculionidae) türünden izole edilen *Enterobacter ludwigii*; gram negatif çubuk, fakültatif anaerob, optimum büyüme sıcaklığı 37°C'dir (Khajuria ve ark., 2013).

*Eusomus ovulum* ve *Lixus cardui* (Curculionidae) türlerinden izole edilen *Escherichia coli*; gram negatif, 1,1-1,5 x 2,0-6,0 µm büyüklüğünde, koloniler, nutrient agarda düz, pürüzsüz, parlak yüzeyle ve optimum büyüme sıcaklığı 37°C'dir. Doğada bolca bulunmakla birlikte, bağırsak sistemi florasıdır. İnsan ve hayvanlarda, su, toprak, yiyecekler ile klinik örneklerden izole edilmiştir (Bergey's Manuel of Determinative Bacteriology).

*Eusomus ovulum* (Curculionidae) türünden izole edilen *Klebsiella* sp.; gram negatif, düz, fakültatif anaerobik, hareketsiz 0,3-1,0 x 0,6-6 µm büyüklüğünde, nemli

parlak çubuklardır. Optimum büyüme sıcaklığı 35-37<sup>0</sup>C'dir. Doğada geniş yayılış gösterdikleri için topraktan, bitkilerden, sulardan ve klinik örneklerden (insan ve hayvan) izole edilirler (The Prokaryotes, 2006).

*Lixus cardui* (Curculionidae) türünden izole edilen *Pantoea agglomerans*; gram negatif, fakültatif anaerob, düz, sporsuz, çubuk, kendiliğinden hareket eden peritrik flagellalı, nutrient agarda kolonilerin pigmentsiz veya sarı, soluk bej, soluk kırmızımsı renkli, saydam, pürüzsüz ve daha az dış bükey, geliştiği sıcaklık 30-37<sup>0</sup>C'dir. Bazı bakteriler simplasmata denilen agregat yapılar oluşturur. Doğada yaygın olarak bulunup topraktan, sulardan, bitkilerden, insan ve hayvan dışkısından izole edilirler (Cruz ve ark., 2007).

Yaptığımız çalışmada *Enterobacter ludwigii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp. ve *Pantoea agglomerans* olarak tanımlanan izolatların yukarıdaki belirttiğimiz özelliklerde olduğu ve uygulanan testlerin sonuçlarının (Tablo-1, Tablo-2 ve Tablo-3) Çetinkaya (2011), Çelebi (2012), Çakıcı ve ark. (2014), Muratoğlu ve ark. (2009), The Prokaryotes ve Bergey's Manual of Determinative Bacteriology'in belirttiği fiziksel ve biyokimyasal test sonuçları ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Karagöz ve Kotan (2010), marul yaprak lekeli hastalığına neden olan *Xanthomonas axonopodis* pv. *vitiensis*' in kimyasal pestisitler kullanılarak kontrolünün zor olduğunu ifade ederek MIS ve Biolog tanı sonuçlarına göre *Pantoea agglomerans*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Paenibacillus polymyxa*, Biolog sistemi ile metabolik enzim profillerine göre değerlendirilen izolatlar *Pantoea agglomerans*, *Raoultella terrigena*, *Bacillus amyloliquifaciens*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia vulneris*, *Enterobacter sakazakii*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis* ve *Paenibacillus polymyxa* olarak tanımlamıştır. Bu bakterilerin (bitki gelişimini teşvik edici rizobakterileri (PGPR) ve bitki gelişimini teşvik edici endofitik (PGPE) bakterileri) hastalık şiddeti ve marulun gelişimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bizim de elde ettiğimiz bu türler de PGPR olarak ileride yapılacak çalışmalarda biyogübre olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Çakmakçı (2004), araştırmasında yoğun tarımın aşırı gübre kullanımını zorunlu kıldığını, yüksek verim için gübre uygulamasını minimum, bitki gelişme ve beslenmesini maksimum düzeye çıkarmak amacıyla rizosferden seçilmiş farklı mikroorganizmaların kullanılabilirliğini belirtmiştir. Mikrobiyal türlerdeki geniş genetik varyasyon, farklı çevre koşullarına adapte olabilen yüksek potansiyele sahip mikroorganizmaları; *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumulis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Pantoea agglomerans*, *Enterobacter cloacea* ve birçok türün bitki gelişimini teşvik eden rizobakteriler (PGPR) olarak biyolojik gübre (BG) olarak kullanılabilirliğini ifade etmiştir.

Gram negatif, aerop, çomak şeklindeki *Pseudomonas*'lar doğada nemli ortamlarda çok yaygın olarak bulunurlar. Toprakta, yüzey sularında, bitkilerde ve az sayıda olmak koşulu ile insan ve hayvan bağırsaklarında bulunurlar (Tetik, 2007).

*Sitona puncticollis* (Curculionidae) türünden izole edilen *Lactococcus garviae*; gram pozitif, fakültatif anaerob, oval, hareketsiz ve sporsuz, nutrient agar ve kanlı agarda koloniler pigmentsiz, düz, pürüzsüz ve dairesel, büyüebildiği sıcaklık aralığı 10-40<sup>0</sup>C ve tuz toleransı %10 NaCl'dir. Alabalık, çiğ süt, atık peynir altı suyu, ineklerin cilt ve tükürüğünden izole edilir (Russo ve ark., 2012).

Ancak son zamanlarda özellikle zararlı böceklerin sindirim sistemlerindeki bakteri floraları araştırılmakta ve belirlenen bakterilerin bu zararlılara karşı biyolojik mücadele amaçlı kullanılabilirliği stratejileri üzerinde durulmaktadır.

Dharne ve ark. (2006), mikrobiyal simbiyotların böceklerin sindirim kanalında bulunan patojenlerin yayılmasının kontrolünde ve dolayısıyla biyolojik mücadelede etkili olarak kullanılabilirliğini ifade etmişlerdir. Muratoğlu ve ark. (2009), patates böceği olan *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Crysomelidae)' dan yeni bir bakteri izole etmişler ve bu böceğin larvası üzerinde insektisidiyal etkisini test etmişlerdir. Elde edilen sonuçların (Ld4 izolatu) *Leptinotarsa decemlineata*'nın biyolojik kontrolünde etkili olabileceğini ifade etmişlerdir. Yine

Muratoğlu ve ark. (2011), önemli bir ladin zararlısı olan *Ips typographus* (L.) türünden 8 bakteri izolatu (*Bacillus sphaericus*, *Acinetobacter* sp., *Kluyvera cryocrescens*, *Acinetobacter* sp., *Vagococcus* sp., *Acinetobacter* sp., *Proteus vulgaris* ve *Serratia liquefaciens*) elde etmişlerdir. İnsektisidial etki sonuçlarına göre en yüksek etkiyi gösteren *Serratia liquefaciens* bakterisinin *Ips typographus* türüne karşı biyolojik kontrol özelliğine sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Muratoğlu ve ark. (2009), dünya çapında önemli bir zararlı olan ve böcek öldürücü ilaçlara karşı direnç geliştiren colorado patates böceği (CPB) *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae)'ne karşı daha etkili ve güvenli biyolojik kontrol ajanı bulmak için bakteriyel florasını incelemişlerdir. Morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testler ve 16S rRNA sonuçlarına göre; *Enterobacter amnigenus*, *Leclercia adecarboxylata*, *Pantoea agglomerans*, *Citrobacter braakii*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter ludwigii*, *Enterobacter nimipressuralis*, *Enterobacter hormaechei*, *Citrobacter werkmanii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella ornithinolytica* ve *Enterobacter cancerogenus* türlerini tanımlayıp bu bakterilerin insektisidial etkilerini araştırmışlardır.

Sevim ve ark. (2010) araştırmalarında Türkiye'de hemen hemen bütün sebzelerin en önemli zararlılarından biri olan *Agrotis segetum* Schiff. (Lepidoptera: Noctuidae)' in larvalarının florasını daha etkili ve güvenli biyolojik mücadele etmeni bulmak amacıyla incelemişler; morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri, rutin ve geleneksel teknikler kullanılarak belirlemişlerdir. İzolatların karakterizasyonu için VITEK 32 bakteriyel tanımlama sistemi kullanılmış; *Bacillus cereus*, *Bacillus* sp., *B. megaterium*, *Enterobacter aerogenes*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Enterobacter* sp., *Pseudomonas putida*, *Enterococcus gallinarum* ve *Stenotrophomonas maltophilia* türlerini tanımlayıp bunların insektisidal etkilerini *Agrotis segetum* Schiff. larvalarına karşı incelemişlerdir.

Çağlayan (2013), yaptığı çalışmada Tokat bölgesindeki bazı sert keneler (ACARI: Ixodidae)' in bakteriyel florasını 16S-rDNA temelli PCR yöntemiyle belirlemiş, özellikle *Lysinibacillus* sp. *Pantoea agglomerans* ve *Stenotrophomonas*

sp. türlerini entemopatojen bakteri olarak tespit etmiş ve bunların kenelerin kontrolünde biyokontrol ajanı olarak kullanılabilmesi ifade etmiştir.

Tang ve ark. (2012), kara sineklerdeki (Diptera: Simuliidae) bakteri kompozisyonunu incelemişler. Aeromonadaceae, Enterobacteraceae, Moraxellaceae, Pseudomonadaceae, Neisseriaceae, Sphingomonadaceae, Actinobacteria ve Bacteroidetes cinslerine ait 16sRNA gen bölgesini çalışmışlardır. Bu bakterilerin biyolojik kontrol amaçlı kullanılabilmesini tespit etmişlerdir. Azizoğlu ve ark. (2012), zararlı böcekler ile mücadelede yaygın olarak kullanılan mikrobiyal kontrol ajanları bakteri, virüs, fungus, protozoa ve nematodlar olduğunu belirtmişlerdir. Mikrobiyal kontrol ajanları içerisinde yer alan entomopatojen biyoinsektisitlerin, türe özgü etki göstermelerinden dolayı düşmanlarına karşı daha fazla avantaj sağladığını ifade etmişlerdir.

Çelebi ve ark. (2014), buğday ve tahıllara ciddi zarar veren *Eurygaster integriceps* (Put.) (Hemiptera: Scutelleridae) türünün bakteriyel florasını incelemişlerdir. Rutin olarak kullanılan morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler (16S rRNA dizin analizi) özelliklerinin yanı sıra, API 20NE ve API Staph panel test sistemleri kullanılarak metabolik enzim profilleri ve biyokimyasal özellikleri belirlenerek; *Pantoea* sp., *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas* sp., *Micrococcus luteus* bakterilerini tanımlayıp, bu bakterilerin *E. integriceps* (Put.) erginleri üzerindeki ölüm oranlarını da belirlemişler ve en yüksek ölüm oranını %100 *Pantoea* sp. ve *Pantoea agglomerans* olarak ifade etmişlerdir.

Çalışma materyali olarak seçilen, ekolojik ve ekonomik önemi olan Curculionidae (Coleoptera) familyası ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır. Literatürler incelendiğinde bu familya ile ilgili çalışmaların sadece Demir ve ark. (2002) tarafından yapıldığı görülmüştür. Fındık ve meşe ağaçları zararlısı olan *Anoplus roboris* Sufr., (Coleoptera: Curculionidae) türünden; *Bacillus circulans*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus sphaericus* ve *Enterobacter* sp. bakterilerini izole etmişlerdir ve bunların insektisidial özelliklerinin kullanılması ile biyolojik kontrolünün yapılabilmesini belirtmişlerdir.

Sonuç olarak, İç Anadolu Bölgesi'nde zirai ve tarımsal alanlar yoğun bulunmaktadır. Familya bireyleri ekonomik önemi olan bitkilerde ve tarımsal ürünlerde önemli derecede zararlar meydana getirmektedir. Özellikle tarımsal ürünlerde zararlı olan bu gruba karşı mücadele oldukça önem kazanmaktadır. Bu zararlılara karşı yapılan kimyasal (pestisitler vb.) mücadele yetersiz kalmakta ve etkin sonuç alınamamakta dolayısıyla bu gruba karşı biyolojik mücadele ön plana çıkmaktadır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde son zamanlarda gerek dünyada ve gerekse ülkemizde biyolojik mücadele yöntemleri üzerinde durulmaktadır. Bu amaçla zararlıların sindirim sistemlerindeki bakteri floraları tespit edilmekte ve bu mikroorganizmaların özellikleri belirlenerek biyolojik kontrol konusunda stratejiler geliştirilmektedir. Bu çalışmada Curculionidae (Coleoptera) familyasına ait 5 türün sindirim sistemlerindeki bakteri floraları tespit edilmiş ve bakterilerin özellikleri belirlenmiştir. Böylelikle elde edilen verilerin bu zararlılara karşı yapılacak biyolojik mücadele konusunda önemli bir alt yapı oluşturacağı açıktır. Yine çalışma sonucunda elde edilen bazı türlerin de PGPR özelliğinin olduğu bildirilmektedir. Yukarıda belirtilen özelliklerinden dolayı araştırmanın ileride bu konular ile ilgili yapılacak çalışmalara ışık tutacağı da düşünülmektedir.

## 5. KAYNAKLAR

Ademoğlu, O. K.; Idowu, B. A. *Occurrence and Distribution of Microflora in the Gut Regions of the Variegated Grasshopper Zonocerus variegatus (Orthoptera: Pyrgomorphidae) during Development*, Zoological Studies, **2011**, 50(4): 409-415.

Adıguzel, A.; Ogutcu, H.; Baris, O.; Karadayi, M.; Gulluce, M.; Sahin, F. *Genetic diversity of Rhizobium Strains Isolated from Wild Vetch Collected from High Altitudes in Erzurum-Turkey*. Romanian Biotechnological Letters, **2010**, 15(1): 5017-5024.

Altın, N.; Bora, T. *Bitki Gelişimini Uyaran Kök Bakterilerinin Genel Özellikleri ve Etkileri*, **2005**, Anadolu, J. of AARI 15 (2), 87 - 103 MARA.

Asaka, O.; Shoda, M.. *Biocontrol of Rhizoctonia solani Damping-Off of Tomato with Bacillus subtilis RB14*. Applied and Environmental Microbiology, **1996**, 62(11): 4081–4085.

Amass, S. E.; Clark L. K. *Biosecurity considerations for pork production units*, Swine Health Produce, **1999**, 7(5): 217-228.

Aydın, M. *Bakteri identifikasyonunda kullanılan standart, biyokimyasal ve fizyolojik testler*, Güneş Yayınevi Ankara, **2004**, 91-110.

Azizoğlu, U.; Bulut, S. and Yılmaz, S. *Organik tarımda biyolojik mücadele; entomopatojen biyoinspektisitler*, **2012**, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 28(5):375-381.

Balows, A.; Trüper, G. H.; Dworkin, M.; Harder, W.; Schleifer, K. H. *The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications*, Springer-Verlag, New York, **1992**.

Behrendt, U.; Ulrich, A.; Schumann, P. *Fluorescent pseudomonads associated with the phyllosphere of grasses; Pseudomonas trivialis sp. nov., Pseudomonas poae sp. nov. and Pseudomonas congelans sp. nov.* International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, **2003**, 53: 1461–1469.

Brinkmann, N.; Martens, R. and Tebbe, C. C. *Origin and Diversity of Metabolically Active Gut Bacteria from Laboratory-Bred Larvae of Manduca sexta (Sphingidae, Lepidoptera, Insecta)*, Applied and Environmental Microbiology, Dec. **2008**.

Cawoy, H.; Bettiol, W.; Fickers, P.; Ongena, M. *Pesticides in the Modern World - Pesticides Use and Management*, Agricultural and Biological Sciences, **2011**.

Çağlayan, H. *Bazı Sert Kene Türlerinin Bakteriyomunun Moleküler Yöntemlerle Tespit edilmesi*, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu, Sonuç raporu, **2013**, 1-57.

Çakıcı, F.; Sevim, A.; Demirbağ, Z.; Demir, İ. *Investigating internal bacteria of Spodoptera littoralis (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and some Bacillus strains as biocontrol agents*, Turkish Journal of Agricultural Forestry, **2014**, 38: 99-110.

Çakmakçı, R. *Bitki Gelişimini Teşvik Eden Rizobakterilerin Tarımda Kullanımı* Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, **2005**, 36 (1), 97-107.

Çelebi, Ö. *Eurygaster integriceps (Put.) (Hemiptera: Scutelleridae)'in Bakteriyal Florasının ve Mikrobiyal Mücadele Etmenlerinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize, **2012**, 1-83.

Çelebi, Ö.; Sevim, E.; Sevim, A. *Investigation of the internal bacterial flora of Eurygaster integriceps (Hemiptera: Scutelleridae) and pathogenicity of the flora members*, Biologia **2014**, 69/10: 1365-1375.

Çetinkaya, E. *Gıdalardan izole edilen Enterobacter sp.ve Cronobacter sakazakii suşlarının Biyokimyasal ve Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, **2011**, 1-88.

Demir, İ.; Sezen, K.; Demirbağ, Z. *The First Study on Bacterial Flora and Biological Control Agent of Anoplus roboris (Suf., Coleoptera)*, The Journal of Microbiology, **2002**, 40(2): 104-108.

Demir, İ.; Eryüzlü, E.; Demirbağ, Z. *A study on the characterization and pathogenicity of bacteria from Lymantria dispar L. (Lepidoptera: Lymantriidae)*, Turk Journal of Biology, **2012**, 36: 459-468.

Dharne, M.; Patole, M.; Shouche, Y. S. *Microbiology of the insect gut: tales from mosquitoes and bees*. Journal of Bioscience, **2006**, 31: 293-295.

Engel, P. and Moran, A. N. *The gut microbiota of insects – diversity in structure and function*, Microbiology Reviews, **2013**, 669-735.

Erbey, M.; Candan, S. *Ekolojik ve Ekonomik Önemi olan Curculionidae (Coleoptera) Familyası bireylerinin mandibul yapılarının incelenmesi*, Ekoloji Sempozyumu, 2-4 Mayıs, Tekirdağ, **2013**.

Geiger, A.; Fardeau, L. M.; Njiokou, F.; Ollivier, B. *Glossina spp.gut bacterial flora and their putative role in fly-hosted trypanosome development*, Cellular and Infection Microbiology, **2013**, 1-8.

Göğüsgeren, N. *Trichodema spp.'e Etkili Antibiyotik Üreten Bacillus spp. Suşlarının Saptanması ve Bunların Gonoderma lucidum misel kültürlerinde İn Situ Kullanılma Olanaklarının Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, **2009**, 1-84.

Gök, A. *Böcekler, Entomolojinin ana hatları*, Nobel Yayınevi, **2012**, 1-563.

Hoffmann, A. *Faune de France, Coleopteres, Curculionides, premiere partie 52*, Paris, **1950**, 1-486.

Holt, G. J.; Krieg, N. R.; Sneath, P. H. A.; Staley, J. T.; Williams, S. T. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Lippincott Williams & Wilkins, USA, **2000**.

Huang, S.; Sheng, P.; Zhang, H. *Isolation and Identification of Cellulolytic Bacteria from the Gut of Holotrichia parallela Larvae (Coleoptera: Scarabaeidae)*, International Journal of Molecular Science, **2012**, 13: 2563-2577.

İnternet: Forest health protection, USDA APHIS PPQ, Georgia forestry Commission, Texas Forest Service and the pests and diseases image library – Australia “bark and wood boring beetles of the world”, [www.barkbeetles.org](http://www.barkbeetles.org) **2008**.

İskender, N. A.; Algur, Ö. F. *Sekiz Dişli Kabuk Böceği (Ips typographus, Coleoptera: Scolytidae)'nin Bakteriyal Florası Üzerine Araştırmalar*, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi Estitüsü, **2009**, 2(1): 67-76.

Kalaylı, E.; Beyatlı, Y. *Bacillus Cinsi Bakterilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri, PHB Üretimleri ve Plazmid DNA 'ları*, Mikrobiyoloji Dergisi, **2003**, 1(12): 24-35.

Karagöz, K.; Kotan, R. *Bitki gelişimini teşvik eden bazı bakterilerin marulun gelişimi ve Bakteriyel yaprak lekesi hastalığı üzerine etkileri*, Türk. Biyolojik Mücadele Dergisi, **2010**, 1(2): 165-179.

Karacaoğlu, S. S.; Sevim, A.; Sevim, E. *Production and characterization of bacteriocin-like peptide produced by Bacillus amyloliquefaciens B10*, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, **2014**, 30(5): 338-345.

Killer, J.; Kopečný, J.; Mrazek, J.; Rada, V.; Dubna, S.; Marounek, M. *Bifidobacteria in the digestive tract of bumblebees*, Anaerob, **2010**, 16(2): 165-170.

Kloepper, J. W.; Ryu, C. M.; Zhamg, S. *The Nature and Application of Biocontrol Microbes: Bacillus spp. Induced Systemic Resistance and Promotion of Plant Growth by Bacillus spp.*, Phytopathology, **2004**, 94: 1259-1266.

Lodos, N. *Orta Anadolu'da meyve ağaçlarında zarar yapan Curculionidae (Hortumlu Böcekler) türleri üzerindeki sistematik araştırmalar*, Ege Üniversitesi Matbaası, İzmir, **1960**, 1-62.

Lodos, N.; Önder, F.; Pehlivan, E.; Atalay, R.; Erkin, E.; Karsavuran, Y.; Tezcan S.; Aksoy, S. *Faunistic studies on Curculionidae (Coleoptera) of western black sea, central anatolia and mediterranean regions of Turkey*, Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir, **2003**, 1-83.

Marvaldi, A. E.; Lanteri, A. A. *Key to higher taxa of south American weevils based on adult characters (Coleoptera: Curculionidea)*, Revista Chilena Historia Natural, **2005**, 78: 65-87.

Mihajlova, B. *Contribution to the study of fauna of snout beetles (Coleoptera: Curculionidae) of Macedonia*, Fragmenta Balkanica, **1978**, 10(14): 1-234.

Muratoğlu, M.; Kati, H.; Demirbağ, Z.; Sezen, K. *High insecticidal activity of Leclercia adecarboxylata isolated from Leptinotarsa decemlineata (Col.: Chrysomelidae)*, African Journal of Biotechnology, **2009**, 8(24): 7111-7115.

Muratoğlu, H.; Sezen, K.; Demirbağ, Z. *Determination and pathogenicity of the bacterial flora associated with the spruce bark beetle, Ips typographus (L.) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)*, Turkish Journal of Biology, **2011**, 35: 9-20.

Nielsen, P.; Sorensen, J. *Multi-target and medium-independent fungal antagonism by hydrolytic enzymes in Paenibacillus polymyxa and Bacillus pumilus strains from barley rhizosphere*, **1996**.

Orhan, F. *Doğu Anadolu Bölgesindeki Tuzlu Topraklardan İzole Edilen Tuza Dayanıklı Bakterilerin Moleküler Karakterizasyonu*, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, **2013**, 1-201.

Öğütçü, H.; Kasımoğlu, C.; Elkoca, E. *Influence of Rhizobium Strains Isolated from Wild Chickpeas on the Growth and Symbiotic Performance of Chickpea (Cicer arietinum L.) under Salt Stress*, Turkish Journal of Agricultural Forest, **2010**, 34: 361-371.

Öğütçü, H.; Adıgüzel, A.; Güllüce, M.; Karadayı, M.; Şahin, F. *Molecular Characterization of Rhizobium Strains Isolated from Wild Chickpeas Collected from High Altitudes in Erzurum-Turkey*, Romanian Biotechnological Letters, **2009**, 14(2): 4294-4300.

Öğütçü, H.; Algur, Ö. F.; Gulluce, M.; Adıguzel, A. *Mikrobiyal Gübre Olarak Kullanılan ve Yabani Bitkilerden İzole Edilen Rhizobium Suşlarının Farklı Sıcaklık Şartlarında Azot Bağlama Potansiyellerinin Araştırılması*, Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi, **2010**, 3(1): 47-52.

Öğütçü, H.; Algur, Ö. F. *Yabani Baklagil Bitkilerinden, Mikrobiyal Gübre Olarak Kullanılan Rhizobium Spp. Bakterilerinin İzolasyonu*, Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, **2014**, 2(4): 181-184.

Palleroni, J. N.; Bradbury, F. J. *Stenotrophomonas, a new bacterial genus for Xanthomonas maltophilia (Hugh 1980)*, International Journal of Systematic Bacteriology, **1993**, 43(3): 606-609.

Richards, O. W.; Davies, R. G. *General textbook of entomology*, Tenth edition A Halsted Pres Book John Wiley and Sons, New York, **1977**.

Seçil, E. S.; Sevim A.; Demirbağ, Z.; Demir, İ. *Ostrinia nubilalis (Lepidoptera: Pyralidae) 'ten Entomopatojen bakterilerin izolasyonu ve karakterizasyonu*, Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi, Kahramanmaraş, **2011**.

Sert, O. *İç Anadolu Bölgesi Curculionidae (Coleoptera) famliyası üzerinde taksonomik çalışmalar*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **1995**, 1-184.

Sevim, A.; Demirbağ, Z.; Demir, İ. *A new study on the bacteria of Agrotis segetum Schiff. (Lepidoptera: Noctuidae) and their insecticidal activities*, Turkish Journal Agricultural Forest, **2010**, 34: 333-342.

Slepecky, R. and Hemphill, H. E. *The Genus Bacillus Nonmedical, Prokaryotes*, **2006**, 4: 530-562.

Steinhaus, E. A. *A Study of the Bacteria Associated With Thirty Species of Insects*, Department of Bacteriology, Ohio State University, Columbus, **1941**, 42(6): 1-757.

Tang, X.; Adler, H. P.; Vogel, H.; Ping, L. *Gender-specific bacterial composition of black flies (Diptera: Simuliidae)*, Mikrobiology Ecology, **2012**, 659-670.

Temiz, A. *Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri*, Hatipoğlu Yayıncılık, Ankara, **2010**, 1-277.

Tetik, Z. *Tabanidae (Insecta: Diptera) Türlerinin Sindirim Sistemlerinden Bakteri İzolasyonu ve Tanımlanması*, Yüksek Lisans Tezi, Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, **2007**, 1-130.

Vries, J. E.; Jacobs, G. and Breeuwer, J. A. *Growth and transmission of gut bacteria in the western flower thrips, Frankliniella occidentalis*, Journal of Invertebrate Pathology, **2001**, 77: 129-137.

Wolf, A.; Fritze, A.; Hagemann, M.; Berg, G. *Stenotrophomonas rhizophila sp. nov., a novel plant-associated bacterium with antifungal properties*, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, **2002**, 52: 1937-1944.

Yaman, M.; Demirbağ, Z. *Biyolojik Ajanların İnsektisidal Etkilerini Belirleme Yöntemleri*, **1998**, Ekoloji Çevre Dergisi, Cüt: 8, Sayı: 29, 11-14.

## 6. EKLER

### EK-2: YHC-2 Kodlu İzolatın 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz Sayısı: 1401

Baz İçeriği: 352 A 333 C 438 G 278 T

Gen Bankası No: KR010969

```
1 ATGCAAGTCG AGCGGACAGA TGGGAGCTTG CTCCTGATG TTAGCGGCGG ACGGGTGAGT
61 AACACGTGGG TAACCTGCCT GTAAGACTGG GATAACTCCG GGAAACCGGG GCTAATACCG
121 GATGCTTGTT TGAACCGCAT GGTTCAAACA TAAAAGGTGG CTTCCGGCTAC CACTTACAGA
181 TGGACCCGCG GCGCATTAGC TAGTTGGTGA GGTAACGGCT CACCAAGGCA ACGATGCGTA
241 GCCGACCTGA GAGGGTGATC GGCCACACTG GGACTGAGAC ACGGCCAGGA CTCCTACGGG
301 AGGCAGCAGT AGGGAATCTT CCGCAATGGA CGAAAGTCTG ACGGAGCAAC GCCGCGTGAG
361 TGATGAAGGT TTTCGGATCG TAAAGCTCTG TTGTTAGGGA AGAACAAAGTA CCGTTCGAAT
421 AGGGCGGTAC CTTGACGGTA CCTAACCAGA AAGCCACGGC TAACTACGTG CCAGCAGCCG
481 CGGTAATACG TAGGTGGCAA GCGTTGTCCG GAATTATTGG GCGTAAAGGG CTCGCAGGGC
541 GTTCCTTAAG TCTGATGTGA AAGCCCCGGG CTCAACCGGG GAGGGTCATT GGAACCTGGG
601 GAACTTGAGT GCAGAAGAGG AGAGTGGAAT TCCACGTGTA GCGGTGAAAT GCGTAGAGAT
661 GTGGAGGAAC ACCAGTGGCG AAGGCGACTC TCTGGTCTGT AACTGACGCT GAGGAGCGAA
721 AGCGTGGGGA GCGAACAGGA TTAGATACCC TGGTAGTCCA CGCCGTAAAC GATGAGTGCT
781 AAGTGTTAGG GGGTTTCCGC CCCTTAGTGC TGCAGCTAAC GCATTAAGCA CTCCGCCTGG
841 GGAGTACGGT CGCAAGACTG AAACCTCAAAG GAATTGACGG GGGCCCCGAC AAGCGGTGGA
901 GCATGTGGTT TAATTCGAAG CAACGCGAAG AACCTTACCA GGTCTTGACA TCCTCTGACA
961 ATCCTAGAGA TAGGACGTCC CCTTCGGGGG CAGAGTGACA GGTGGTGAT GGTGTGCTGC
1021 AGCTCGTGTC GTGAGATGTT GGGTTAAGTC CCGCAACGAG CGCAACCCTT GATCTTAGTT
1081 GCCAGCATTC AGTTGGGCAC TCTAAGGTGA CTGCCGGTGA CAAACCGGAG GAAGGTGGGG
1141 ATGACGTCAA ATCATCATGC CCCTTATGAC CTGGGCTACA CACGTGCTAC AATGGACAGA
1201 ACAAAGGGCA GCGAAACCGC GAGGTTAAGC CAATCCCACA AATCTGTTCT CAGTTCGGAT
1261 CGCAGTCTGC AACTCGACTG CGTGAAGCTG GAATCGCTAG TAATCGCGGA TCAGCATGCC
1321 GCGGTGAATA CGTTCGCCGG CCTTGTACAC ACCGCCCGTC ACACCACGAG AGTTTGTAA
1381 ACCCGAAGTC GGTGAGGTAA C
```

### EK-3: YHE-1 Kodlu İzolatın 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz Sayısı: 1393

Baz İçeriği: 351 A 320 C 438 G 284 T

Gen Bankası No: KR010970

```
1 TGCAGTCGAA CGGCAGCACA GTAAGAGCTT GCTCTTATGG GTGGCGAGTG GCGGACGGGT
61 GAGGAATACA TCGGAATCTA CCTTTTCGTG GGGGATAACG TAGGGAAACT TACGCTAATA
121 CCGCATAACG CCTTCGGGTG AAAGCAGGGG ACCTTCGGGC CTTGCGCGGA TAGATGAGCC
181 GATGTCGGAT TAGCTAGTTG GCGGGGTAAA GGCCACCAA GCGCAGCATC CGTAGCTGTT
241 CTGAGAGGAT GATCAGCCAC ACTGGAACGT AGACACGGTC CAGACTCCTA CGGGAGGCAG
301 CAGTGGGGAA TATTGGACAA TGGGCGCAAG CCTGATCCAG CCATACCGCG TGGGTGAAGA
361 AGGCCTTCGG GTTGTAAGC CCTTTTGTG GGAAGAAAA GCAGTCGATT AATACTCGGT
421 TGTTCTGACG GTACCCAAAG AATAAGCACC GGCTAACTTC GTGCCAGCAG CCGCGGTAAT
481 ACGAAGGGTG CAAGCGTTAC TCGGAATTAC TGGGCGTAAA GCGTGCGTAG GTGGTTGTTT
541 AAGTCTGTTG TGAAAGCCCT GGGCTCAACC TGGGAATTGC AGTGGATACT GGGCGACTAG
601 AGTGTGGTAG AGGGTAGTGG AATTCGGGT GTAGCAGTGA AATGCGTAGA GATCGGGAGG
661 AACATCCATG GCGAAGGCAG CTACCTGGAC CAACACTGAC ACTGAGGCAC GAAAGCGTGG
721 GGAGCAAACA GGATTAGATA CCCTGGTAGT CCACGCCCTA AACGATGCGA ACTGGATGTT
781 GGGTGCAATT TGGCACGCAG TATCGAAGCT AACCGTTAA GTTCGCCGCC TGGGGAGTAC
841 GGTGCAAGA CTGAAACTCA AAGGAATTGA CGGGGGCCCG CACAAGCGGT GGAGTATGTG
901 GTTTAATTCG ATGCAACCGG AAGAACCCTA CCTGGTCTTG ACATGTCGAG AACTTTCAG
961 AGATGGATTG GTGCCTTCGG GAACCTGAAC ACAGGTGCTG CATGGCTGTC GTCAGCTCGT
1021 GTCGTGAGAT GTTGGGTTAA GTCCCGCAAC GAGCGCAACC CTTGTCCTTA GTTGCCAGCA
1081 CGTAATGGTG GGAACCTTAA GGAGACCGCC GGTGACAAAC CGGAGGAAGG TGGGGATGAC
1141 GTCAAGTCAT CATGGCCCTT ACGACCAGGG CTACACACGT ACTACAATGG TAGGGACAGA
1201 GGGCTGCAAA CCCGCGAGGG CAAGCCAATC CCAGAAACCC TATCTCAGTC CGGATTGGAG
1261 TCTGCAACTC GACTCCATGA AGTCCGAAATC GCTAGTAATC GCAGATCAGC ATTGCTGCGG
1321 TGAATACGTT CCCGGGCCCT GTACACACCG CCCGTCACAC CATGGGAGTT TGTGACCA
1381 GAAGCAGGTA GCT
```

### EK-5: YHE-3 Kodlu İzolatın 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz Sayısı: 1384

Baz İçeriği: 350 A 309 C 435 G 290 T

Gen Bankası No: KR010972

```
1 GCAGTCGAGC GGTAGAGAGA AGCTTGCTTC TCTTGAGAGC GGCGGACGGG TGAGTAAAGC
61 CTAGGAATCT GCCTGGTAGT GGGGGATAAC GTTCGGAAAC GGACGCTAAT ACCGCATACG
121 TCCTACGGGA GAAAGCAGGG GACCTTCGGG CCTTGCGCTA TCAGATGAGC CTAGGTCGGA
181 TTAGCTAGTT GGTGAGGTAA TGGCTCACCA AGGCGACGAT CCGTAACTGG TCTGAGAGGA
241 TGATCAGTCA CACTGGAAC T GAGACACGGT CCAGACTCCT ACGGGAGGCA GCAGTGGGGA
301 ATATTGGACA ATGGGCGAAA GCCTGATCCA GCCATGCCGC GTGTGTGAAG AAGGCTTTCG
361 GATTGTAAAG CACTTTAAGT TGGGAGGAAG GGCAGTACT TAATACGTGA TTGTTTTGAC
421 GTTACCGACA GAATAAGCAC CGGCTAACTC TGTGCCAGCA GCCGCGGTAA TACAGAGGGT
481 GCAAGCGTTA ATCGGAATTA CTGGGCGTAA AGCGCGCGTA GGTGGTTTGT TAAGTTGGAT
541 GTGAAATCCC CGGGCTCAAC CTGGGAACTG CATTCAAAC TGACTGACTA GAGTGTGGTA
601 GAGGGTGGGT GGAATTTCC T GTGTAGCGGT GAAATGCGTA GATATAGGAA GGAACACCAG
661 TGGCGAAGGC GACCACCTGG ACCAACACTG AACTGAGGT GCGAAAGCGT GGGGAGCAAA
721 CAGGATTAGA TACCCTGGTA GTCCACGCCG TAAACGATGT CAACTAGCCG TTGGGAGCCT
781 TGAGCTCTTA GTGGCGCAGC TAACGCATTA AGTTGACCGC CTGGGGAGTA CGGCCCAAG
841 GTTAAACTC AAATGAATTG ACGGGGGCCC GCACAAGCGG TGGAGCATGT GGTTTAATTC
901 GAAGCAACGC GAAGAACCTT ACCAGGCCTT GACATCCAAT GAACCTTCCA GAGATGGATT
961 GGTGCCCTCG GGAACATTGA GACAGTGCT GCATGGCTGT CGTCAGCTCG TGTCGTGAGA
1021 TGTTGGGTTA AGTCCCCTAA CGAGCGCAAC CCTTGTCTT AGTTACCAGC ACGTTATGGT
1081 GGGCACTCTA AGGAGACTGC CGGTGACAAA CCGGAGGAAG GTGGGGATGA CGTCAAGTCA
1141 TCATGGCCCT TACGGCCTGG GCTACACACG TGCTACAATG GTCGGTACAG AGGGTTGCCA
1201 AGCCGCGAGG TGGAGCTAAT CCCACAAAAC CGATCGTAGT CCGGATCGCA GTCTGCAACT
1261 CGACTGCGTG AAGTCGGAAT CGCTAGTAAT CGCGAATCAG AATGTCGCGG TGAATACGTT
1321 CCCGGCCTT GTACACACCG CCCGTACAC CATGGGAGTG GGTGACCA GAAGTAGCTA
1381 GTCT
```

### EK-6: YHE-4 Kodlu İzolatın 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz Sayısı: 1386

Baz İçeriği: 348 A 318 C 445 G 275 T

Gen Bankası No: KR010973

```
1 TGCAGTCGAG CGGTAGCACA GAGAGCTTGC TCTCGGGTGA CGAGCGGCGG ACGGGTGCCT
61 TATGTCTGGG AAACCTGCCTG ATGGAGGGGG ATAACACTG GAAACGGTAG CTAATACCGC
121 ATAACGTTCG AAGACCAAAG TGGGGGACCT TCGGGCCTCA TGCCATCAGA TGTGCCAGA
181 TGGGATTAGC TAGTAGGTGG GGTAACGGCT CACCTAGGCG ACGATCCCTA GCTGGTCTGA
241 GAGGATGACC AGCCACACTG GAACTGAGAC ACGGTCCAGA CTCCTACGGG AGGCAGCAGT
301 GGGGAATATT GCACAATGGG CGCAAGCCTG ATGCAGCCAT GCCGCGTGTG TGAAGAAGGC
361 CTTCGGGTG TAAAGCACTT TCAGCGGGGA GGAAGCGGAT GAGGTTAATA ACCTTGTCGA
421 TTGACGTTAC CCGCAGAAGA AGCACC GGCT AACTCCGTGC CAGCAGCCGC GGTAAATACGG
481 AGGGTGCAAG CGTTAATCGG AATTACTGGG CGTAAAGCGC ACGCAGGCGG TCTGTCAAGT
541 CGGATGTGAA ATCCCCGGG TCAACCTGGG AACTGCATTC GAAACTGGCA GGCTAGAGTC
601 TTGTAGAGGG GGGTAGAATT CCAGGTGTAG CGGTGAAATG CGTAGAGATC TGGAGGAATA
661 CCGGTGGCGA AGGCGGCCCC CTGGACAAAAG ACTGACGCTC AGGTGCGAAA GCGTGGGGAG
721 CAAACAGGAT TAGATACCTT GGTAGTCCAC GCCGTAAACG ATGTCGATTT GGAGGTTGTG
781 CCCTTGAGGC GTGGCTTCCG GAGCTAACGC GTTAAATCGA CCGCTGGGG AGTACGGCCC
841 CAAGGTTAAA ACTCAAATGA ATTGACGGGG GCCCGCACAA GCGGTGGAGC ATGTGGTTTA
901 ATTCGATGCA ACGGAAGAA CCTTACCTGG TCTTGACATC CACAGAACTT TCCAGAGATG
961 GATTGGTGCC TTCGGGAACT GTGAGACAGG TGCTGCATGG CTGTCTCAG CTCGTGTGT
1021 GAAATGTTGG GTTAAGTCCC GCAACGAGCG CAACCTTAT CCTTTGTTGC CAGCGGTTTCG
1081 GCCGGGAACT CAAAGGAGAC TGCCAGTGAT AAACCTGGAG AAGGTGGGGA TGACGTCAAG
1141 TCATCATGGC CCTTACGACC AGGGCTACAC ACGTGTACA ATGGCATATA CAAAGAGAAG
1201 CGACCTCGCG AGAGCAAGCG GACCTCATAA AGTATGTCGT AGTCCGATT GGAGTCTGCA
1261 ACTCGACTCC ATGAAGTCGG AATCGTAGT AATCGTAGAT CAGAAATGCTA CCGTGAATAC
1321 GTTCCC GGCT CTTGTACACA CCGCCAGTGA CACCATGGGA GTGGGTTGCA AAAGAAGTAG
1381 GTAGCT
```

### EK-7: YHE-5 Kodlu İzolatın 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz Sayısı: 1386

Baz İçeriği: 350 A 319 C 444 G 273 T

Gen Bankası No: KR010974

```
1 TGCAGTCGAA CGGTAGCACA GAGAGCTTGC TCTCGGGTGA CGAGTGGCGG ACGGGTGAGT
61 AATGTCTGGG AAACGCCTG ATGGAGGGGG ATAACACTG GAAACGGTAG CTAATACCGC
121 ATAACGTCGC AAGACCAAAG AGGGGGACCT TCGGGCCTCT TGCCATCAGA TGTGCCCAGA
181 TGGGATTAGC TAGTAGGTGG GGTAATGGCT CACCTAGGCG ACGATCCCTA GCTGGTCTGA
241 GAGGATGACC AGCCACACTG GAACTGAGAC ACGGTCCAGA CTCCTACGGG AGGCAGCAGT
301 GGGGAATATT GCACAATGGG CGCAAGCCTG ATGCAGCCAT GCCGCGTGTA TGAAGAAGGC
361 CTTCCGGGTTG TAAAGTACTT TCAGCGGGGA GGAAGGTGTT GCGGTTAATA ACCGCAGCAA
421 TTGACGTTAC CCGCAGAAGA AGCACC GGCT AACTCCGTGC CAGCAGCCCG GGTAATACGG
481 AGGGTGCAAG CGTTAATCGG AATTACTGGG CGTAAAGCGC ACGCAGCCCG TCTGTCAAGT
541 CGGATGTGAA ATCCCCGGGC TCAACCTGGG AACTGCATT CAAAACGGCA GGCTAGAGTC
601 TTGTAGAGGG GGGTAGAATT CCAGGTGTAG CCGTGAAATG CGTAGAGATC TGGAGGAATA
661 CCGGTGGCGA AGGCGGCCCC CTGGACAAAG ACTGACGCTC AGGTGCGAAA GCGTGGGGAG
721 CAAACAGGAT TAGATACCCCT GG TAGTCCAC GCCGTAACG ATGTCGACTT GGAGGTTGTG
781 CCCTTGAGGC GTGGCTTCCG GAGCTAACGC GTTAAGTCGA CCGCTGGGG AGTACGGCCG
841 CAAGTTAAA ACTCAAATGA ATTGACGGGG GCCCGCACA GCGGTGGAGC ATGTGGTTTA
901 ATTCGATGCA ACGCGAAGAA CTTACCTAC TCTTGACATC CAGAGAACTT TCCAGAGATG
961 GATTGGTGCC TTCGGGAACT CTGAGACAGG TGCTGCATGG CTGTCGTCAG CTCGTGTTGT
1021 GAAATGTTGG GTTAAGTCCC GCAACGAGCG CAACCCTTAT CCTTTGTTGC CAGCGGTCCG
1081 GCCGGGAACT CAAAGGAGAC TGCCAGTGAT AAACCTGGAG AAGGTGGGGA TGACGTCAAG
1141 TCATCATGGC CCTTACGAGT AGGGCTACAC ACGTGCTACA ATGGCGCATA CAAAGAGAAG
1201 CGAACTCGCG AGAGCAAGCG GACCTCATAA AGTGCCTCGT AGTCCGGATT GGAGTCTGCA
1261 ACTCGACTCC ATGAAGTCGG AATCGCTAGT AATCGTAGAT CAGAATGCTA CCGTGAATAC
1321 GTTCCCCGGC CTTGTACACA CCGCCCGTCA CACCATGGGA GTGGGTTGCA AAAGAAGTAG
1381 GTAGCT
```

### EK-9: YHE-7 Kodlu İzolatın 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz Sayısı: 1387

Baz İçeriği: 349 A 319 C 445 G 274 T

Gen Bankası No: KR010976

```
1 TGCAGTCGAG CGGTAGCACA AGAGAGCTTG CTCTCGGGTG ACGAGCGCGG GACGGGTGAG
61 TAATGTCTGG GAAACTGCCT GATGGAGGGG GATAACTACT GGAAACGGTA GCTAATACCG
121 CATAACGTCG CAAGACCAA GTGGGGGACC TTCGGGCCTC ATGCCATCAG ATGTGCCCAG
181 ATGGGATTAG CTAGTAGGTG GGGTAACGGC TCACCTAGGC GACGATCCCT AGCTGGTCTG
241 AGAGGATGAC CAGCCACACT GGAACAGAGA CACGGTCCAG ACTCCTACGG GAGGCAGCAG
301 TGGGGAATAT TGCACAATGG GCGCAAGCCT GATGCAGCCA TGCCGCGTGT GTGAAGAAGG
361 CCTTCGGGTT GTAAAGCACT TTCAGCGGGG AGGAAGCGG TGAGGTTAAT AACCTTGTCG
421 ATTGACGTTA CCCGCAGAAG AAGCACCGGC TAACTCCGTG CCAGCAGCCG CGGTAATACG
481 GAGGGTGCAA GCGTTAATCG GAATTACTGG GCGTAAAGCG CACGCAGCCG GTCTGTCAAG
541 TCGGATGTGA AATCCCCGGG CTCAACCTGG GAACTGCATT CGAAACTGGC AGGCTAGAGT
601 CTTGTAGAGG GGGGTAGAAT TCCAGGTGTA GCGGTGAAAT GCGTAGAGAT CTGGAGGAAT
661 ACCGGTGGCG AAGGCGGCC CCTGGACAAA GACTGACGCT CAGGTGCGAA AGCGTGGGGA
721 GCAAACAGGA TTAGATACCC TGGTAGTCCA CGCCGTAAAC GATGTCGATT TGGAGGTTGT
781 GCCCTTGAGG CGTGGCTTCC GGAGCTAACG CGTTAAATCG ACCGCTGGG GAGTACGGCC
841 GCAAGGTTAA AACTCAAATG AATTGACGGG GGCCCGCACA AGCGGTGGAG CATGTGGTTT
901 AATTCGATGC AACCGGAAGA ACCTTACCTG GTCTTGACAT CCACAGAACT TTCCAGAGAT
961 GGATTGGTGC CTTCCGGGAA TGTGAGACAG GTGCTGCATG GCTGTCGTC GCTCGTGTG
1021 TGAAATGTTG GGTTAAGTCC CGCAACGAGC GCAACCCTTA TCCTTTGTTG CCAGCGGTTT
1081 GGCCGGGAAC TCAAAGGAGA CTGCCAGTGA TAAACTGGAG GAAGGTGGGG ATGACGTCAA
1141 GTCATCATGG CCTTACGAC CAGGGCTACA CACGTGCTAC AATGGCATAT ACAAAGAGAA
1201 GCGACCTCGC GAGAGCAAGC GGACCTCATA AAGTATGTCG TAGTCCGGAT TGGAGTCTGC
1261 AACTCGACTC CATGAAGTCG GAATCGTAGT TAATCGTAGA TCAGAATGCT ACGGTGAATA
1321 CGTTCCCCGG CCTTGTACAC ACCGCCCGTC ACACCATGGG AGTGGGTTGC AAAAGAAGTA
1381 GGTAGCT
```

**EK-10: YHE-8 Kodlu İzolatın 16S rRNA Geninin Baz Sırası****Baz Sayısı: 1388****Baz İçeriği: 345 A 322 C 444 G 277 T****Gen Bankası No: KR010977**

```
1 TGCAGTCGTA CGGTGGATCA GCGCAGCAGC TTGCTTGCTT CGCTGACGAG TGGCGGACGG
61 GTGAGTAATG TCTGGGAAAC TGCCTGATGG AGGGGGATAA CTACTGGAAA CCGTAGCTAA
121 TACCGCATAA CGTCGCAAGA CCAAAGAGGG GGACCTTCGG GCCCTTGCC ATCGGATGTG
181 CCCAGATGGG ATTAGCTAGT AGGTGGGGTA ACGGCTCACC TAGGCACGA TCCCTAGCTG
241 GTCTGAGAGG ATGACCAGCC AACTGGAAC TGAGACACGG TCCAGACTCC TACGGGAGGC
301 AGCAGTGGGG AATATTGCAC AATGGGCGCA AGCCTGATGC AGCCATGCCG CGTGTATGAA
361 GAAGGCCTTC GGGTTGTAAA GTACTTTCAG CGGGGAGGAA GGGAGTAAAG TTAATACCTT
421 TAGCTCATTTG ACGTTACCCG CAGAAGAAGC ACCGGCTAAC TCCGTGCCAG CAGCCGCGGT
481 AATACGGAGG GTGCAAGCGT TAATCGGAAT TACTGGGCGT AAAGCGCACG CAGGCGGTTT
541 GTTAAGTCAG ATGTGAAATC CCCGGGCTCA ACCTGGGAAC TGCATCTGAT ACTGGCAAGC
601 TTGAGTCTCG TAGAGGGGGG TAGAATTCCA GGTGTAGCGG TGAAATGCGT AGAGATCTGG
661 AGGAATACCG GTGGCGAAGG CGGCCCTTG GACGAAGACT GACGCTCAGG TGCGAAAGCG
721 TGGGGAGCAA ACAGGATTAG ATACCTTGGT AGTCCACGCC GTAAACGATG TCGACTTGGA
781 GGTGTGTCCTT TTGAGGCGTG GCTTCCGGAG CTAACCGGTT AAGTCGACCG CCTGGGGAGT
841 ACGGCCGCAA GGTAAAACCT CAAATGAATT GACGGGGGCC CGCACAAAGC GTGGAGCATG
901 TGGTTTAATT CGATGCAACG CGAAGAACCT TACCTGGTCT TGACATCCAC GGAAGTTTTC
961 AGAGATGAGA ATGTGCCTTC GGAACCGTG AGACAGGTGC TGCATGGCTG TCGTCAGCTC
1021 GTGTTGTGAA ATGTTGGGTT AAGTCCCGCA ACGAGCGCAA CCCTTATCCT TTGTTGCCAG
1081 CGGTCCGGCC GGGAACTCAA AGGAGACTGC CAGTGATAAA CTGGAGGAAG GTGGGGATGA
1141 CGTCAAGTCA TCATGGCCCT TACGACCAGG GCTACACACG TGCTACAATG GCGCATACAA
1201 AGAGAAGCGA CCTCGGAGA GCAAGCGGAC CTCATAAAGT GCGTCGTAGT CCGGATTGGA
1261 GTCTGCAACT CGACTCCATG AAGTCGGAAT CGCTAGTAAT CGTGGATCAG AATGCCACGG
1321 TGAATACGTT CCCGGGCCTT GTACACACCG CCCGTCACAC CATGGGAGTG GTTTGCAAAA
1381 GAAGTAGT
```

**EK-11: YHH-1 Kodlu İzolatın 16S rRNA Geninin Baz Sırası****Baz Sayısı: 1396****Baz İçeriği: 347 A 329 C 439 G 281 T****Gen Bankası No: KR010978**

```
1 TGCAGTCGAG CGGACAGAAG GGAGCTTGCT CCCGGATGTT AGCGGCGGAC GGGTGAGTAA
61 CACGTGGGTA ACCTGCCTGT AAGACTGGGA TAACCTCCGG AAACCGGAGC TAATACCGGA
121 TAGTTCCTTG AACCGCATGG TTCAAGGATG AAAGACGGTT TCGGCTGTCA CTTACAGATG
181 GACCCGCGGC GCATTAGCTA GTTGGTGGGG TAATGGCTCA CCAAGGCGAC GATGCGTAGC
241 CGACCTGAGA GGGTGATCGG CCACACTGGG ACTGAGACAC GGCCAGACT CCTACGGGAG
301 GCAGCAGTAG GGAATCTTCC GCAATGGACG AAAGTCTGAC GGAGCAACGC CCGGTGAGTG
361 ATGAAGGTTT TCGGATCGTA AAGCTCTGTT GTTAGGGGAA AACAAGTGCG AGAGTAACTG
421 CTCGCACCTT GACGGTACCT AACCAGAAAAG CCACGGCTAA CTACGTGCCA GCAGCCGCGG
481 TAATACGTAG GTGGCAAGCG TTGTCCGGAA TTATTGGGCG TAAAGGGCTC GCAGGCGGTT
541 TCTTAAGTCT GATGTGAAAAG CCCCCGGCTC AACCAGGGGAG GGTCAATGGA AACTGGGAAA
601 CTTGAGTGCA GAAGAGGAGA GTGGAATTCC ACGTGTAGCG GTGAAATGCG TAGAGATGTG
661 GAGGAACACC AGTGGCGAAG GCGACTCTCT GGTCTGTAACTGACGCTGAG GAGCGAAAAGC
721 GTGGGGAGCG AACAGGATTA GATACCTTGG TAGTCCACGC CGTAAACGAT GAGTGCTAAG
781 TGTTAGGGGG TTTCCGCCCC TTAGTGCTGC AGCTAACGCA TTAAGCACTC CGCCTGGGGA
841 GTACGGTCGC AAGACTGAAA CTCAAAGGAA TTGACGGGGG CCCGCACAAG CCGTGGAGCA
901 TGTGGTTTAA TTCGAAGCAA CGCGAAGAAC CTTACCAGGT CTTGACATCC TCTGACAACC
961 CTAGAGATAG GGCTTTCCCT TCGGGGACAG AGTGACAGGT GGTGCATGGT TGTCGTCAGC
1021 TCGTGTCTGTG AGATGTTGGG TTAAGTCCCG CAACGAGCGC AACCTTGAT CTTAGTTGCC
1081 AGCATTTAGT TGGGCACTCT AAGGTGACTG CCGGTGACAA ACCGGAGGAA GGTGGGGATG
1141 ACGTCAAATC ATCATGCCCC TTATGACCTG GGCTACACAC GTGCTACAAT GGACAGAACA
1201 AAGGGCTGCG AGACCGCAAG GTTTAGCCAA TCCCATAAAT CTGTTCTCAG TTCGGATCGC
1261 AGTCTGCAAC TCGACTGCGT GAAGCTGGAA TCGCTAGTAA TCGCGGATCA GCATGCCCGG
1321 GTGAATACGT TCCCGGCCTT TGTACACACC GCCCGTCACA CCACGAGAGT TTGCAACACC
1381 CGAAGTCGGT GAGGTA
```

## EK-12: YHL-1 Kodlu İzolatın 16S rRNA Geninin Baz Sırası

**Baz Sayısı:** 1038

**Baz İçeriği:** 262 A 239 C 326 G 211 T

**Gen Bankası No:** KR010979

```
1 GCGTGTATGA AGAAGGCCTT CGGGTTGTAA AGTACTTTCA GCGGGGAGGA AGGGAGTAAA
61 GTTAATACCT TTACTCATTG ACGTTACCCG CAGAAGAAGC ACCGGCTAAC TCCGTGCCAG
121 CAGCCGCGGT AATACGGAGG GTGCAAGCGT TAATCGGAAT TACTGGGCGT AAAGCGCAG
181 CAGGCGGTTT GTTAAGTCAG ATGTGAAATC CCCGGGCTCA ACCTGGGAAC TGCATCTGAT
241 ACTGGCAAGC TTGAGTCTCG TAGAGGGGGG TAGAATTCCA GGTGTAGCGG TGAAATGCGT
301 AGAGATCTGG AGGAATACCG GTGGCGAAGG CGGCCCCCTG GACGAAGACT GACGCTCAGG
361 TGCGAAAAGC TGGGGAGCAA ACAGGATTAG ATACCCTGGT AGTCCACGCC GTAAACGATG
421 TCGACTTGGA GGTGTGTGCC TTGAGGCGTG GCTTCCGGAG CTAACGCGTT AAGTCGACCG
481 CCTGGGGAGT ACGGCCGCAA GGTAAAACT CAAATGAATT GACGGGGGCC CGCACAAGCG
541 GTGGAGCATG TGGTTTAATT CGATGCAACG CGAAGAACCT TACCTGGTCT TGACATCCAC
601 GGAAGTTTTC AGAGATGAGA ATGTGCCTTC GGAACCGTG AGACAGGTGC TGATGGCTG
661 TCGTCAGCTC GTGTTGTGAA ATGTTGGGTT AAGTCCCGCA ACGAGCGCAA CCCTTATCCT
721 TTGTTGCCAG CCGTCCGCC GGGAACTCAA AGGAGACTGC CAGTGATAAA CTGGAGGAAG
781 GTGGGGATGA CGTCAAGTCA TCATGCCCT TACGACCAGG GCTACACACG TGCTACAATG
841 GCGCATACAA AGAGAAGCGA CCTCGCGAGA GCAAGCGGAC CTCATAAAGT GCGTCGTAGT
901 CCGGATTGGA GTCTGCAACT CGACTCCATG AAGTCGGAAT CGCTAGTAAT CGTGGATCAG
961 AATGCCACGG TGAATACGTT CCCGGGCCTT GTACACACCG CCCGTCACAC CATGGGAGTG
1021 GGTGCAAAA GAAGTACG
```

## EK-14: YHL-3 Kodlu İzolatın 16S rRNA Geninin Baz Sırası

**Baz Sayısı:** 1399

**Baz İçeriği:** 350 A 332 C 438 G 279 T

**Gen Bankası No:** KR010981

```
1 TGCAGTCGAG CGGACAGATG GGAGCTTGCT CCCTGATGTT AGCGGGGAC GGGTGTAGTAA
61 CACGTGGGTA ACCTGCCTGT AAGACTGGGA TAACTCCGGG AAACCGGGGC TAATACCGGA
121 TGCTTGTTT AACC GCATGG TTCAAACATA AAAGGTGGCT TCGGCTACCA CTTACAGATG
181 GACCCGCGGC GCATTAGCTA GTTGGT GAGG TAACGGCTCA CCAAGGCAAC GATGCGTAGC
241 CGACCTGAGA GGGTGATCGG CCACACTGGG ACTGAGACAC GGCCAGACT CCTACGGGAG
301 GCAGCAGTAG GGAATCTTCC GCAATGGACG AAAGTCTGAC GGAGCAACGC CGCGTGAGTG
361 ATGAAGGTTT TCGGATCGTA AAGCTCTGTT GTTAGGGAAG AACAAAGTACC GTTCGAATAG
421 GGCGGTACCT TGACGGTACC TAACCAGAAA GCCACGGCTA ACTACGTGCC AGCAGCCGCG
481 GTAATACGTA GGTGGCAAGC GTTGTCCGGA ATTATTGGGC GTAAAGGGCT CGCAGCCGGT
541 TTCTTAAGTC TGATGTGAAA GCCCCCGCT CAACCGGGGA GGGTCATTGG AAAC TGGGGGA
601 ACTTGAGTGC AGAAGAGGAG AGTGGAAATC CACGTGTAGC GGTGAAATGC GTAGAGATGT
661 GGAGGAACAC CAGTGGCGAA GGCGACTCTC TGGTCTGTAA CTGACCTGA GGAGCGAAAAG
721 CGTGGGGAGC GAACAGGATT AGATAACCCTG GTAGTCCACG CCGTAAACGA TGAGTGCTAA
781 GTGTTAGGGG GTTTCGCC CTTAGTGCTG CAGCTAACGC ATTAAGCACT CCGCTGGGG
841 AGTACGGTCG CAAGACTGAA ACTCAAAGGA ATTGACGGGG GCCCGCACAA GCGGTGGAGC
901 ATGTGGTTTA ATTCAAGCA ACGCGAAGAA CCTTACCAGG TCTTGACATC CTCTGACAAT
961 CCTAGAGATA GGACGTCCCC TTCGGGGGCA GAGTGACAGG TGGTGCATGG TTGTGCTCAG
1021 CTCGTGTCGT GAGATGTTGG GTTAAGTCCC GCAACGAGCG CAACCCTTGA TCTTAGTTGC
1081 CAGCATT CAG TTGGGCACTC TAAGGTGACT GCCGGTGACA AACCGGAGGA AGGTGGGGAT
1141 GACGTCAAAT CATCATGCC CTTATGACCT GGGCTACACA CGTGCTACAA TGGACAGAAC
1201 AAAGGGCAGC GAAACCGCA GGTAAAGCCA ATCCCACAAA TCTGTTCTCA GTTCGGATCG
1261 CAGTCTGCAA CTCGACTGCG TGAAGCTGGA ATCGCTAGTA ATCGCGGATC AGCATGCCGC
1321 GGTGAATACG TTCCCGGGCC TTGTACACAC CGCCCGTCAC ACCACGAGAG TTTGTAAAC
1381 CCGAAGTCGG TGAGGTAAC
```

### EK-15: YHL-4 Kodlu İzolatın 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz Sayısı: 1386

Baz İçeriği: 348 A 324 C 445 G 269 T

Gen Bankası No: KR010982

```
1 TGCAGTCGGA CGGTAGCACA GAGAGCTTGC TCTCGGGTGA CGAGTGGCGG ACGGGTGAGT
61 AATGTCTGGG GATCTGCCCC ATAGAGGGGG ATAACCACTG GAAACGGTGG CTAATACCGC
121 ATAACGTGCG AAGACCAAAG AGGGGGACCT TCGGGCCTCT CACTATCGGA TGAACCCAGA
181 TGGGATTAGC TAGTAGGCGG GGTAATGGCC CACCTAGGCG ACAATCCCTA GCTGGTCTGA
241 GAGGATGACC AGCCACACTG GAACTGAGAC ACGGTCCAGA CTCCTACGGG AGGCAGCAGT
301 GGGGAATATT GCACAATGGG CGCAAGCCTG ATGCAGCCAT GCCGCGTGTA TGAAGAAGGC
361 CTTCCGGGTTG TAAAGTACTT TCAGCGGGGA GGAAGGCGAC GGGGTAAATA ACCCTGTCGA
421 TTGACGTTAC CCGCAGAAGA AGCACC GGCT AACTCCGTGC CAGCAGCCGC GGTAATACGG
481 AGGGTGCAAG CGTTAATCGG AATTACTGGG CGTAAAGCGC ACGCAGCCGC TCTGTTAAGT
541 CAGATAAGAA ATCCCCGGGC TTAACCTGGG AACTGCATTT GAAACTGGCA GGCTTGAGTC
601 TTGTAGAGGG GGGTAGAATT CCAGGTGTAG CGGTGAAATG CGTAGAGATC TGGAGGAATA
661 CCGGTGGCGA AGGCGGCCCC CTGGACAAAG ACTGACGCTC AGGTGCGAAA GCGTGGGGAG
721 CAAACAGGAT TAGATACCCCT GGTTAGTCCAC GCCGTAAACG ATGTCGACTT GGAGGTGTGT
781 CCCTTGAGGA GTGGCTTCCG GAGCTAACGC GTTAAGTCGA CCGCTGGGG AGTACGGCCG
841 CAAGTTAAA ACTCAAATGA ATTGACGGGG GCCCGCACAA GCGGTGGAGC ATGTGGTTTA
901 ATTCGATGCA ACGCGAAGAA CTTTACCTAC TCTTGACATC CAGCGAACTT AGCAGAGATG
961 CATTGGTGCC TTCGGGAACG CTGAGACAGG TGCTGCATGG CTGTGCTCAG CTCGTGTTGT
1021 GAAATGTTGG GTTAAGTCCC GCAACGAGCG CAACCCTTAT CCTTTGTTGC CAGCGATTCC
1081 GTCGGGAAC TCAAAGGAGAC TGCCGGTGAT AAACCGGAGG AAGGTGGGGA TGACGTCAAG
1141 TCATCATGGC CCTTACGAGT AGGGTACAC ACGTGTACA ATGGGCATA CAAAGAGAAG
1201 CGACCTCGCG AGAGCAAGCG GACCTCACAA AGTGCCTCGT AGTCCGGATC GGAGTCTGCA
1261 ACTCGACTCC GTGAAGTCGG AATCGCTAGT AATCGTGGAT CAGAATGCCA CCGTGAATAC
1321 GTTCCCGGC CTTGTACACA CCGCCCTCA CACCATGGGA GTGGGTTGCA AAAGAAGTAG
1381 GTAGCT
```

### EK-17: YHS-2 Kodlu İzolatın 16S rRNA Geninin Baz Sırası

Baz Sayısı: 935

Baz İçeriği: 206 A 279 C 207 G 243 T

Gen Bankası No: KR010984

```
1 TGTGTACAAG GCCCGGAAC GTATTCACCG CGGCCTGTTG ATCCGCGATT ACTAGCGATT
61 CCGACTTCAT GCAGGCGAGT TGCAGCCTGC AATCCGAAC TGAAGTGGT TTAAGAGATT
121 AGCGCACCC TCGCGGTTGG CGACTCGTTG TACCATCCAT TGTAGACGT GTGTAGCCCA
181 GGTCATAAGG GGCATGATGA TTTGACGTCA TCCCCACCTT CCTCCGTTT ATCACC GGCA
241 GTCTCACTAG AGTGCCCAAC TTAATGATGG CAACTAGTAA TAAGGTTGC GCTCGTTGCG
301 GGACTTAACC CAACATCTCA CGACACGAGC TGACGACAAC CATGCACCAC CTGTATCCCG
361 TGTCCCGAAG GAACTCCTTA TCTCTAAGGA TAGCACGAGT ATGTCAAGAC CTGGTAAGGT
421 TCTTCGCGTT GCTTCGAATT AAACCACATG CTCCACCGCT TGTGCGGGCC CCCGTCAATT
481 CCTTTGAGTT TCAACCTTGC GGTCGTACTC CCCAGGCGGA GTGCTTAATG CGTTAGCTGC
541 GCTACAGAGA ACTTATAGCT CCCTACAGCT AGCACTCATC GTTTACGGCG TGGACTACCA
601 GGGTATCTAA TCCTGTTTGC TCCCCACGCT TTCGAGCCTC AGTGTCAAGT ACAGGCCAGA
661 GAGCCGCTTT CGCCTCCGGT GTTCCCTCCAT ATATCTACGC ATTTACCGC TACACATGGA
721 ATTCCACTCT CCTCTCCTGC ACTCAAGTCT CCCAGTTTCC AATGCACACA ATGGTTGAGC
781 CACTGCCTTT TACATCAGAC TTAAGAAACC ACCTGCGCTC GCTTTACGCC CAATAAATCC
841 GGACAACGCT TGGGACCTAC GTATTACCGC GGCTGCTGGC ACGTAGTTAG CCGTCCCTTT
901 CTGGTTAGAT ACCGTCCTT AAGTAATTTT CCACT
```

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ERBEY, Yasemin  
Uyruđu : T.C.  
Doğum tarihi ve yeri : 26.01.1986  
Medeni hali : Evli  
e-mail : yipek26@gmail.com

### Eğitim

#### Derece

#### Eğitim Birimi

#### Mezuniyet

#### tarihi

Lisans	Gazi Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2008
Lise	Kalaba Lisesi	2003

### Yabancı Dil

İngilizce