

T.C.

**RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DEPOLANMIŞ ÜRÜN ZARARLILARINA KARŞI
MİKROBİYAL MÜCADELE ETMENLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

MERYEM DEMİRCİ

**TEZ DANİŞMANI
DOÇ. DR. CEMAL SANDALLI
TEZ JÜRİLERİ
PROF. DR. ŞENGÜL ALPAY KARAOĞLU
DOÇ. DR. ELİF SEVİM**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

RİZE 2015

Her Hakkı Saklıdır

T.C
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DEPOLANMIŞ ÜRÜN ZARARLILARINA KARŞI MİKROBİYAL MÜCADELE
ETMENLERİNİN ARAŞTIRILMSI

Doç. Dr. Cemal SANDALLI danışmanlığında, Meryem DEMİRCİ tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 04/08/2015 tarihinde Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Üye

Üye

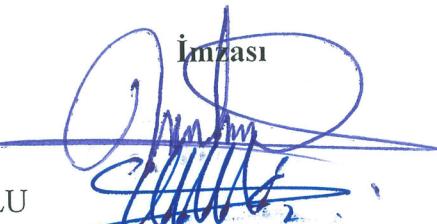
Unvanı Adı Soyadı

Doç. Dr. Cemal SANDALLI

Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU

Doç. Dr. Elif SEVİM

İmzası




Prof. Dr. Selami ŞAŞMAZ 7.
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ



ÖNSÖZ

Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji laboratuvarında 2011-2015 yılları arasında gerçekleştirilmiştir. Yüksek lisans öğrenciliğimin her aşamasında bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, ilgisini ve her konuda yardımcılarını esirgemeyen çok değerli hocam Doç. Dr. Cemal SANDALLI ve Doç. Dr. Ali SEVİM'e en içten dileklerimle teşekkür ederim. Çalışmalarım boyunca laboratuar çalışmalarında benden yardımını esirgemeyen saygınlı hocam Doç. Dr. Elif SEVİM'e ve Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım. Tüm çalışmalarım boyunca yardımcılarını esirgemeyen tüm R.T.E.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü ve Mikrobiyoloji Laboratuvar çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım. Üzerimdeki emeklerini hiçbir zaman ödeyemeyeceğim, benim bugünlere gelmemi sağlayan anneme ve babama çok teşekkür ederim.

Meryem DEMİRCİ

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan Depolanmış Ürün Zararlara Karşı Mikrobiyal Mücadele Etmenlerinin Araştırılması başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim.

04/08/2015

Meryem DEMİRCİ

***Uyarı:** Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.*

ÖZET

DEPOLANMIŞ ÜRÜN ZARARLILARINA KARŞI MİKROBİYAL MÜCADELE ETMENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Meryem DEMİRCİ

**Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
Danışmanı: Doç. Dr. Cemal SANDALLI**

Depolanmış ürün zararlardan *Acanthoscelides obtectus* (Say.) (Fasulye Tohum Böceği, Coleoptra: Bruchidae), *Callosobruchus maculatus* (F.) (Börülce Tohum Böceği, Coleoptera: Bruchidae), *Sitotroga cerealella* (Oliv) (Mısır Güvesi, Lepidoptera: Gelechiidae) ve *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Patates güvesi, Lepidoptera: Gelechiidae) ülkemizde ve dünyada önemli ürün kayıplarına neden olan zararlardır. Günümüze kadar bu zararlara karşı çeşitli kimyasal yöntemler denenmiştir. Bu yöntemler insan ve çevre sağlığına olumsuz etkiler yaratmasından dolayı son yıllarda biyolojik mücadele yöntemlerinin üzerinde yoğun bir çalışma başlamıştır. Bu çalışmada, *A. obtectus*, *C. maculatus*, *S. cerealella* ve *P. operculella*'nın bakteriyal floralarının belirlenmesi ve elde edilen bakteri türlerinin bu zararlara karşı biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılması amaçlanmıştır. Bu amaçla Rize ilindeki köylerde depolanan ürünlerden alınan ergin ve larvalar incelenmiş, bu zararlardan bakteriyal floraları ve bu zararlara karşı mikrobiyal mücadele potansiyelleri belirlenmiştir. *A. obtectus* (Say.) ergin ve larvalardan 11, *C. callosobruchus* (F.) ergin ve larvalardan 11, *S. cerealella* (Oliv) larvalardan 6 ve *P. operculella* (Zeller) larvalardan 15 bakteri izole edilmiştir ve bakteri tür tayinleri morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal yöntemler ile yapılmıştır. Moleküler tür tayini için 16S rRNA dizin analizi kullanılmıştır.

2015, 169 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Acanthoscelides obtectus* (Say.), *Callosobruchus maculatus* (F.),
Sitotroga cerealella (Oliv) ve *Phthorimaea operculella* (Zeller),
Bakteriyal Flora Mikrobiyal Mücadele

ABSTRACT

INVESTIGATION of MICROBIAL CONTROL AGENTS AGAINST PESTS for the STORED PRODUCT

Meryem DEMİRCİ

**Recep Tayyip Erdoğan University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology
Master Thesis
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Cemal SANDALLI**

Acanthoscelides obtectus (Say.) (Bean Seed beetle, Coleoptera, Bruchidiae), Callosobruchus maculatus (F.) (cowpea seed insect, Coleoptera: Bruchidae), Sitotroga cerealell (Oliver) (Corn moth, Lepidoptera: Gelechiidae) and Phthorimaea operculella (Zeller) (potato moth, Lepidoptera: Gelechiidae) are stored-product pests and they cause the loss of important products in our country and around the world. To present a variety of chemical methods have been tried against these pests. Because of the adverse effects on human and environmental health of these methods, many studies have been started on biological control methods in recent years. In this work, it is aimed that the determination of the bacterial flora of A. obtectus, C. maculatus, S. cerealell and P. operculella's and to use this findings as biological control agents. For this purpose, adults and larvae were examined from the products stored in the villages of Rize and their bacterial flora were identified to show the potential as microbial control against. It was isolated eleven bacteria from adults of A. obtectus (Say.), eleven bacteria from adults of C. callosobruchus (F.), ten bacteria from adults of S. cerealell (Oliver) and bacteria from adults of P. operculella (Zeller) and their identification were done by morphological, physiological and biochemical methods. Molecular characterizations were done by 16S rRNA sequence analysis.

2015, 169 sayfa

Keywords: Acanthoscelides obtectus (Say.), Callosobruchus maculatus (F.), Sitotroga cerealella (Oliv) ve Phthorimaea operculella (Zeller)

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	II
ÖZET	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ	X
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Depolanmış (Ambar) Ürün Zararlıları	2
1.2.1. Buğday biti (<i>Sitophilus granarius</i>)	3
1.2.2. <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say.) (Coleoptera: Bruchidae) (Fasulye Tohum Böceği).....	4
1.2.3. <i>Callosobruchus maculatus</i> (F.) (Coleoptera: Bruchidae) (Börülce Tohum Böceği).....	6
1.2.4. <i>Sitotroga cerealella</i> (Oliv) (Lepidoptera: Gelechiidae) (Mısır Güvesi)	7
1.2.5. <i>Phthorimaea operculella</i> (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) (Patates güvesi).....	9
1.3. Zararlı Böceklerle Mücadele Yöntemleri	11
1.4. Kimyasal Mücadele	12
1.5. Biyolojik Mücadele.....	13
1.5.1. Entomopatojenler.....	13
1.5.1.1. Entomopatojen Bakteriler	14
1.6. Literatür Özeti	16
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	20
2.1. Kullanılan Besiyerleri	20
2.1.1. Hareket Besiyeri.....	20
2.1.2. Nitrat Besiyeri.....	20
2.1.3. Kligler Agar Besiyeri	20
2.1.4. Jelatinaz Besiyeri	21
2.1.5. Üre Agar Besiyeri	21
2.1.6. İndol Besiyeri.....	21

2.1.7.	Metil Red-Voges Proskauer Besiyeri.....	21
2.1.8.	Sitrat Agar Besiyeri.....	22
2.1.9.	Müller Hinton Besiyeri	22
2.1.10.	Koagulaz Besiyeri.....	22
2.1.11.	Lüria Bertani (LB) Besiyeri	22
2.1.12.	Nütrient Broth Besiyeri.....	22
2.1.13.	Amilaz Besiyeri	23
2.1.14.	Protaz Besiyeri	23
2.1.15.	Selülaz Besiyeri	23
2.1.16.	Lipaz Besiyeri	23
2.2.	Kullanılan Ayıraçlar.....	24
2.2.1.	Nitrat Ayıracı	24
2.2.2.	Kovaks Ayıracı	24
2.2.3.	Metil Red Ayıracı	24
2.2.4.	Voges-Proskauer Ayıracı	24
2.2.5.	Oksidaz Ayıracı	25
2.2.6.	Gram Boyama	25
2.2.7.	Spor Boyama.....	25
2.2.8.	Kongo Kırmızısı.....	26
2.2.9.	1N NaCl	26
2.3.	Böcek Örneklerinin Toplanması	26
2.4.	Depolanmış Ürün Zaralılarının Bakteriyel Floraının Belirlenmesi	26
2.5.	Saf Kültürlerin Hazırlanması ve Stoklanması.....	27
2.6.	Bakteriyel İzolatların Morfolojik Özelliklerin Belirlenmesi	27
2.6.1.	Basit Boyama	27
2.6.2.	Gram Boyama	27
2.6.3.	Endospor Boyama.....	28
2.6.4.	Kapsül Boyama	28
2.6.5.	Hareket Testleri.....	28
2.7.	Bakteriyal İzolatların Fizyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi	29
2.7.1.	Optimum Büyüme Sıcaklıklarının Belirlenmesi.....	29
2.7.2.	NaCl Toleranslarının Belirlenmesi	29
2.7.3.	pH Aralıklarının Belirlenmesi.....	29

2.8.	Bakteriyal İzolatların Biyokimyasal ve Serolojik Özelliklerin Belirlenmesi	29
2.8.1.	İndol Testi	30
2.8.2.	Metil Kırmızısı ve Voges-Proskauer Testleri (MRVP)	30
2.8.3.	Sitrat Testleri.....	30
2.8.4.	Kligler Iron Agar (KIA) Testi.....	31
2.8.5.	Üre Hidroliz Testi	31
2.8.6.	Nitrati İndirgeme Testleri	31
2.8.7.	Katalaz Testi	31
2.8.8.	Oksidaz Testi	32
2.8.9.	Jelatin Hidroliz Testi.....	32
2.8.10.	Koagülaz Testi	32
2.9.	Bakteriyel İzolatların Ekstrasellüler Enzim Üretimlerinin Belirlenmesi....	32
2.9.1.	Selülez Üretiminin Belirlenmesi	33
2.9.2.	Proteaz Üretiminin Belirlenmesi.....	33
2.9.3.	Amilaz Üretiminin Belirlenmesi.....	33
2.9.4.	Lipaz Üretiminin Belirlenmesi	33
2.9.5.	Kitinaz Testi	34
2.10.	İzolatların Moleküler Karakterizasyonları	34
2.10.1.	Genomik DNA İzolasyonu	34
2.10.2.	16S rRNA Gen Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması	35
2.10.3.	Veri Analizi.....	36
2.11.	Bakteri izolatlarının Antibiyotik Direnç Prefillerinin Belirlenmesi	36
3.	BULGULAR	38
3.1.	Bakteriyal İzolatların Kantitatif Analizi ve Seçilmesi	38
3.2.	Bakteriyel İzolatların Morfolojik Özellikleri.....	38
3.3.	Bakteriyal İzolatların Fizyolojik Özellikleri.....	40
3.4.	Bakteriyal İzolatların Biyokimyasal Özellikleri	44
3.5.	Bakteriyel İzolatların Ekstrasellüler Enzim İçeriklerinin Belirlenmesi.....	46
3.6.	Bakteriyel İzolatların Antibiyotik Direnç Profili	48
3.7.	İzolatların Moleküler Özelliklerinin Belirlenmesi	52
4.	TARTIŞMA ve SONUÇLAR	63
5.	ÖNERİLER	69

KAYNAKLAR	70
EKLER	78
ÖZGEÇMİŞ	121

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Buğday biti (<i>Sitophilus granarius</i>)	3
Şekil 2.	Fasulye tohum böceği <i>Acanthoscelides obtectus</i> 'nin yaşam döngüsü.....	5
Şekil 3.	<i>Callosobruchus maculatus</i> ve zarar şekli	7
Şekil 4.	Sitotroga cerealella'nın ergin (A) ve pupa (B) hali	9
Şekil 5.	Phthorimeaea operculella (Patates güvesi)	11
Şekil 6.	<i>Acanthoscelides obtectus</i> (Fasulye tohum böceği) ergin ve larvalarından izole edilen bakteriyal izolatların 16S rRNA gen fragmentlerinin agaroz jelde görünümü	52
Şekil 7.	<i>Callosobruchus maculatus</i> (Börülceasulye tohum böceği) ergin ve larvalarından izole edilen bakteriyal izolatların 16S rRNA gen fragmentlerinin agaroz jelde görünümü	53
Şekil 8.	<i>Sitotroga cereallella</i> (Mısır güvesi) larvalarından izole edilen bakteriyal izolatların 16S rRNA gen fragmentlerinin agaroz jelde görünümü	53
Şekil 9.	<i>Phthomerimae operculella</i> (Patates güvesi) larvalarından izole edilen bakteriyal izolatların 16S rRNA gen fragmentlerinin agaroz jelde görünümü	54
Şekil 10.	Bakteriyel izolatların filogenetik analizi.....	60

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1.	Depo zararlılarından izole edilen bakteriyel izolatların morfolojik özellikleri	39
Tablo 2.	Depo zararlılarından izole edilen bakteriyel izolatların fizyolojik özellikleri	42
Tablo 3.	Depo zararlılarından izole edilen bakteriyel izolatların biyokimyasal özellikleri	45
Tablo 4.	Bakteriyel izolatların ekstrasellüler enzim içerikleri	47
Tablo 5.	Bakteriyel izolatların antibiyotik direnç profilleri	50
Tablo 6.	Bakteriyel izolatların 16S rRNA gen benzerlikleri.....	54
Tablo 7.	Bakteriyel izolatların tür tayini ve GenBank kabul numaraları sonuçları ..	62

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrat Derece
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
ANOVA	Varyans Analizi (analysis of variance)
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
Bp	Baz çifti
Cfu	Koloni oluşturabilen birim
CMC	Karboksi metil selüloz
Da	Dekar (1000 metrekare)
dH ₂ O	Distile Su
DNA	Deoksiribonukleik Asit
EC	Suda homojen dağılan sıvı formülasyonlar
EDTA	Etilen diaminotetraasetik asit
EtOH	Etil Alkol
G	Gram, Dünyanın yerçekimi ivmesi
Kg	Kilogram
LB	Luria Bertani
LSD	En küçük önemli fark (Least Significant Difference)
M	Molar
MEGA	Molecular Evolutionary Genetics Analysis
Ml	Mililitre
mM	Milimolar
MK	Metil Kırmızısı
NB	Nütrient Agar
NCBI	Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Enformasyon Merkezi
NCCLS	The National Committee for Clinical Laboratory
Ng	Nanogram
NJ	Neighbor-Joining
PDA	Patates dekstroz agar
PDAY	Patates dekstroz agar + maya ekstraktı
pH	Hidrojen iyon konsantrasyonu

PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	Ribonükleik asit
Rpm	Dakikadaki devir sayısı (Revolutions per minute)
rRNA	Ribozomal ribonükleik asit
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
TAE	Tris-Asetat-EDTA
TE	Tris-EDTA (10 mM:1mM)
U	Ünite
UV	Ultra Viyole
V	Volt
VP	Voges- Proskauer

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Dünya nüfusundaki hızlı artışa bağlı olarak artan besin ihtiyacının yanı sıra yaşam standartları yükselmekte ve sağlıklı yaşam isteği de artmaktadır. Bu bağlamda, bir yandan insan ve çevre sağlığı açısından gıdalarda pestisit kalıntıları istenmezken; diğer yandan hasat edilen ürünü böceklerden korumak ve bulaşıklılığı önleyebilmek için yoğun pestisit kullanımı ikilem yaratmaktadır (Tütüncü, 2006).

Ülkemiz geniş tarım alanları ve uygun iklim koşulları nedeniyle çok sayıda değişik ürünün büyük kapsamda yetiştirilmesine imkan veren koşullara sahip bulunmaktadır. Özellikle nem içeriği düşük ürünler depolanabilmekte ve tüm yıl boyunca piyasaya sunularak tüketim yıl boyunca karşılanabilmektedir. Türkiye, toplam tahlil ve baklagil üretimi ve tüketimi bakımından dünyanın önde gelen ülkelerindendir (Ferizli ve Emekci, 2013).

Depolanmış ürün zararlıları ürünün depolanması sürecinde kantite ve/veya kalite üzerindeki olumsuz etkileri ile özellikle gelişmekte olan ülkelerde milyonlarca insanda yetersiz beslenme ve açlığa neden olmaktadır (Donahaye, 2000). Hasattan veya üretimden tüketime kadar ürünlerin en az düzeyde kayıpla korunması büyük önem taşıyan bir zorunluluktur. Genellikle depolanmış ürünlerde hayvansal kökenli organizmaların neden olduğu kayıplar yıllık ortalama %10 olarak kabul edilmektedir. Bu zarar oranı bulaşma düzeyine göre daha da artabilmektedir. Ülkemiz iklim özellikleri ve üretim çeşitliliği nedeniyle çok sayıda depolanmış ürün zararlısının gelişmesine olanak vermektedir (Donahaye and Messer, 1992).

Depolanmış ürünlerde görülen zararlılar bulaştıkları ürünü beslenerek doğrudan ve dolaylı şekilde zarar verebilmektedir. Bulaşmış oldukları ürünü beslenmeleri sonucu, ürünü ağırlık kayıplarına, tohumluk özelliğinin düşmesine, kalite ve besin değerlerinde olumsuz değişimlere yol açarak ticari değerinin düşmesine neden olmaktadır (Boxall, 2001). Diğer taraftan; zararlıların vücut kalıntıları, pislikleri ve salgılamlı oldukları ağ ve benzeri maddeler nedeniyle de ürünün kalite özelliklerinde

önemli ölçüde düşüşlere neden olmaktadır. Depolanmış ürünlerde zararlı bulaşıklılığı yoğun ise küflenme, kızışma ve kokuşmanın daha kolay ve yoğun olarak ortaya çıkışına neden olurlar. Bütün bunlara ek olarak zararlilarla bulaşık ürünlerin tüketilmesi, insan sağlığı yönünden de bazı sakıncalar oluşturmaktadır (Ferizli ve Emekci, 2013).

Bu çalışmada depolanmış ürün zararlardan *Acanthoscelides obtectus* (Say.) (Coleoptra: Bruchidae) (Fasulye Tohum Böceği), *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) (Börülce Tohum Böceği), *Sitotroga cerealella* (Oliv) (Lepidoptera: Gelechiidae) (Mısır Güvesi) ve *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) (Patates güvesi)'ya karşı daha etkin ve güvenli mikrobiyal mücadele etmenlerinin bulunması açısından zararlının bakteriyal floraları belirlenmiştir.

Elde edilen bakteriyal izolatlar çeşitli morfolojik, biyokimyasal, fizyolojik ve moleküler metodlar kullanılarak tanımlanmıştır.

1.2. Depolanmış (Ambar) Ürün Zararlari

Ülkemiz geniş tarım alanları ve uygun iklim koşulları nedeniyle çok sayıda değişik ürünün büyük kapsamda yetiştirmesine imkan veren koşullara sahip bulunmaktadır. Özellikle nem içeriği düşük ürünler depolanabilmekte ve tüm yıl boyunca piyasaya sunularak tüketim yıl boyunca karşılanabilmektedir (URL-1).

Kuru olarak depolanan ve insan beslenmesinde önemli bir yer tutan bitki kaynaklı ürünlere adapte olmuş bulunan ambar böcekleri, böcekler alemi içinde önemli bir yer tutarlar. Ambar böcekleri iklim ve ekolojik koşulların kendileri için elverişli olduğu her yere yayılmışlardır. Ambarlanan ürünlerde zararlı olan birçok böcek türünün tropik ya da yarı tropik kaynaklı olduğu ve dünyanın diğer kesimlerine ticaret yoluyla yayıldığı bilinmektedir. Normal koşullarda oldukça büyük ekonomik kayıplara sebep olan ambar böcekleri kimi zaman ekolojik koşulların optimal düzeye ulaşması nedeniyle popülasyon yoğunlıklarını artırmaktadır ve salgınlar yapabilmektedirler. Bu salgınlar ekonomik kayıpların büyük boyutlara ulaşmasına yol açmaktadır. Ambar böcekleri üzerinde nitelik ve nicelik yönünden kayıplara neden olurlar. Buna ek olarak ambar

böcekleri ile bulaşık gıda maddelerinin insanlar tarafından tüketilmesinin sağlık yönünden sakıncalar taşıdığı saptanmıştır. Bu tür maddelerin yenmesi ile diare, solunum yolları alerjisi, kaşıntı, astım, iştahsızlık, gelişme gecikmesi gibi belirtiler ve bakteriyel enfeksiyonlar ortaya çıkmaktadır (URL-2).

1.2.1. Buğday Biti (*Sitophilus granarius*)

Depolanmış hububatların en önemli zararlarından birisidir. Ülkemizde hemen her bölgede mevcut olup yer yer önemli zararlara sebep olmaktadır. Ergin, parlak koyu kahve veya esmer renkli 3-5 mm boydadır. Baş, ucunda bir çift kuvvetli mandibula bulunan bir hortumla son bulur. Alt kanatlar körelmiş olduğundan uçamazlar. Pronotum ve elitralanın üzerleri noktalıdır. Yumurtalar beyaz renklidir. Larvalar krem renkli 2.5-3 mm boyda ve bacaksızdır. Pupa sarımsı beyaz renkli ve 4 mm boydadır. Pupanın hortum, baş ve bacakları belirgindir. Erginler bir hafta içinde çiftleşerek yumurta bırakmaya başlar. Ergin dişi, yumurtalarını buğday tanesinin embriyoya yakın kısımlarına hortumu ile açtığı deliklere bırakır. Bu delik jelimsi bir ağız salgısı ile kapatılır. Yumurta sayısı 150 300 arasında değişir. Yumurta, larva ve pupa dönemi tane içinde geçer. Elverişli koşullarda gelişme süresi 30-45 gündür. Ülkemiz koşullarında 3-4 döl verir (URL-3) (Şekil 1).



Şekil 1. Buğday biti (*Sitophilus granarius*)

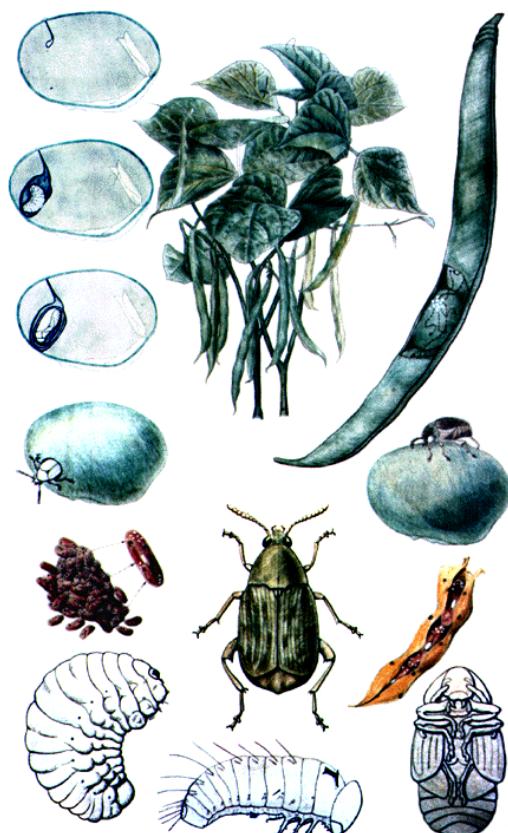
1.2.2. *Acanthoscelides obtectus* (Say.) (Coleoptra: Bruchidae) (Fasulye Tohum Böceği)

Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) dünya verilerine göre en fazla ekim alanına ve üretime sahip, yararlanma ve kullanma bakımından özellikle proteince zengin bir yemeklik tane baklagil bitkisidir (Sağlam vd., 2005). Bu yönden kuru fasulye A, B, D vitaminleri, fosfor, demir, kalsiyum ve potasyumca zengin olmanın yanı sıra, % 17-35 arasında yüksek protein içeriğine sahip olmasıyla dünyada giderek artan beslenme sorununda başta protein olmak üzere, karbohidrat, vitamin ve mineraller ihtiyacının karşılanmasında önemli bir alternatif oluşturmaktadır da (Evans ve Gridley, 1979; Şehirali, 1988). Fasulye, yemeklik tane baklagiller arasında ekim alanı ve üretim bakımından dünyada ilk sırayı almaktadır (Gülümser ve Peşken, 2005). Ülkemiz kuru fasulye üretimi ve ihracatı bakımından dünyada önemli ülkeler arasında yer almamaktadır. Ülkemizde kuru fasulye, ekim alanı ve üretim yönünden nohut ve mercimekten sonra üçüncü sırada yer almaktadır (URL-4).

Fasulye tohum böcekleri Türkiye ve dünyada fasulye ekimi yapılan tüm bölgelerde yaygın olarak bulunmakta ve ciddi şekilde ürün kalitesi ve verim kaybına neden olmaktadır. Verim ve kalitede meydana gelen zarar, zaman zaman %100'e kadar ulaşabilmektedir. Fasulye tohum böcekleri çok döl vererek devamlı üremelerini sürdürmektedirler. Bu şekilde sürekli bir zarar söz konusu olmakta ve delinmiş, içinin büyük kısmı yenilmiş, besin değeri tamamen kaybolmuş fasulye taneleri hayvan yemi ve gübre olarak dahi kullanılamaz hale gelmekte, aynı zamanda iç ve dış piyasada tanelerin pazar değeri de düşmektedir. Baklagil tohum böcekleri ülkemizde ve dünyada baklagil ekimi yapılan tüm bölgelerde yaygın olarak bulunmaktadır (Özer ve Yücel 1989; Abate ve Ampofo, 1996; Anonim, 2007a; Sağlam, 2009).

Dünyada geniş bir yayılış alanına sahip olan bu tür yurdumuzda hemen her tarafta bulunmaktadır. Fasulye tohum böceği ergininin vücutu uzunca oval, biraz yassi, açık veya koyu kahverenklidir. Vücutun üzeri arkaya yatık sarı yeşil çok kısa kıllarla örtülü olup aralarında açık gri tüylerle kaplı uzunca lekeler bulunmaktadır. Vücutun alt tarafı kırmızımsı sarı renklidir. Vücut büyülüğu erkeklerde 3.1 - 4.2 mm, dişilerde 3.8 - 4.8 mm arasında değişmektedir. Antenleri 11 halkalı olup, ilk 4 halka ve son halkası açık

kahverengi diğerleri koyu kahverengidirler. Üç çift olan bacakları kırmızımsı kahverengindedir. Fasulye tohum böceği erkeğinin boyca küçük oluşu ve alttan son karın halkasına ait çizginin içe doğru yuvarlaşmış olması nedeniyle dışisinden ayrılır. Dişi boyca daha iri, son karın halkasının çizgisi düzdür. Fasulye tohum böceği yumurtası uzun ve ovaldır. Bir ucu sıvrice diğer ucu yuvarlaktır. İlk konduğu zaman saydam parlak beyaz renklidir. Zamanla renk donuklaşır, süt beyazı olur. Açılıma yakın yumurtanın yuvarlak ucunda larvanın kafası belirginleşir. Yumurtanın boyu 0.63 - 0.77 mm arasında değişmektedir. Yumurtadan ilk çıktıgı zaman larvanın gövdesi silindirimsi uzun olup, arkaya doğru gittikçe incelir, uzun kıllarla kaplıdır. Baş esmerimsi, vücut beyaz renklidir. Üç çift ince uzun göğüs bacağı vardır. Vücut uzunluğu 0.6 - 0.8 mm'dir. Yumurtadan çıkan larva bir süre tanenin üzerinde dolaştıktan sonra, tane kabuğunu oyarak bir galeri (tunnel) açar ve orada beslenir. Bu sırada larvanın gövdesi silindirik olup yay gibi kıvrıklaşır, ayaklar kaybolmuştur. Bu haliyle larva 1. Dönem larvadan çok farklıdır. Son dönem larvanın vücut uzunluğu 3-3.5 mm'dir (URL-5) (Şekil 2).



Şekil 2. Fasulye tohum böceği *Acanthoscelides obtectus*'nin yaşam döngüsü.

1.2.3. *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) (Börülce Tohum Böceği)

Börülce (*Vigna unguiculata* L.) baklagil familyasına ait önemli bir bitkidir. Börülcenin taze baklalarında %2-4,3, taze tanelerinde ise %4,5-5 protein bulunduğu halde, kuru olgunluktaki börülce tanelerinin protein kapsamı çeşit ve çevre koşullarına bağlı olarak %20,4-34,6 arasında değişiklik göstermektedir Ayrıca, börülce tanelerinin bileşimlerinde; %1,9 oranında yağ, %6,3 lif, %63,6 karbonhidrat, %0,00074 Tiamin, %0,00042 Riboflavin ve %0,00281 Niasin bulunmaktadır. Börülce tohumlarındaki protein, hayvansal proteinlere göre methionine ve sistine yönünden yetersiz olmasına rağmen, tahıl tohumlarına göre, aminoasit, lisin ve triptofan yönünden zengindir (Davis vd. 1991). Ayrıca, börülce taneleri karotin, vitamin B ve C bakımından da oldukça zengindir. Önemli bir bitkisel protein kaynağı olan börülce, genellikle taze sebze ve kuru tane olarak tüketilirken, Afrika ülkelerinde kahve ve çorba yapımı ile un sanayiinde geniş ölçüde kullanılmaktadır (Azkan, 1994).

Börülce tohum böceği, börülce, nohut ve bezelyede zarar yapmaktadır. Zararı, *A. obtectus*' ta olduğu gibidir. Ülkemizde konukçularının olduğu tüm bölgelerde bulunmakta ve depolarda bazen önemli zararlara sebep olmaktadır (URL-6).

Börülce tohum böceğinin, uçan ve uçmayan olmak üzere iki formu mevcuttur. Uçucu formda erginin şekli oval ve üzeri kırmızı kahve, parlak sarı ve beyaz kıllarla kaplı, ilk dört anten segmenti kırmızı, diğerleri siyah renkte, erkekte yedinci segment genişlemiş, kanat dikdörtgen şeklinde, her iki kanadın üst kısmında küçük fazla belirgin olmayan, ortada yan kenarlara doğru genişleyen oldukça büyük ve üç kısmında olmak üzere siyaha yakın koyu üç leke mevcut, bacaklar kırmızı kahve renkte, erkekler ortalama 2,7 mm dişiler ise 2,9 mm boyundadır. Uçucu olmayan formun dışısında vücut rengi hemen hemen siyah, ancak üzeri sarı ve beyaz kıllarla kaplı olduğu için gri gibi görülmekte, kanadın ortasındaki siyah leke uzamış, üç kısmında beyaz enine bir bant mevcut, pygidum büyük, üzerinde uzunluğuna beyaz bir bant bulunmakta, erkekte ise bu farklılık daha azdır, erkekler ortalama 2,4 mm dişiler ise 3,2 mm boyundadır (Şekil 3). Yumurta yuvarlağa yakın, bir ucu sivri, kremsi beyaz renkte, 0,26-0,32 mm boyundadır. Yeni çıkan larva uzun bacaklara ve thorax plakasına sahip, beslendikten birkaç gün

sonra gömlek değiştirir, bacak ve tüyleri kaybolmaktadır. Erginler yumurtalarını tarlada olgun kapsüllere, depoda kuru tohumlara bırakır, yumurtaların açılmasıyla çıkan larva, kapsül kabuğunu delerek tohumya girmektedir. Tohumya giren larvanın gelişimi körpe tohumların olgunlaşmasına paralel olarak tamamlamakta, tohumla beslenen larva, olgun dönemde pupa olmadan önce tohum kabuğuna doğru ilerleyerek kabukta daire şeklinde şeffaf görünümdeki kapak arkasında pupa olmaktadır. Meydana gelen ergin bu kapağı iterek tohumu terk etmektedir. Çıkan erginler tekrar yumurta koymaktadır. Bundan dolayı da yeni nesillerin devamlı çoğalmaları ile çok kez bulaşık bir tohumda, eşitli devrelerde olan larva, pupa ve çıkmaya hazırlanan erginleri görmek mümkündür. Larvaların gelişebilmeleri, tohum içindeki su miktarı, depo sıcaklığı ve orantılı neme bağlıdır. Yılda, Marmara Bölgesinde 6, Karadeniz ve Ege’ de 3-5, Güneydoğu Anadolu’da 3-4 döl vermektedir (URL-6).



Şekil 3. *Callosobruchus maculatus* ve zarar şekli.

1.2.4. *Sitotroga cerealella* (Oliv) (Lepidoptera: Gelechiidae) (Mısır Güvesi)

Mısır, içeridiği değerli besin maddeleri nedeniyle insan ve hayvan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Dünyada insan beslenmesinde tüketilen günlük kalorinin %11’i mısırından sağlanmakta olup, bu oran gelişmiş ülkelerde %27’ye kadar çıkabilmektedir (URL-7). Mısır tanelerinde % 67 nişasta, % 10 azotlu maddeler ve % 8 yağ bulunmaktadır. Mısır tanelerinden elde edilen yağ, yemeklik yağ olarak veya kozmetik sanayiinde hammadde olarak kullanılır. Mısır yağı, doymuş yağ asidi miktarının düşük olması sebebiyle damar sertliği olan hastalara

yemek yağı olarak tavsiye edilir. Mısır sapları da hayvan yemi olarak, kuru veya taze halde kullanılmaktadır. Mısır püskülü ise tedavide kullanılabilmektedir. Püskülü bileşiminde karbonhidratlar, potasyum, sodyum ve kalsiyum tuzları vardır. İdrar söktürücü ve taş düşürücü olarak kullanılırlar (URL-8).

Mısır'ın gen merkezi Güney Amerika kıtası olarak bilinmektedir. Çok değişik kullanma alanlarına sahip olan mısır, insan ve hayvan beslemesine sağladığı katkılar, ekim nöbeti içinde yer alarak üreticiye sağlayacağı ekonomik kazanç ve sanayi sektörüne sağladığı hammadde nedeniyle, gerek dünyada ve gerekse ülkemizde vazgeçilemez ve stratejik bir bitki olma özelliğindedir (URL- 7).

Ülkemizde mısır tahıllar içerisinde buğday ve arpadan sonra en çok yetiştirilen bitkidir. Ülkemizde mısır gerek hayvan beslenmesinde ve gerekse de insan beslenmesinde önemli rol oynamaktadır. Ülkemizin hemen hemen her bölgesinde mısır yetiştirmekle beraber Akdeniz ve Marmara bölgesi en çok üretim yapılan bölgelerimizdir. Mısır üretimi özellikle ülkemizde sulanır alanların artmasına bağlı olarak son yıllarda önemli artışlar göstermiştir. Sulu tarım alanlarında özellikle ikinci ürün mısır tarımının yapılması süt ve besi hayvani yetiştiricileri için kaliteli, bol ve ucuz yem kaynağı sağlamaktadır (URL-9).

Mısır güvesi ergini sarımsı veya sarımsı esmer, dişi 5-7 mm, erkek ise 4-5 mm boyunda, antenler vücuttan daha uzun, kanat açıklığı 12-14 mm, vücut uzun tüylerle kaplı, ön kanatların apikal kısmına doğru küçük siyah noktalar bulunur, arka kanatların kaidesinden kanat ortasına doğru uzanan beyaz bir şerit bulunmakta, kanatlar uca doğru sıvırılmıştır, kanat kenarları uzun tüylerle kaplıdır. Yumurta önce grimsi beyaz, daha sonra kırmızımsı renk almaktadır. Larva beyaz veya pembemsi renkte, vücut killı, olgunlaşlığında 4-5 mm boyundadır. Pupa parlak saman sarısı renkte 4-5 mm boyundadır (URL-10) (Şekil 4).

Mısır güvesi, arpa, buğday, mısır, sorgum ve diğer hububat çeşitlerinde zarar yapmasına rağmen en çok arpayı tercih etmektedir. Bu türde, larva gelişmesini tek bir tahıl tanesinin içerisinde tamamladığı için erginler görülünceye kadar zararın varlığı pek fark edilemez. Pupadan çıkan erginler tane kabuğunu delerek dışarı çıkar ve 1 mm

çapında tipik bir delik bırakırlar. Bu tür tahılların primer zararlısı olup larva tarafından zarar gören tohumda %10' dan fazla ağırlık kaybı olmaktadır. Hem depoda, hem de tarlada zararlıdır. Zarar hasat öncesinde ve hemen hasattan sonra en fazladır. Ayrıca, depolarda yiğinların üst tarafında zarar daha fazladır (URL-10).



Şekil 4. *Sitotroga cerealella*'nın ergin (A) ve pupa (B) hali.

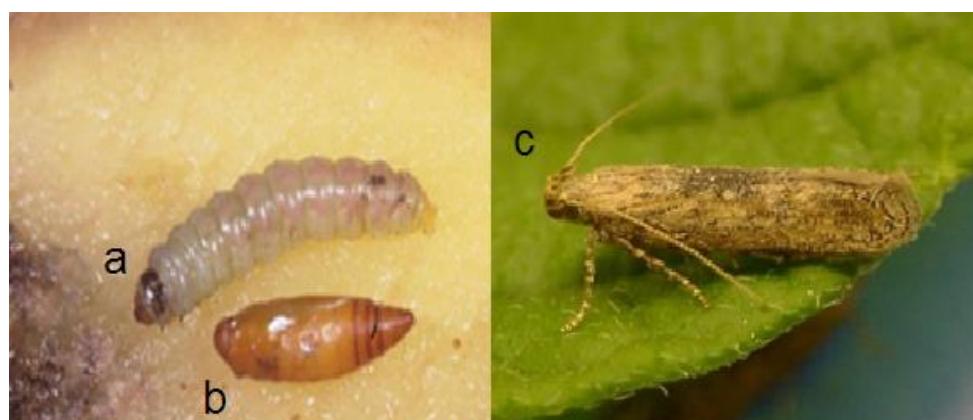
1.2.5. *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) (Patates güvesi)

Patates, bitkisel kaynaklı beslenmede tahıllardan sonra en fazla tüketilen besin maddesidir. Ucuzluğu, birim alandan fazla verim alınması, besin değerinin yüksek oluşu, sindiriminin kolaylığı, kullanım alanının geniş olması ve her çeşit iklimde yetişmesi açısından, hemen hemen bütün dünya ülkeleri tarafından üretilmekte ve tüketilmektedir. Düşük oranda protein ve yüksek oranda nişasta içeren patates, yemeklik ve sanayilik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Sanayilik patateslerin renkleri beyaz yani nişastası yüksek, yemeklik patateslerin rengi ise sarı ve protein oranı yüksektir. Patates nişasta ve ispirto endüstrisinin önemli hammaddesidir (Elçi vd., 1994).

Türkiye'de yetiştirilmekte olan en önemli nişasta bitkisi patatestir. Patates, yumrularından yararlanılan bir kültür bitkisi olup, karbonhidrat kaynaklı gıda maddeleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Patates yumrusunun kimyasal bileşiminde %70-80 su, %11-22 nişasta, %1-2,5 protein bulunmaktadır (Er ve Uranbey, 1988). Patates birinci dereceden nişasta kaynağımasına rağmen, besleme değeri itibarıyle yumurtadan sonra en kaliteli ve kullanılabilir proteine sahiptir. Üretimi yapılan patatesin %54'ü doğrudan insan gıdası olarak, %19'u hayvan yemi olarak, %12'si tohumluk olarak, %8'i sanayi ham maddesi olarak ve %8'i ise farklı şekillerde kullanılmaktadır (Arslan vd., 2000).

Patates güvesi konukçu bitkilerin gövde, yaprak, sürgün ve yumruları üzerinde zarar yapmaktadır. Patlıcan, patates ve tütün yapraklarında bulunduğuanda yaprağın iki epidermisi arasında beslenerek yapraklarda kahverengi lekeler meydana getirmektedir.. Patateste, yaprakta başlayan zararın gövdeye doğru ilerlemesi ile genç sürgünleri kurur. Ayrıca patates yumruları üzerinde beslenen larvalar kabuk altında galeri açmak suretiyle yumruyu delik deşik ederler. Ayrıca bu patatesler bakteri ve fungus bulaşmalarını daha çabuk alarak çürürler. Tarlada yumruya bulan zararlı ambarda uygun şartları bulunca, yıl boyunca yaşayışına devam ederek, birçok döl verir. Yoğunluk arttıkça zarar % 100'e kadar yükselir. Patates güvesi Türkiye'de iç karantina zararlıları listesine dahil olup özellikle Ege, Marmara, Karadeniz ve Güney Anadolu bölgelerinde bulunmaktadır (URL-11).

Erginin kanat açıklığı 13-17 mm'dir. Kanatlan çok dar, vücut ince uzun olup 9-10 mm kadardır. Antenler vücuttan daha uzundur. Ön kanatlar grimsi kahve renkli üzeri koyu kahve renkli irili ufaklı noktalıdır. Alt kanatları da ince uzun olup gri renkli ve kenarlarında saçak bulunur. Yumurta, 0,5 mm uzunluğunda oval, parlak krem rengindedir. Larvanın rengi beslendiği bitkiye göre değişir. Patates yumrularıyla beslenenlerde vücut pembemsi beyaz, yapraklarıyla beslenenlerde yeşil, patlıcan yapraklarını yiyenlerde ise daha koyudur. Baş, koyu kahverengidir. Olgun larva 10-12 mm uzunluğundadır. Pupası ince dokulu beyaz bir kokon içinde teşekkül eder. Önceleri yeşilimsi gri, sonra kahverengi olur. Boy 6-7 mm' dir (URL-11) (Şekil 5).



Şekil 5. *Phthorimaea operculella* (Patates güvesi). a: olgun larva, b: pupa, c: ergin

1.3. Zararlı Böceklerle Mücadele Yöntemleri

Zararlı böcekler ile mücadele, kitle üremesi yapan veya yapma yeteneğinde olan böcek popülasyonlarının sayısının artmasını engellemek için gerçekleştirilen mücadele olarak bilinir. Tarımda ve ormancılıkta uygulanan çeşitli zirai mücadele yöntemleri vardır (Demirbağ vd., 2008).

İlk olarak insanın herhangi bir yardımı olmadan doğal kuvvetlerle böcek popülasyonlarının kontrol altında tutulması doğal mücadeledir. İkinci mücadele yöntemi yasal mücadeledir. Yasal yollardan yararlanılarak, zararlıların yayılmalarını önlemektir. Karantina, ambargo, muayene veya sertifika uygulamak bu mücadele yöntemlerinin başında gelmektedir. Böcekleri çeşitli yöntemlerle toplamak, pusuya düşürmek, yem tuzakları kurmak, feromonlar kullanmak, tuzak odunları hazırlamak veya gıda değişimi yapmak suretiyle gerçekleştirilen mekanik mücadele üçüncü sırada yer alır. Dördüncü sırada kültürel mücadele yöntemi vardır. Toprak bakımı, işlenmesi ve gübrelenmesi, yabancı ot ve atıkların temizlenmesi ve bitki nöbetleşmesi gibi toprakla ilgili yapılması gereken işleri kapsar. Sıcak ve nemden yararlanılarak böceklerin öldürülmesi, elektrik veya radyoaktivite kullanarak böceklerin kısırlaştırılması işlemlerini içeren fiziksel mücadele yöntemi beşinci sıradadır (Demirbağ vd., 2008). Altıncı sırada biyoteknolojik mücadele yöntemi vardır. Zararlıların biyoloji, fizyoloji ve davranışları üzerine etkili olan yapay ve doğal maddeler kullanılarak zararlının normal özelliklerini bozmak suretiyle uygulanan mücadele yöntemine, biyoteknik mücadele denir. Bu mücadele yönteminde bazı doğal ve sentetik bileşiklerden yararlanılır (Anonim, 2007a). Yedinci sırada olan entegre mücadele, bitkilere zarar veren hastalıklar (funguslar, bakteriler, virüsler), zararlılar (böcekler, akarlar) ve yabancı otların çevre ile ilişkilerini dikkate alarak tüm mücadele yöntemlerinin (kültürel, fiziksel, biyolojik, biyoteknik, kimyasal) uyumlu bir şekilde kullanılmasıdır (Hepdurgun vd., 2005). Sekinci ve dokuzuncu sırada ise kimyasal ve biyolojik mücadele yöntemleri vardır.

1.4. Kimyasal Mücadele

Çeşitli kimyasal maddelerin toz veya sulu halde kullanılması ile yapılan mücadeledir. Ülkemizde çok yaygınmasına rağmen, çevreye verdiği olumsuz

etkilerden dolayı günümüzde gelişmiş ülkelerde yavaş yavaş bu yöntemden vazgeçilmektedir (Demirbağ vd., 2008).

Kimyasal mücadelede yararlanılan kimyasal bileşiklere pestisit denir. Diğer bir deyişle pestisitler, bitkilere zarar veren hastalık etmenlerini, zararlıları ve yabancı otları öldüren kimyasal bileşiklerdir. Bir pestisitin saf olarak zararlı, hastalık etmenleri ve yabancı otlara karşı kullanılmaları uygun değildir. Saf olarak kullanıldıklarında bitkilere, çevreye daha fazla zararlı olur ve kullanılmaları daha güç olur (Anonim, 2007a; Çelebi, 2012).

Pestisitler değişik özelliklerine göre sınıflandırılabilir. Etkiledikleri canlı grubuna göre pestisitleri şöyle sınıflandırırız: İnsektisitler, böcekleri öldüren ilaçlardır. Fungusitler, fungusları öldüren ilaçlardır. Bakterisitler, bakterileri öldüren ilaçlardır. Herbisitler, otları öldüren ilaçlardır. Nematisitler, nemotodları öldüren ilaçlardır. Akarisitler, akarları öldüren ilaçlardır. Mollusitler, yumuşakçaları (salyangozları) öldüren ilaçlardır. Rodentisitler, kemirgenleri öldüren ilaçlardır. Avisitler, kuşları öldüren ilaçlardır (Anonim, 2007a; Çelebi, 2012).

Kimyasal mücadele yöntemi ülkemizce yaygın olarak kullanılmakla beraber, birçok dezavantajları vardır. Gelişigüzel olarak kullanılan ilaçlar, canlılar arasında var olan doğal dengeyi bozar. İnsan ve sıcakkanlılarda doğrudan veya dolaylı olarak zehirlenmelere yol açar. Toprak, su ve hava gibi çevre unsurlarında kirlenmeye neden olur. Hastalık ve zararlıların zamanla ilaçlara karşı direnç kazanmalarına neden olur. Ürünlerde kalıntı bırakır. İlaç fiyatlarının pahalı olması nedeniyle, gereksiz yapılan bazı ilaçlamalar ürünün maliyetini artırır. Doğal düşmanlara (faydalı organizmalara) olumsuz etkileri nedeniyle, zararlı popülasyonlarının artmasına neden olur (Çelebi, 2012).

1.5. Biyolojik Mücadele

Biyolojik mücadele, zararlı böcek popülasyonlarını dolayısıyla böceklerin zararlarını azaltmak için canlı organizmalardan (mikroorganizmalar, predatörler, parazitoid böcekler, omurgasızlar, omurgalılar, feromonlar, böcek büyümeye

düzenleyicileri, bitkisel maddeler ve genetik kontroller) faydalalarak yapılan ekonomik, güvenilir ve başarılı bir mücadele yöntemidir (Demirbağ vd., 2008).

Doğada doğal olarak bulunan canlı gruplarının hemen her birinde doğal düşman niteliğinde türler olup, bunlar aşağıdaki şekilde sıralanabilir; böcekler, balıklar, akarlar, kuşlar, bakteriler, memeliler, funguslar, salyangozlar ve sümüklü böcekler, virüsler, protozoalar ve nematodlar. Bunların tümü biyolojik mücadelede doğal dengenin korunması açısından vazgeçilmez bir öneme sahiptirler (Uygun, 2002).

Günümüzde zararlı böceklerin zararlarını doğal ekosistemi fazla değiştirmeksiz en aza indirmek amacıyla çeşitli organizma veya bu organizmalara ait ürünler biyolojik mücadele amacıyla kullanılmaktadır. Bunlar parazitoid, predatör, feromon ve diğer semikimyasallar, bitkisel insektisitler, böcek büyümeye düzenleyicileri ve mikroorganizmalardır. Ayrıca, son zamanlarda gelişen moleküler tekniklerin kullanıldığı genetik mühendisliği yöntemleri sayesinde daha özel çeşitli biyolojik mücadele ürünleri geliştirilmiş, hatta zararlı böceklerle karşı savunma özelliğinde olan transgenik bitkiler oluşturulmuştur (Demirbağ vd., 2008).

1.5.1. Entomopatojenler

Biyolojik mücadele, bir zararlı organizmanın popülasyon yoğunluğunu veya etkisini olabileceğinden daha aza indirmek ve daha zararsız hale getirmek için başka organizmaların kullanılmasıdır (Eilenberg vd., 2001; Tanyeli Esmer, 2011).

Mikrobiyal mücadele ise biyolojik mücadele etmenleri olarak bakteri, fungus, protozoa, virüs ve nematod gibi mikroorganizmaların kullanılmasıdır (Eilenberg vd., 2001; Lacey ve Goettel., 1995; Demirbağ vd., 2008; Tanyeli Esmer, 2011). Entomopatojen olarak adlandırılan bu mikrobiyal mücadele etmenleri zararlı böceklerde hastalık oluşturarak böcek popülasyonlarının dengede tutulmasını ve zararlarının minimuma indirilmesini sağlarlar. Bu entomopatojenlerin büyük çoğunluğu konağa özel olduğu için yalnızca mücadele yapılmak istenilen organizma üzerinde etkindir. Bu özellikle, faydalı ve predatör böcekler, hayvanlar ve insanlar gibi hedeflenmemiş organizmalar üzerinde herhangi bir risk oluşturmazlar. Bunlar tamamen doğal olmaları

sebebiyle ekosistemde herhangi bir kirliliğe yol açmazlar. Bu özellikleri, gelecekte kimyasal insektisitlerin yerini bu biyolojik etmenlerin alacağını göstermektedir (Tanyeli Esmer, 2011).

Birçok entomopatojenin kitle üretimi yapılarak “biyolojik insektisid” olarak piyasaya sürülmüştür. Bunların en başında gelenlerden biri de *Bacillus thuringiensis* olup, birçok böcek türüne karşı başarı ile kullanılmaktadır. Entomopatojenler genellikle standart ilaçlama aletleri veya sulama suyuna karıştırılarak uygulanmaktadır. Ticari olarak üretilen bu entomopatojenler genellikle türde spesifik olduğu için biyolojik mücadelede emniyetle kullanılabilecek etmenlerdir. Ne yazık ki bu preparatlar dünya ilaç piyasasının ancak %2-5’ini oluşturmaktadırlar (Ridgway and Inscoe, 1998). Bu konudaki çalışmalar hızla sürdürülmemekte olup, birçok entomopatojen türün biyolojik mücadelede ümitvar sonuçlar verdiği ortaya çıkarılmıştır. Diğer taraftan doğada doğal olarak bulunan entomopatojenler için uygun mikrohabitatlar oluşturarak onların etkinliğinin artırılmasına çalışılmalıdır (Uygun, 2002).

1.5.1.1. Entomopatojen Bakteriler

Entomopatojen bakteriler, günümüzde zararlı böceklerle karşı en fazla kullanılan mikroorganizmalardır. Spor oluşturanlar ve spor oluşturmayanlar olmak üzere iki gruba ayrırlılar. Böceklerle önemli zararlar veren bakteriler, daha çok spor meydana getiren grupta yer alır. Yapılan araştırmalar, sporların kuraklık ve yüksek sıcaklığa karşı dayanıklı olduğunu göstermiştir. Spor oluşturmayan bakteriler oldukça dayaniksız ve hassas yapıdadırlar. Bu nedenle, genellikle böceklerle karşı yapılan mücadelelerde, spor oluşturan ve fakultatif aerob bakterilerin kristal taşıyanları kullanılmaktadır. Biyolojik mücadele uygulamalarında Gram pozitif bakteriler Gram negatif bakterilere göre daha fazla kullanılmaktadır ve mikrobiyolojik insektisidlerin temelini oluşturmaktadırlar (Demirbağ vd., 2008).

Böcekler ve bakteriler arasındaki etkileşimler simbiyotik veya patojenik olabilir (Sanchez-Contreras ve Vlisidou, 2008). Şimdiye kadar, bir çok bakteri izole edilmiş, sınıflandırılmış ve laboratuvar ortamında çeşitli böcekler için patojenik olabilecekleri gösterilmiştir. Bu bakterilerin çoğu *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*,

Lactobacillaceae, *Micrococcaceae* ve *Bacillaceae* aileleri içerisinde tanımlanmıştır (Bulla vd., 1975). Çeşitli bakteri türlerinin böcekleri akut ya da kronik olarak enfekte ettiğleri bilinmesine rağmen, sadece *Bacillus* ve *Serratia* cinslerine ait bakteriler, böceklerle karşı zirai mücadelede kullanılmaktadır. *Bacillus* cinsine ait türler en önemli mikrobiyal pestisitlerdendir. Son yıllarda insektisidal aktivitesi yüksek olan *Bacillus thuringiensis* üzerinde durulmaktadır. Bu bakteri biyolojik mücadelede diğer birçok bakteriye nazaran daha ümit vericidir. *B. thuringiensis* başta Lepidoptera olmak üzere Diptera ve Coleoptera türlerine karşı da kullanılmaktadır (Demirbağ vd., 2008). Bilinen bakteriyel patojenler arasında *Bacillus thuringiensis* (Bt) en başarılı olanıdır ve daha da geliştirilmesi için önemli bir potansiyele sahiptir. *Bacillus thuringiensis*'in ürettiği Bt toksini dünya çapında bir çok zararlı böceği kontrol etmek için kullanılmıştır (Burges, 1982; Sevim vd., 2012a).

Bakteriyel patojenlerin yanı sıra, böceklerin bakteriyel simbiyotları zararlı böceklerin mikrobiyal kontrolunda kullanılabilirler ve gelecekteki zararlı böcek kontrolleri için önemli ajanlardır (Dillon ve Dillon, 2004; Demirci vd., 2013). Böceklerin bağırsak bakterileri genetik mühendisliği teknikleri kullanılarak modifiye edilebilirler ve farklı özellikler bu bakterilere kazandırılabilir (Sevim vd., 2012b). Kuzina ve arkadaşları (2002), yaptıkları çalışmada pembe kurt larvalarının bağırsak florasından izole ettikleri *Enterobacter gergoviae*'a *Bacillus thuringiensis Cyt1A* genini aktarmışlar ve bu genin *Enterobacter gergoviae*'de ekspres edilmesini sağlamışlardır. Aynı zamanda Medina ve arkadaşları (2009), ateş karıncası orta bağırsak bakterilerine, böcek toksik proteinlerinin ekspresyonu için kullanılabilir olan pZeoDsRed shuttle vektörü kullanılarak bu toksinlerin transforme edilebilir olduğunu göstermiştir. Buna ek olarak, bu Chagas hastalığı (Amerika tripanozomiyası) vektörünün bir bakteriyel symbiont olan *Rhodococcus rhodnii*'e bir anti trioanosomal madde transforme edilmiş ve bu maddenin vectör bağırsağında rekombinant *Rhodococcus rhodnii* tarafından ekspres edilmesi sağlanmıştır (Beard vd., 1992). Ayrıca, Watanabe ve arkadaşları (2000), ice-nucleation (*inaA*) genini ekspres eden tarnsjenik *Enterobacter cloaceae* suşunun kolonize olduğu böceklerde ölüm oranlarının arttığını göstermiştir.

Zararlı böcek kontrolünde simbiyotik bakterilerin kullanılması için bir başka yaklaşım, böcek bağırsağı içerisindeki bakteriyel türler arasındaki dinamiğe dayanır

(Ishakawa, 2003). Harada ve Ishakawa (1997), yaptıkları bir çalışmada *Acyrthosiphon pisum* (bezelye yaprak biti) bağırsağında izole edittikleri bakterileri besiyerlerinde ürettiler ve daha sonra *Acyrthosiphon pisum*'ları (bezelye yaprak biti) doğal besinlerine karşıtılmış bu bakteriler ile beslediler. Sonuç olarak, *Erwinia herbicola* ve *E. aphidicola*'nın yaprak biti bağırak florasının basın türleri olmasına rağmen, afit bağırsağında üreyerek canlıyı öldürdüğünü gözlediler. Bu sonuç çalışmacılara *E. aphidicola*'nın bağırsakdaki diğer enterobakteriler tarafından büyümesinin bastırılmış olduğunu düşündürdü.

1.6. Literatür Özeti

Lal ve Raj'ın yaptığı bir çalışmada dört bitkisel yağın, Neem oil (*Azadirachta indica*), Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*), Sunflower oil (*Helianthus annus*) ve Castor oil (*Ricinus communis*) herbirinin güvercin bezelyesinde 1ml ve 3ml/kg konsantrasyonlarının etkisi börülce tohum böceklerine karşı denendi. Her iki dozun etkisi de yumurtlamayı ve ergin oluşumunu azalttı, gelişim periyodunu da geciktirdi. Böceklerin istilasından 120 gün sonra Ökaliptus, hint yağı ve neem yağıının 1ml/kg dozunda etki saptanmasına karşın 3ml/kg dozunda tohumun ağırlık kaybını azaltmaya etkisi daha yüksektir. Sonuçlar gösterdi ki yağlar yumurtaların protoplazmasını ve larva beslenmesini etkilemektedir. Bu nedenle depolanan tohumlar için yağların börülce tohum böceklerinin kontrol metodlarının en iyisi ve en güvenilir olduğunu kanıtlamıştır. Farklı yağlarla muamele edilen tohumların 1ml ve 3ml/kg dozundaki örnekleri 120 günlük muamelenin ardından tohum çimlenmesine önemli bir olumsuz etki göstermemiştir (Lal ve Raj, 2012).

Javanovic ve arkadaşlarını yaptığı bir çalışmada, beş aromatik şifalı bitkiden elde edilen etanol ekstrelerinin *Acanthoscelides obtectus*'a karşı etkisi değerlendirilmiştir. *Urtica dioica* (Isırgan otu) ve *Taraxacum officinale* (Karahindiba) bitkilerinden elde edilen özlerin böceği uygulanması ile %100 insektisidal aktivite gözlenmiştir. *Sambucus nigra* (Mürver) ve *Juglans regia* (Ceviz) ekstreleri deneyde başarısız olmuştur. *Achillea millefolium* (Civanperçemi)'dan elde edilen ekstrat insektisidal aktivitede etkisiz olmasına rağmen, bitkinin böceği itme özelliğinin olması bu döllen azalmasında etkili oldu (Jovanovic vd., 2007).

Depolanan ürün böcekleri kontrol etmek için yapay bir atmosfer bileşimi gelecek vaat etmektedir. Ingabire ve arkadaşlarının yaptığı çalışma, *C. maculatus* popülasyonunun azot bazlı modifiye atmosfer etkinliğini belirlemek için yapılmıştır. Bu çalışmada iki tane faktör kullanıldı: oksijen konsantrasyonu (azotun dahil olan %21,14,11,8,5 ve 2 oranı kadar) ve 3 peryoda (3,5, ve 7 gün) maruz bırakıldı. Yani 18 işlem yapıldı ve bunlar 3 kez tekrarlandı. Deney sonuçları gösterdi ki oksijen konsantrasyonu azaldıkça ve düşük oksijene maruz kalma süresi (periyodu) arttıkça böcek ölüm oranı arttı. Buna ek olarak yetişkin popülasyonu O₂ azalması ile önemli ölçüde azalmıştır (İngabire vd., 2013).

Karabörklü ve Ayvaz'ın yaptığı çalışmada yumurta parazitoidi *Trichogramma evanescens*'in yumurta, larva ve pupa evreleri *Sitotroga cerealella* (Olivier) yumurtalarında 4°C de 10, 20, 30 ve 40 gün süreyle depolanymıştır. Konukçu içerisinde depolanan parazitoidlerin ergin çıkışları, parazitleme performansları ve ömür uzunluklarında depolama süresine bağlı olarak önemli oranda azalma gözlenmiştir. Depolama süresi çıkan erginlerin cinsiyet oranlarında önemli bir değişime neden olmamıştır. Depolama süresi arttıkça *Sitotroga cerealella* (Olivier) yumurtasında gelişen parazitoidlerin ömür uzunlığında önemli bir azalma meydana gelmiştir (Karabörklü ve Ayvaz, 2007).

Gryllotalpa gryllotalpa (Avrupa danaburnu, Orthoptera: Gryllotalpidae) birçok bitki ve meyvenin köklerine zarar veren ekonomik olarak önemli bir zararlıdır. Bir başka çalışmada çalışmada İşçi, *Gryllotalpa gryllotalpa*'nın bakteriyal florاسının belirleyerek bir patojen tespit edilip bu patojenin *G. gryllotalpa*'ya karşı başlatılabilcek bir biyolojik mücadele temelini teşkil etmeyi amaçlamıştır. *G. gryllotalpa* nimf ve erginlerinden toplam on beş bakteri izole edilmiştir. İzole edilen bakterilerin on ikisi tür seviyesinde, üçü ise cins seviyesinde tanımlanmıştır. İzole edilen bakterilerin *Bacillus thuringiensis kurstaki*, *Serratia* sp., *Bacillus gibsoni*, *Bacillus* sp., *Providencia vermicola*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus clausii*, *Enterobacter aerogenes*, *Paenibacillus xylanilyticus*, *Enterobacter* sp., *Providencia rettgeri*, *Serratia nematodophila*, *Providencia alcalifaciens*, *Enterobacter hormehechi* ve *Bacillus arsenicus* oldukları belirlenmiştir. İnsektisidal aktivite testleri *G. gryllotalpa* (Ort.:

Gryllotalpidae) nimfleri ile $3,6 \times 10^9$ cfu/ml, *Malacosoma neustria* L. (Lep.: *Lasiocampidae*) larvaları ile ise $1,8 \times 10^9$ cfu/ml dozunda, on günde yapıldı. İnsektisidal aktivite testleri sonucunda, en yüksek insektisidal aktivite *G. gryllotalpa* üzerinde %100 ile *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* ve *Bacillus arsenicus*, *M. neustria* üzerinde %75 ve %70 etki göstermişlerdir. Sonuçlar özellikle *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Gg1) izolatının *G. gryllotalpa*'ya karşı etkili bir mikrobiyal kontrol ajansı olabileceğini göstermektedir (İşçi, 2009).

Yaprak kıvrım böceği (*Rhynchites bacchus* L., Coleoptera: Rhyncbitidae), ülkemizde tarımı yapılan elma, erik, kayısı, vişne, kiraz ve şeftali gibi meyvelerde önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır. Bu çalışmada Gökçe ve arkadaşları, zararlı ile mücadelede kullanılabilecek bakteri izolatlarının elde edilmesi, tanımlanması ve zararlı üzerindeki etkilerinin belirlenmesini amaçlamışlardır. Böceğin bakteriyal florasını belirlemek için ergin ve larvalardan yapılan izolasyon sonunda 5 farklı bakteriyal izolat, koloni morfolojisine göre ayırt edildi. Elde edilen izolatların morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri belirlendi. Ayrıca, izolatların 16S rRNA genlerine ait DNA dizileri polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltıldıktan sonra dizi analizleri yapıldı. Bu analizler sonucunda elde edilen bilgiler NCBI gen bankasındaki sekans bilgileri ile karşılaştırılarak tür analizleri yapıldı. Morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal test sonuçları ile 16S rRNA gen sekans analizine göre *R. bacchus*'un bakteriyal florası *Bacillus licheniformis*, *Serretia marcescens*, *lütterobacter hormaechei*, *Paenibacillus* sp., *Enterobacter* sp. olarak belirlendi. Bu izolatlardan *Serretia marcescens*'in *R. Bacchus* üzerinde %75 ile en yüksek öldürücü etkiye sahip olduğu tespit edildi. Tanımlanan diğer bakterilerin aynı biyotest metoduna göre öldürücü etkileri ise *Bacillus licheniformis* için %18, *Enterobacter hormaechei* için %15, *Paenibacillus* sp. için %23 ve *Enterobacter* sp. için %14 olarak belirlendi (Gökçe vd., 2009).

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Kullanılan Besiyerleri

2.1.1. Hareket Besiyeri

Sığır Eti Özütü	3 gr
Jelatin	10 gr
NaCl	5 gr
Saf Su	1000 ml

Gerekli malzemeler istenilen miktarlarda hazırlandı ve 121°C’ de 15 dk. otoklavda steril edildi. Otoklavdan sonra 5 ml steril deney tüplerine bölünerek hazırlandı. Kullanılacağı süreye kadar +4°C’ de muhafaza edildi.

2.1.2.Nitrat Besiyeri

Sığır eti özütü	3 gr
Pepton	5 gr
Potasyum Nitrat	1 gr
Saf Su	1000 ml

Karışım 3 ml olarak tüplere dağıtıldı ve 1,1 atm basınçta 121 °C’de 15 dk. otoklavda steril edildi. Kullanılacağı süreye kadar +4°C’ de muhafaza edildi.

2.1.3. Kligler Agar Besiyeri

Kligler Agar besiyeri, Merck’in hazır toz besiyerinden 5,5 gr tartılıp 100 ml saf su içerisinde çözüldü ve 1,1 atm basınçta 121 °C’de 15 dk. otoklavda steril edildi. Otoklavdan sonra 6 ml olarak tüplere dağıtıldı. Yatık agar olacak şekilde soğutuldu. Kullanılacağı süreye kadar +4°C’ de muhafaza edildi.

2.1.4. Jelatinaz Besiyeri

Pepton	5 gr
Sığır eti özütü	3 gr
Jelatin	120 gr
Saf su	1000 ml

Gerekli malzemeler istenilen miktarlarda hazırlandı ve 121°C’ de 15 dk. otoklavda steril edildi. Otoklavdan sonra 4 ml olarak tüplere dağıtıldı. Kullanılacağı süreye kadar +4°C’ de muhafaza edildi.

2.1.5. Üre Agar Besiyeri

Üre agar besiyeri hazırlanmak için Merck'in toz halindeki Üre Agar Base besiyerinden 2,1 gr tartıldı. 100 ml saf su içerisinde çözüldü. 1,1 atm basınçta 121 °C'de 15 dk. otoklavda sterilizasyon işlemeye tabi tutuldu ve 50 °C' ye kadar soğutulduktan sonra steril suda ve steril şartlarda %1 lik hazırlanmış üre solüsyonundan %5 ilave edildikten sonra steril tüplere 3 ml dağıtıldı. Kullanılacağı süreye kadar +4°C’ de muhafaza edildi.

2.1.6. İndol Besiyeri

2 gr Pepton, 0,5 gr NaCl tartıldı ve 100 ml saf su içerisinde çözüldü. 2 ml olarak tüplere dağıtıldı. 1,1 atm basınçta 121 °C'de 15 dk. otoklavda sterilizasyon işlemeye tabi tutuldu. Kullanılacağı süreye kadar +4°C’ de muhafaza edildi.

2.1.7. Metil Red- Voges Proskauer Besiyeri

0,7 gr Polypepton, 0,5 gr Glukoz, 0,5 gr K₂HPO₄ maddeleri tartıldı ve 100 ml suda çözüldü. Çözünen besiyeri 4 ml olarak tüplere dağıtıldı. 1,1 atm basınçta 121 °C'de 15 dk. otoklavda sterilizasyon işlemeye tabi tutuldu. Kullanılacağı süreye kadar +4°C’ de muhafaza edildi.

2.1.8. Citrat Agar Besiyeri

Merck'in hazır haldeki toz besiyerinden 22,5 gr tartılıp 1000 ml saf su içerisinde çözüldü ve 1,1 atm basınçta 121 °C'de 15 dk. otoklavda sterilizasyon işlemeye tabi tutuldu. Otoklavdan sonra tüplere 5 ml olarak dağıtıldı. Kullanılacağı süreye kadar +4°C' de muhafaza edildi.

2.1.9. Müller Hinton Besiyeri

Müller Hinton besiyeri Merck firmasının toz halindeki besiyerinden hazırlandı. Besiyerinden 34 gr tartılıp 1000 ml saf su içerisinde çözüldü ve 1,1 atm basınçta 121 °C' de 15 dk. otoklavda sterilizasyon işlemeye tabi tutuldu. Gerekli olduğunda içerisinde % 1,5 agar ilavesi ile Müller Hintor agar besiyeri hazırlandı. Kullanılacağı süreye kadar +4°C' de muhafaza edildi.

2.1.10. Koagulaz Besiyeri

Steril plazma 2'er ml olacak şekilde steril tüplere bölündü ve Kullanılacağı süreye kadar +4°C' de muhafaza edildi.

2.1.11. Luria Bertani (LB) Besiyeri

LB besiyerini hazırlamak için 1 gr Tryptone, 0,5 gr Yeast Extract, 0,75 gr NaCl tartılıp 100 ml distile su içerisinde çözüldü ve 1,1 atm basınçta 121 °C'da 15 dk. otoklavlanarak steril edildi. Gerekli olduğunda içerisinde % 1,5 agar ilavesi ile LB agar besiyeri hazırlandı. Kullanılacağı süreye kadar +4°C' de muhafaza edildi.

2.1.12. Nütrient Broth Besiyeri

Nütrient Broth besiyerini hazırlamak için Merck'in hazır toz hâlinde bulunan besiyerinden 8 gr tartılarak 1000 ml distile su içerisinde çözüldü ve 1,1 atm basınçta 121°C' de 15 dk. otoklavlanarak steril edildi. Gerekli olduğunda içerisinde % 1,5 agar

ilavesi ile Nütrient agar besiyeri hazırlandı. Kullanılacağı süreye kadar +4°C' de muhafaza edildi.

2.1.13. Amilaz Besiyeri

Amilaz besiyerini hazırlamak için 0,3 gr Beef Extract, 0,1 gr Soluble Starch, 1,2 gr agar tartıldı ve 100 ml distile su içerisinde çözüldü. 1,1 atm basınçta 121°C' de 15 dk. otoklavlanarak steril edildi. Steril petri kaplarına dağıtılp, kuruması beklandı. Kullanılacağı süreye kadar +4°C' de muhafaza edildi.

2.1.14. Proteaz Besiyeri

Proteaz besiyerini hazırlamak için 1 gr süt tozu, 0,1 gr Yeast Extract, 2,6 gr Agar tartılıp 100 ml distile su içerisinde çözüldü ve 1,1 atm basınçta 121°C' de 15 dk. otoklavlanarak steril edildi. Steril petri kaplarına dağıtılp, kuruması beklandı. Kullanılacağı süreye kadar +4°C' de muhafaza edildi.

2.1.15. Selülaz Besiyeri

Selülaz besiyerini hazırlamak için 1 gr CMC(Karboksi MetilSelülaz), 1gr Yeast Extract, 1 gr NaCl, 1 gr Tripton, 1,5 gr Agar tartılıp 100 ml distile su içerisinde çözüldü ve 1,1 atm basınçta 121°C' da 15 dk. otoklavlanarak steril edildi. Besiyeri steril petri kaplarına dökülkerek donması beklandı. Kullanılacağı süreye kadar +4°C' de muhafaza edildi.

2.1.16. Lipaz Besiyeri

Lipaz besiyerini hazırlamak için 2 gr Agar, 0,8 gr Nütrient Broth, 0,4 gr NaCl, 1 gr Gum Arabic tartılıp 100 ml distile su içerisinde çözüldü ve 1,1 atm basınçta 121°C' da 15 dk. otoklavlanarak sterilizedildi.Otoklavdan çıkan besiyerinin 55°C'ye kadar kadar soğuması beklandı. Daha sonra içerisinde %2,5 steril Zeytin Yağı ve 1 mg/ml Rhodomin B ayıracından 10 ml eklenerek homojen bir şekilde karışması sağlanıldı. Kullanılacağı süreye kadar +4°C' de muhafaza edildi.

2.2. Kullanılan Ayıraçlar

2.2.1. Nitrat Ayıracı

Ayırac A: Alpha Naphthylamine 0,5 gr
 Acetic Asit (SN) %30 100 ml

Ayırac B: Sulfanik Asit 0,8 gr
 Asetic Asit(SN) %30 100 ml

Ayırac C: Çinko Tozu

2.2.2. Kovaks Ayıracı

p-Dimethylaminobenzaldehyde 10 gr
izoamyloalko 150 ml
HCl 50 ml

Tüm materyel çözülmüş ışık geçirmeyen şişeye doldurulduktan sonra buzdolabında +4 °C’ de kullanılıncaya kadar muhafaza edildi.

2.2.3. Metil Red Ayıracı

0,015 gr Metil Kırmızısı ile %95’lik 150 ml Etil Alkol çözüldü. Daha sonra üzerine 100 ml saf su ilave edildi. Buzdolabında +4 °C’de muhafaza edildi.

2.2.4. Voges – Proskauer Ayıracı

Soluşyon A

α-naphthol 6 g
%95’lik ETOH 100 ml

Solüsyon B

Potasyum hidroksit 40 g
Distile su 100 ml

2.2.5. Oksidaz Ayıracı

1 gr dimethyl-*p*-phenylenediamine hydrochloride 100 ml distile su içerisinde çözülür. Taze hazırlanıp kullanılmalıdır.

2.2.6. Gram Boyama

Amonyum oksalat Kristal Viyole

Sol X: 10gr kristal viyole ile 100 mL % 55 lik Etanol karıştırılır.

Sol Y: Amonyum oksalatin %1 ‘lik çözeltisi hazırlanılır.

20 mL sol X + 80 mL sol Y oranlarında karıştırılarak istenilen boyaya elde edilir.

İyot Solüsyonu

İyot 1g
Potasyum iyodür 2g
Distile dH₂O 300ml

Safranin

0,25 gr safranin %95 lik 10 mL etanol içerisinde çözülür ve distile su ile son hacim 100 mL olacak şekilde tamamlanır.

2.2.7. Spor Boyama

Malaşit Yeşili

5 gr malaşit yeşili 100 ml distile su içerisinde çözülür.

Safranin

0,25 gr safranin %95 lik 10 mL etanol içerisinde çözülür ve distile su ile son hacim 100 mL olacak şekilde tamamlanır.

2.2.8. Kongo Kırmızısı

Katı besiyerinde selülaz aktivitesinin saptanması amacıyla kullanılmıştır. 0,1 gr Kongo Red tartıldı, 100 ml saf su içerisinde çözüldü.

2.2.9. 1N NaCl

58,5 gr NaCl tartıldı, son hacimde 1000 ml dH₂O içerisinde çözülkerek hazırlanır.

2.3. Böcek Örneklerinin Toplanması

Bu çalışma için gerekli olan *Acanthoscelides obtectus* (Fasulye Tohum Böceği) ve *Callosobruchus maculatus* (Börülce Tohum Böceği) ergin ve larvaları, *Sitotroga cerealella* (Mısır Güvesi) larvaları Rize ili merkezine bağlı Üçkaya köyünden, *Phthorimaea operculella* (Patates güvesi) larvaları Trabzon/Merkez den 2011 ve 2012 yıllarında toplanmıştır. Toplanan ergin ve larvalardan laboratuarda bakteri izolasyonu yapılmıştır.

2.4. Depolanmış Ürün Zararlılarının Bakteriyal Florasının Belirlenmesi

Laboratuara getirilen sağlıklı *Acanthoscelides obtectus* (Fasulye Tohum Böceği), *Callosobruchus maculatus* (Börülce Tohum Böceği) ergin ve larvalarından 10'ar adet ve *Sitotroga cerealella* (Mısır Güvesi), *Phthorimaea operculella* (Patates güvesi) larvalarından 10'ar adet, steril petri kapları içerisindeki %70'lik alkol ile 5 dakika yüzey sterilizasyona maruz bırakıldı. Daha sonra içerisinde steril saf su bulunan petri kaplarına aktarılarak 2-3 kez yıkarak alkolden arındırıldı. Ve içerisinde 5ml serum fizyoloji bulunan steril tüplere aktarıldılar. Steril homojenizatör yardımıyla böceklerin iyice ezilmesi sağlandı. Elde edilen bu karışımın iki katı steril bir tülbentten süzüldü ve 0.1 ml alınıp 0.9 ml serum fizyoloji bulunan kapaklı tüplere aktarılarak 10⁻¹, 10⁻³, 10⁻⁵ ve 10⁻⁸ olmak üzere seri dilüsyonları yapıldı. 10⁻¹, 10⁻³ ve direk ekim dilüsyonlarından 100 µl Nütrient Agar petrilerine yayma ekimleri gerçekleştirildi. Ayrıca sadece sporlu basillerin üremesini sağlamak için 10⁻¹, 10⁻³ ve direk ekim dilüsyonlarından 1 ml ependorf tüplerine aktarıldı ve 80 °C'de 10 dakika bekletildi. Her bir dilüsyondan 100

μ l alınıp nütrient agar besiyerlerine yayma ekim yöntemiyle ekim yapıldı. Bu petriler 30 °C'lik etüvde 2-3 gün süre ile inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyondan sonra en uygun petriler seçilerek koloniler sayıldı ve 1 ergin ve larva böcek başına düşen bakteri sayısı hesaplandı.

2.5. Saf Kültürlerin Hazırlanması ve Stoklanması

İnkübasyondan sonra nütrient agar üzerinde üreyen bakteriyal kolonilerden farklı renk ve morfolojilere sahip olanlar seçildi ve çizgi ekimleri yapılarak saf kültürler elde edildi. Elde edilen saf koloniler numaralandırılarak içerisinde nütrient broth bulunan steril tüplere ekildi. Ve 30 °C'lik etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra her bir kültürden 770 μ l alınıp steril ependorf tüplerine aktarıldı ve üzerlerine %87'lik steril gliserolden 230 μ l ilave edildi. Daha sonra bu ependorf tüpler 2 dakika vortekslenerek sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere -80 °C'de saklandı.

2.6. Bakteriyal İzolatların Morfolojik Özelliklerin Belirlenmesi

2.6.1. Basit Boyama

Elde edilen izolatlarının hücre şekillerini belirlemek amacıyla basit boyama yapıldı. Bunun için her bir izolat nütriyent agar besiyerine ekilerek 30 °C'lik etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra kültürlerden bakteriyal smear hazırlandı. Hazırlanan smearler 3-4 defa alevden geçirilerek tespit edildi. Daha sonra kristal viyolet solüsyonu ilave edilerek 1-2 dakika beklendi ve dH₂O ile yıkandı. Daha sonra smearler filtre kağıdı ile kurutuldu. Ve mikroskop ile 1000 \times büyütmede incelendi (Prescott ve Harley, 2001).

2.6.2. Gram Boyama

Gram boyama, bakterilerin tanımlanma ve sınıflandırılması için kullanılan en önemli boyama yöntemidir. Bu bir farklılaştırıcı boyama olup, bakterileri gram pozitif ve gram negatif olarak ikiye ayırrı. Gram boyama için her bir izolat nütrient agar

besiyerine ekildi ve 30 °C'lik etüvde 16-24 saat inkübasyona bırakıldı. Her bir izolattan bakteriyal smear hazırladı ve alevle 3 kez tespit edildi. Hazırlanan smear 1 dakika kristal viole ile muamele edildi ve dH₂O ile yıkandı. Daha sonra 1 dakika lügol ile muamele edildi ve Aseton-alkolle renk giderilinceye kadar yıkandıktan sonra renk kaybını önlemek için dH₂O ile yıkandı. 30-60 saniye safranınle muamele edildi ve tekrar dH₂O ile yıkandı. Boyamalar kurutma kağıdı ile kurutuldu ve mikroskop ile 1000× büyütmede incelendi. Mor boyanan bakteriler gram pozitif, pembe boyanan bakteriler ise gram negatif olarak değerlendirildi (Claus 1992).

2.6.3. Endospor Boyama

Endospor boyama işlemi Prescott vd. (2001)'un belirttiği yönteme göre yapıldı. Buna göre; taze kültürleri hazırlanan bakteriler, lam üzerine 1 damla steril distile su ile iyice yayılarak havada kurutuldu ardından 3 kez alevden geçirilerek fiske edildi. Örnekler malaşit yeşili ile alevde 5 dakika etkiye bırakıldı ve buharlaştıkça boyaya ilave edildi. Distile su ile yıkanan örnekler 30 saniye safranın ile boyandı ve distile suyla tekrar yıkanıp havada kurutulduktan sonra bakteri sporlarının morfolojileri, mikroskopta incelendi.

2.6.4. Kapsül Boyama

İzolatların kapsül yapısına sahip olup olmadıklarının belirlenmesi için her bir izolat Nutrient Agar besiyerine ekilerek, 35°C'de 24–48 saat inkübasyona bırakıldı. Bakteriyel smear hazırlanacak ve açık havada kurutuldu. Kristal viyole boyası ile 5–7 dakika boyandı. %20'lik CuSO₄ ile yıkandı ve açık havada kurutularak mikroskop altında incelendi. Kapsül boyama negatif bir boyama yöntemidir. Buna göre, mavi renkli bir sahada, mor-eflatun renkli boyanmış hücrelerin etrafında boyanmamış şeffaf bir bölgenin olması, kapsülü varlığını gösterecektir (Prescott ve Harley, 2001).

2.6.5. Hareket Testleri

İzolatların hareketli olup olmadığını araştırılması için hazırlanan %3'lük yumuşak nutrient agardan her bir tüpe 4'er ml aktarıldı. İğne ucuyle özeyle izolatlar

hazırlanan besiyerlere dikey olarak ekildi. İzolatlar besiyeri içinde kenarlara doğru üreme göstermişse hareket pozitif, sadece dikine doğru üreme yapanlar ise negatif olarak değerlendirildi (Prescott ve Harley, 2001).

2.7. Bakteriyal İzolatların Fizyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

2.7.1. Optimum Büyüme Sıcaklıklarının Belirlenmesi

İzolatların büyüyebildiği değişik sıcaklık aralıklarını belirleyebilmek için nutrient agar besiyeri içerisinde ekimler yapıldı ve değişik sıcaklıkda (10, 15, 30, 37, 45, 50, 55 °C) 18 saat inkübe edildi. 2-3 gün inkübasyona bırakıldı. Optimum olarak büyüdüğü sıcaklıklar ortaya çıkarıldı (Prescott ve Harley, 2001).

2.7.2. NaCl Toleranslarının Belirlenmesi

İzolatların NaCl ihtiyaçlarını belirlemek amacıyla %3, 5, 7, 10, 12 ve 15 oranında NaCl içeren nutrient broth besiyerleri hazırlandı. Bu besiyerlerinden 3'er ml deney tüplerine aktarıldı ve yuvarlak uçlu öze ile her bir izolattan ekim yapıldı. Gece boyu 30 °C'ye ayarlı kuru çalkalayıcı inkubatörde inkübasyona bırakıldılar. Üreme olan ve olmayan tüpler belirlenerek, izolatların hangi oranlarda tuzu tolere edebildiklerine karar verildi (Prescott ve Harley, 2001).

2.7.3. pH Aralıklarının Belirlenmesi

İzolatların büyüyebildiği pH aralığının belirlenebilmesi için değişik pH değerlerine (3, 4, 5, 6, 7, 8 ve 9) sahip nutrient broth besiyerlerine her bir izolattan ekim yapıldı. Kültürler 30 °C'de gece boyu inkübasyona bırakıldılar. İnkübasyon neticesinde üreme olup olmadığına spektrofotometrede (OD_{600} nm'de) ölçümler yapılarak karar verildi (Prescott ve Harley, 2001).

2.8. Bakteriyal İzolatların Biyokimyasal ve Serolojik Özelliklerin Belirlenmesi

2.8.1. İndol Testi

İndol testi için daha önce hazırlamış olduğumuz tüpteki besiyerlerine her bir izolattan ekim yapıldı. 30 °C'de gece boyu inkübe edildi. Daha sonra tüplere ayıraç olarak 1 ml Kovaks kimyasalı ilave edildi. Tüpün üst kısmında kırmızı bir halkanın oluşması pozitif sonuç, sarı halkanın oluşumu negatif sonuç olarak değerlendirildi (Prescott ve Harley, 2001).

2.8.2. Metil Kırmızısı ve Voges-Proskauer Testleri (MRVP)

Bu test için MRVP broth besiyeri hazırlandı. Her bir izolattan iki ayrı tüp olacak şekilde, besiyeri içeren tüplere ekim yapıldı. 35°C'de, 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından her bir izolatın bir tübüne, 250 µl metil kırmızısı ilave edildi. Kırmızı renk oluşumu MR testi için pozitif, sarı renk oluşumunun negatif sonuç olduğuna karar verildi.

Her bir izolatın diğer türlerine ise, 600 µl VP-I kimyasalından ve 200 µl VP-II kimyasalından ilave edilecek. Tüplerin kapakları açık bırakılarak 15–20 dakika bekletilecek. Pembe-kırmızı arası renk oluşumunun VP testi için pozitif, açık kahverengi renk oluşumunun negatif sonuç olarak değerlendirildi (Prescott ve Harley, 2001).

2.8.3. Sitrat Testleri

Bazı bakteriler ortamda ferment edebilecekleri maddeler (glikoz, laktوز gibi) bulunmadığı durumlarda sitratı karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabilirler. İzolatların sitratı ferment edip etmediklerinin belirlenmesi için, "Simmon's sitrat besiyerinden" slantlar hazırlandı. Her bir izolattan slantlara ekim yapıldı ve 30°C'de, 48–72 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından besiyerinin renginin yeşilden maviye dönüşüp dönüşmemesine göre testin sonucuna karar verildi (Prescott ve Harley, 2001).

2.8.4. Kligler Iron Agar (KIA) Testi

Her bir izolat, KIA besiyerinden hazırlanan slantlara ekildi ve 30°C'de 48–72 saat inkübe edildi. Eğer izolatlar sülfat kaynağı olarak besiyeri içerisinde bulunan sodyum tiosülfattan H₂S üretirlerse, oluşan H₂S yine besiyeri içerisinde indikatör olarak bulunan demir sülfat ile reaksiyona girerek siyah bir çökelek oluşturur. İnkübasyonun ardından slantların alt kısmında siyah rengin oluşup oluşmamasına göre testin sonucuna karar verildi (Prescott ve Harley, 2001).

2.8.5. Üre Hidroliz Testi

İzolatlarda üreaz enziminin varlığının belirlenmesi amacıyla üreaz besiyeri hazırlandı. Her bir izolattan besiyerine ekim yapıldı, 30°C'de 48–72 saat inkübe edildi. Eğer izolatlar üreaz enzimi üretiyorlarsa, ürenin amonyağa parçalanması sonucu alkali bir ortam oluşur. Bu da, besiyeri içerisinde indikatör olarak bulunan fenol kırmızısının, besiyerinin rengini koyu pembeye dönüştürmesine yol açar. İnkübasyonun sonucunda besiyerinin koyu pembeye dönüşüp dönüşmediğine bakılarak testin sonucuna karar verildi (Prescott ve Harley, 2001).

2.8.6. Nitratı İndirgeme Testleri

İzolatların nitratı nitrite indirgeyip indirgemediklerinin ortaya çıkarılması amacıyla Nitrat Broth Besiyeri hazırlandı ve steril tüplere 3'er ml döküldü. Her bir izolattan tüplere ekim yapıldı ve 30°C'de 48–72 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda izolatların nitratı indirgeyip indirgemedikleri ortama iki farklı çözeltinin ilavesiyle belirlendi. Ortama Çözelti-I (sulfanilik asit) ve Çözelti-II (dimetil- α -naftilamin)'den 250'şer μ l eklenmesi sonucu, koyu kırmızı renk oluşumu gözlenip gözlenilmemesine göre testin sonucuna karar verildi (Prescott ve Harley, 2001).

2.8.7. Katalaz Testi

İzolatların katalaz enzimi oluşturup oluşturmadıklarının ortaya çıkarılması amacıyla Nütrient Agar Besiyeri hazırlandı. Izolatlar bu besiyerini içeren petrilere

ekildikten sonra, 24–48 saat 30°C'de inkübe edildi. Gece kültürlerinden bir öze dolusu alınıp lam üzerine bırakıldı ve üzerine %3'lük H₂O₂ çözeltisi ilave edildi. Ve oluşan gaz kabarcıklarına göre sonuçlar pozitif olarak değerlendirildi (Prescott ve Harley, 2001).

2.8.8. Oksidaz Testi

İzolatların oksidaz enzimi üretip üretmediklerinin belirlenmesi amacıyla Nütrient Agar Besiyerleri hazırlandı. Her bir izolattan petrilere çizgi ekim yapıldı. 30°C'de 24–48 saat inkübe edildikten sonra petrilere oksidaz testi ayıracı ilave edildi. Oluşan koyu mavi renge göre testin pozitif olduğuna karar verildi (Prescott ve Harley, 2001).

2.8.9. Jelatin Hidroliz Testi

Jelatinin izolatlar tarafından hidroliz edilip edilmediğinin ortaya çıkarılması amacıyla hazırlanan jelatinaz besiyeri, steril deney tüplerine döküldü. Izolatların her biri, bu deney tüplerine ekildi ve sonra 30°C'de, 72–96 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda izolatlar +4°C'de 1 saat bekletildi. Bu süre sonunda bakteri jelatini eritmiş ve üreme olup olmadığına göre sonuç pozitif olarak değerlendirildi (Prescott ve Harley, 2001).

2.8.10. Koagülaz Testi

Özellikle stafilokoklarda bulunan ve kan plazmasını pihtlaştıran koagülaz enzimini ortaya koyarak patojenik olanlarla patojenik olmayanları ayırmak amacıyla yapılan bir deneydir. Bu deney için plazma %3 oranında seyreltilerek 1'er ml ependorf tüplerine dağıtıldı. Gece kültürlerinden bir öze dolusu alınıp ekim yapıldı ve 30 °C'de 1 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda plazmanın katılaşması pozitif sonuç olarak değerlendirildi (Prescott ve Harley, 2001).

2.9. Bakteriyel Izolatların Ekstrasellüler Enzim Üretimlerinin Belirlenmesi

2.9.1. Selülaz Üretiminin Belirlenmesi

İzolatların selülaz enzim üretimleri hazırlanan Selülaz Besiyerinde test edilerek belirlendi. Izolatların selülaz test besiyerine ekimleri gerçekleştirildi ve 30°C'de 24 saat inkübe edildi. Daha sonra selülaz aktivitesinin belirlenmesi için petri kapları %0,1'lik Kongo kırmızısı boyası ile kaplandı ve rengin açılması için 1N NaCl ilave edilip 15 dk. beklendi. Zemin kırmızı renge boyanırken selülaz üreten kolonilerin çevresinde boyanmayan şeffaf zonların varlığı selülaz pozitif olarak değerlendirildi (Hols ve ark., 1994).

2.9.2. Proteaz Üretiminin Belirlenmesi

İzolatların proteaz enzimi üretimleri Proteaz Besiyerinde test edilerek belirlendi. Izolatların proteaz test besiyerine ekimleri gerçekleştirildi ve 30°C'de inkübasyona tabi tutuldu. Düzenli aralıklarda kontrol edilerek petri etrafında açık zon oluşturan koloniler proteaz pozitif olarak kabul edildi (Carlisle ve Falkingham, 1989).

2.9.3. Amilaz Üretiminin Belirlenmesi

İzolatların amilaz enzime sahip olup olmadığı Amilaz Besiyerine ekimleri yapılarak incelendi. Ekimleri yapılan petri kapları 30°C'de 2 gün inkübasyona tabi tutuldu ve daha sonra iyot solüsyonu ile petri yüzeyleri kaplandı. Amilaz üreten izolatlar kolonilerin etrafında oluşan beyaz zonla belirlendi (Akbalık, 2003).

2.9.4. Lipaz Üretiminin Belirlenmesi

Her bir izolattan besiyerine steril kürdan ile nokta ekim yapıldı ve 2-3 gün 30°C'de inkübasyona bırakıldı. Daha sonra petri kapları UV 354 nm ışığı altında kontrol edildi ve parlak turuncu renk gözlenen koloniler lipaz pozitif olarak değerlendirildi (Jette ve Ziomek, 1994).

2.9.5. Kitinaz Testi

Her bir izolattan steril kürdan yardımıyla kitin besiyeri içeren petrilere nokta ekim yapıldı ve 15 gün boyunca 30 °C'de inkübasyona bırakıldılar. İnkübasyon sonunda koloni etrafında şeffaf zon oluşturan izolatlar kitin pozitif, şeffaf zon oluşturmayanlar ise kitin negatif olarak değerlendirildi (Kamala ve Indira, 2011).

2.10. İzolatların Moleküler Karakterizasyonları

2.10.1. Genomik DNA İzolasyonu

İzolatların genomik DNA'larını izole etmek için, izolatlar 5 ml LB besiyeri içerisinde bir gece inkübasyona tabi tutuldu. Gece kültürleri ependorf tüplerine aktarılıarak aşağıdaki işlemler sırasıyla gerçekleştirildi (Sambrook, 1989).

1. Gece kültürleri 13.000 rpm'de 3-4 dakika santrifüj edilerek çöktürüldü.
2. Pelletlerin üzerine 500 µl TE tamponu eklenderek (10 mM Tris pH 8; 1 mM EDTA pH 8) çözüldü.
3. Her bir tüpe 50 µl lizozim enzimi konularak vortekslendi (1/4 mercimek büyüğünde lizozim).
4. Tüpler 37 °C'de 1 saat bekletildi.
5. Her bir tüpe 50 µl %10'luk SDS eklenderek 5-6 defa alt üst edildi ve 37 °C'de 30 dakika bekletildi.
6. Sonra her tüpe 3 M'lık 1/10 hacim sodyum asetat (Na-Ac pH 5,2) eklendi ve 65 °C'de 10-30 dakika beklenerek her 10 dakikada bir alt üst edildi.
7. Her tüpe 500 µl fenol:kloroform:izoamilalkol (25:24:1) ilave edildi, vortekslendi ve 5 dakika 13.000 rpm'de santrifüj edildi.
8. Tüpelerin üst kısmındaki sıvı kısmı temiz ependorf tüplerine aktarıldı.
9. Tüpere tekrar 500 µl kloroform ilave edildi ve tüplerine alt üst edilerek 13.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve üstte kalan sıvı kısmı temiz tüplere aktarıldı.
10. Tüpere tekrar 500 µl kloroform ilave edildi. Tüp alt üst edilerek 13.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve üstte kalan sıvı kısmı temiz tüplere aktarıldı. Böylece bu işlem üç defa tekrarlandı. Bu tüplere 1/10 hacim sodyum asetat ve 2 hacim

(yaklaşık 900 μ l) %96'lık soğuk EtOH (etil alkol) ilave edilerek -20 °C'de 45 dakika bekletildi.

11. Daha sonra tüpler 13.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi ve üst kısımdaki sıvılar atıldı.

12. Kalan pelleterin üzerine 500 μ l %70'lik soğuk EtOH ilave edilerek tekrar 13.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.

13. Pelletler 37 °C'de kurutulduktan sonra 75 μ l 20 μ g/ml RNase içeren TE içerisinde çözüldü.

14. DNA'lar sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere - 20°C'de saklandı.

2.10.2. 16S rRNA Gen Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması

16S rRNA genleri, her bir izolattan elde edilen genomik DNA'dan 27F (5'-AGAGTTGATCMTGGCTCAG-3') ileri ve 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3') geri primerleri kullanılarak PCR yardımı ile çoğaltıldı. Primerler MACROGEN (Hollanda) firmasından elde edildi. PCR reaksiyon şartları: 12 ng kalıp DNA, 5 μ L 10X PCR tamponu (100 mM Tris-HCl, pH 8,3; 500 mM steril KC1), 1,5 mM MgCl₂, 1 U *Taq* DNA Polimeraz, 0,25 mM ileri primeri, 0,25 mM geri primeri, 170 mM dATP, 170 mM dCTP, 170 mM dGTP ve 170 mM dTTP olacak şekilde hazırlandı ve bu karışımı steril saf su ile 50 μ L'ye tamamlandı. Çoğaltma işlemi 200 μ L'lik tüplerde ve Thermocycler (Eppendorf)'de gerçekleştirildi. Reaksiyon sıcaklıklarını ve sürelerini ise; ilk denatürasyon basamağı 95°C'de 4 dk olarak gerçekleştirildikten sonra, 36 döngü 94 °C'de 1 dk (denatürasyon için), 56 °C'de 1 dk (hibridizasyon için) ve 72 °C'de 2 dk (polimerizasyon için) şeklinde gerçekleştirildi. Elde edilen PCR ürünlerinin 5 μ L'si % 1,1'lik agaroz jelde yürütüldü ve etidyum bromür boyası (0,5 μ g/ml) ile boyandıktan sonra UV ışığı altında görüntülendi. Elde edilen PCR ürünleri sekans edilmek üzere MACROGEN (Hollanda) firmasına gönderildi (Sevim vd., 2010).

Sekanslama işleminde ise 518F (5'-CCAGCAGCCGCGGTAATACG-3') ve 800R (5'-TACCAGGGTATCTAATCC-3') primerleri kullanıldı (MACROGEN).

2.10.3. Veri Analizi

Elde edilen bütün 16S rRNA dizileri BioEdit (Hall, 1999, version 7.09) programı ile düzenleni ve NCBI GenBank'ta BLAST'lanarak GenBank'ta yer alan diğer 16S rRNA dizileri ile yüzde benzerlikleri belirlendi. Buradan elde edilen veriler izolatların morfolojik tanımlamalarını doğrulamak için kullanıldı. 16S rRNA dizilerinin Cluster analizi aynı şekilde BioEdit programını kullanarak ClustalW programı ile yapıldı ve buradan elde edilen veriler MEGA (Tamura vd., 2011, version 5) filogenetik programı yardımıyla neighbor-joining (NJ) analizinde kullanıldı. Aligment boşlukları kayıp veri olarak değerlendirildi. Oluşturulan dendrogramların güvenilirliği MEGA 5.0 programı kullanarak seç-bağla (bootstrap) analizi ile 1.000 tekrarlı olacak şekilde test edildi.

2.11. Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Direnç Prefillerinin Belirlenmesi

Antimikrobiyal hassasiyet testleri National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) standartlarında göre standart disk difüzyon yöntemi ile yapıldı ve değerlendirildi (NCCLS, 1997).

Bu çalışmada gentamisin (CN, 10 µg), amoksisilin (AX, 25 µg), tetrasiklin (TE, 30 µg), rifampisin (RF, 5 mg), ampisilin (A, 10 µg), trimethoprim/sülfametaksazol (SXT, 1,25/23,75 µg), kanamisin (K, 30 µg), sefalotin (KF, 30µg), siproflaksasin (CIP, 5 µg), kloramfenikol (C, 30 µg), seftriakson (CRO, 30µg), amikasin (AK, 30 µg), seftazidim (CAZ, 30 µg), streptomisin (ST, 10 µg), norfloksasin (NOR, 10µg), vankomisin (30 µg), metisilin (ME, 5 µg), oksasilin (OX, 1 µg) ve novabiyosin (NV, 30 µg) antibiyotikleri kullanılmıştır.

Antimikrobiyal duyarlılık testleri için izolatlar MHA besiyerinde bir gecelik kültürleri gerçekleştirildi. İnkübasyondan sonra her bir izolatdan steril serum fizyolojik içerisinde bulanıklık değeri 0,5 McFarland olacak şekilde sulandırıldı. Bu bulanıklık düzeyinde yaklaşık olarak $1,5 \times 10^8$ bakteri/ml bakteri olduğu varsayıldı. Üretici firmanın tarifine göre hazırlanıp steril petri plaklarına 4 mm kalınlığında dökülmüş Mueller-Hinton agar (pH 7,2-7,4) yüzeyi kurutuldu. Steril bir eküvyon çubuğu yardımı ile bulanıklığı ayarlanmış kültürlerin Mueller-Hinton agar besiyeri yüzeylerine yayma

ekimleri yapıldı. Ekim yapıldıktan sonra agar yüzeyi tekrar kurutuldu. Dört derece sıcaklıkta saklanmakta olan antibiyotik diskleri alınarak agar yüzeyine temas edecek şekilde ve disk aralarında en az 24 mm olacak şekilde yerleştirildi. Disklerin yerleştirilmesinden sonra petri kapları 30°C bir gece inkübe edildi. İnkübasyondan sonra antibiyotik diskleri etrafında oluşan zonların çapları ölçüлerek değerlendirilme yapıldı.

Çiplak göz ile değerlendirilerek tam inhibisyonun gözlendiği alanın çapı (disk çapı dahil) bir cetvel yardımıyla ölçüldü. İnhibisyon sınırı çiplak gözle görülebilir üremenin bittiği çizgi olarak kabul edildi. Ölçülen zon çapları NCCLS kitapçığındaki ilgili tablolardaki değerler ile karşılaştırılarak bakteri test edilen antibiyotiğe karşı "duyarlı" veya "dirençli" olarak değerlendirildi. Orta hassas duyarlılığı sahip suşlar "duyarlı" olarak değerlendirildi.

3. BULGULAR

3.1. Bakteriyal İzolatların Kantitatif Analizi ve Seçilmesi

Yapılan tez çalışmasında *Acanthoscelides obtectus* (Fasulye Tohum Böceği) ergin ve larvalarından 11 adet bakteriyal izolat, *Callosobruchus maculatus* (Börülce Tohum Böceği) ergin ve larvalarından 11 adet bakteriyal izolat, *Sitotroga cerealella* (Mısır Güvesi) larvalarından 6 adet bakteriyel izolat ve *Phthorimaea operculella* (Patates güvesi) larvalarından 15 adet bakteriyal izolat olmak üzere toplamda 43 bakteriyel izolat izole edilmiş ve bakteri izolatları koloni renk ve morfolojisine göre seçilmiştir. Izole edilen bakteri izolatları Fasulye Tohum Böceği için Fbe, Börülce Tohum Böceği için Be, Mısır güvesi için Ml ve Patates güvesi için Pb olarak isimlendirilmiş ve numaralandırılmıştır. Seçilen bu kolonilerin saf kültürleri hazırlanmış ve daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere -80 °C'de saklanmıştır.

Tez çalışmasında larva ve ergin başına düşen bakteri sayısı *Acanthoscelides obtectus* (Fasulye Tohum Böceği) için bir ergin böcek başına düşen bakteri sayısı $2,4 \times 10^4$ cfu/ml, bir larva böcek başına düşen bakteri sayısı $1,4 \times 10^5$ cfu/ml olarak belirlenmiştir. *Callosobruchus maculatus* (Börülce Tohum Böceği) için bir ergin böcek başına düşen bakteri sayısı $2,3 \times 10^5$ cfu/ml, bir larva böcek başına düşen bakteri sayısı $2,8 \times 10^5$ cfu/ml olarak belirlenmiştir. *Sitotroga cerealella* (Mısır Güvesi) için bir larva böcek başına düşen bakteri sayısı 2×10^3 cfu/ml ve *Phthorimaea operculella* (Patates güvesi) için bir larva böcek başına düşen bakteri sayısı $7,3 \times 10^5$ cfu/ml olarak belirlenmiştir.

3.2. Bakteriyel İzolatların Morfolojik Özellikleri

Izole edilen bakteriyel izolatların ayrıntılı özellikleri Tablo 1'de verilmiştir. *Acanthoscelides obtectus* ve *Sitotroga cerealella*'dan izole edilen bakteriyel izolatların gram boyama sonuçlarına göre hepsinin gram pozitif kok olduğu tespit edilmiştir. *Callosobruchus maculatus*'dan izole edilen Be-1, Be-2, Be-3, Be-7, Be-10, Be-11 *Phthomerimae operculella*'dan izole edilen Pb-1 ve Pb-12 izolatlarının gram pozitif sporlu basil olduğu, Be-4, Be-8 ve Pb-2, Pb-3, Pb-6, Pb-7, Pb-8, Pb-9, Pb-13 izolatlarının gram pozitif kok olduğu, Be-5, Be-9, Pb-4, Pb-5, Pb-10, Pb-11, Pb-14 ve

Pb-15 izolatlarının gram negatif basil olduğu gram boyama sonuçlarına göre tespit edilmiştir.

Yumuşak agarda tespit edilen hareket testleri sonucunda Be-9, Ml-4, Ml-6, Pb-1, Pb-2, Pb-3, Pb-5, Pb-6, Pb-8, Pb-9, Pb-12 ve Pb-13 izolatlarının hareketli olup diğerlerinin hareketsiz olduğu tespit edilmiştir.

Nütrient Broth besiyerinde üreme özellikleri incelendiğinde izolatların çoğunun bulanıklık oluşturarak üreme gösterdikleri Be-7, Be-9, Pb-1, Pb-12, Pb-14 ve Pb-15 izolatların ise çökelme oluşturarak üredikleri tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmada izolatların kapsül oluşturma özellikleri incelendiğinde Be-1, Be-7, Be-10, Ml-1, Pb-1 ve Pb-12 izolatlarının kapsül oluşturabilme yeteneğinde olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 1. Depo zararlılarından izole edilen bakteriyel izolatların morfolojik özellikleri*.

İzolat	Koloni		Hücre Şekli	Gram Boyama	Spor Şekli	Kapsül	Hareket	NB'daki Üreme	Kaynak
	Rengi	Şekli							
Be-1	K	R	Basil	+	+	+	-	B	Ce
Be-2	K	S	Basil	+	+	-	-	B	Ce
Be-3	K	S	Basil	+	+	-	-	B	Ce
Be-4	T	S	Kok	+	-	-	-	B	Ce
Be-5	Sa	S	Basil	-	-	-	+	B	Ce
Be-6	K	S	Kok	+	-	-	-	B	Ce
Be-7	K	S	Basil	+	+	+	-	C	Ce
Be-8	T	R	Kok	+	-	-	-	B	Ce
Be-9	Sa	R	Basil	-	-	-	+	C	Ce
Be-10	K	S	Basil	+	+	+	-	B	Ce
Be-11	K	S	Basil	+	+	-	-	B	Cl
Fbe-1	K	M	Kok	+	-	-	-	B	Ae
Fbe-2	K	M	Kok	+	-	-	-	B	Ae
Fbe-3	K	R	Kok	+	-	-	-	B	Ae
Fbe-4	K	M	Kok	+	-	-	-	B	Ae
Fbe-5	T	M	Kok	+	-	-	-	B	Ae
Fbe-6	K	M	Kok	+	-	-	-	B	Ae
Fbe-7	K	M	Kok	+	-	-	-	B	Ae
Fbe-8	K	S	Kok	+	-	-	-	B	Ae
Fbe-9	K	R	Kok	+	-	-	-	B	Al
Fbe-10	K	S	Kok	+	-	-	-	B	Al
Fbe-11	K	M	Kok	+	-	-	-	B	Al

Tablo 1 (devam). Depo zararlılarından izole edilen bakteriyel izolatların morfolojik özelliklerİ*.

İzolat	Koloni		Hücre Şekli	Gram Boyama	Spor Şekli	Kapsül	Hareket	NB'dak i Üreme	Kaynak
	Rengi	Şekli							
Ml-1	Sa	S	Kok	+	-	+	-	B	Sl
Ml-2	T	S	Kok	+	-	-	-	B	Sl
Ml-3	T	S	Kok	+	-	-	-	B	Sl
Ml-4	K	S	Kok	+	-	-	+	B	Sl
Ml-5	K	S	Kok	+	-	-	-	B	Sl
Ml-6	K	S	Kok	+	-	-	+	B	Sl
Pb-1	K	S	Basil	+	+	+	+	Ç	Pl
Pb-2	T	S	Kok	+	-	-	+	B	Pl
Pb-3	K	S	Kok	+	-	-	+	B	Pl
Pb-4	K	S	Basil	-	-	-	-	B	Pl
Pb-5	K	S	Basil	-	-	-	+	B	Pl
Pb-6	K	S	Kok	+	-	-	+	B	Pl
Pb-7	K	S	Kok	+	-	-	-	B	Pl
Pb-8	K	S	Kok	+	-	-	+	B	Pl
Pb-9	Sa	S	Kok	+	-	-	+	B	Pl
Pb-10	K	S	Basil	-	-	-	-	B	Pl
Pb-11	Sa	R	Basil	-	-	-	-	B	Pl
Pb-12	K	S	Basil	+	+	+	+	Ç	Pl
Pb-13	K	S	Kok	+	-	-	+	B	Pl
Pb-14	K	R	Basil	-	-	-	-	Ç	Pl
Pb-15	K	R	Basil	-	-	-	-	Ç	Pl

*: K: Krem, T: Turuncu, Sa: Sarı, R: R tipi (Kıvrıklı), S: S tipi (Düz), M: M tipi (Mukoid), B: Bulanık, Ç: Çökelme, Ce: *Callosobruchus maculatus* ergin böcek, Cl: *Callosobruchus maculatus* larva, Ae: *Acanthoscelides obtectus* ergin böcek, Al: *Acanthoscelides obtectus* larva, Sl: *Sitotroga cereallella* larva, Pl: *Phthomerimae operculella* larva.

3.3. Bakteriyel Izolatların Fizyolojik Özellikleri

Çalışmada izole edilen izolatların fizyolojik özellikleri olarak belirli pH değerlerinde üreme, belirli sıcaklıklarda ve belirli osmotik basınç altında üremeleri incelendi. Tüm depo zararlılarından izole edilen izolatların hiçbirinde pH 3.0 ve 4.0 değerlerinde üreme izlenmemiştir. Pb-11 izolatı hariç diğer tüm izolatlar pH 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 ve 9.0 değerlerinde üreme göstermiştir. Pb-11 izolatı ise sadece pH 6.0 ve 7.0 değerlerinde üreme göstermiştir (Tablo 2).

Izole edilen tüm izolatların (Pb-11 hariç) %3- 12 NaCl aralığında üreme gösterdiği tespit edilmiştir. Pb-11 izolatı sadece %3'lük NaCl ortamında üreme gösterirken %5- 15 NaCl aralığında üreme göstermemiştir (Tablo 2).

Acanthoscelides obtectus, *Sitotroga cerealella*, *Callosobruchus maculatus* ve *Phthorimaea operculella* ergin ve larvalarından izole edilen tüm bakteriyel izolatların 15, 30 ve 37 °C de üreme gösterdikleri tespit edilmiştir. *Acanthoscelides obtectus*, *Sitotroga cerealella* ve *Phthorimaea operculella*'dan izole edilen bakteriyel izolatların hiçbiri 55 °C de üreme göstermemiştir (Tablo 2).

Depo zararlılarında izole edilen bakteriyel izolatların fizyolojik özellikleri ayrıntılı bir şekilde Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Depo zararlılarından izole edilen bakteriyel izolatların fizyolojik özellikleri.

Tablo 2 (devam). Depo zararlarından izole edilen bakteriyel izolatların fizyolojik özellikleri.

İzolatlar	Fizyolojik Özellikler															Sıcaklık (°C)				
	NaCl (%)						Ph						Sıcaklık (°C)							
	3	5	7	10	12	15	3	4	5	6	7	8	9	10	15	30	37	45	50	55
Ml-1	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Ml-2	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Ml-3	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Ml-4	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Ml-5	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Ml-6	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Pb-1	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Pb-2	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Pb-3	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Pb-4	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Pb-5	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Pb-6	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Pb-7	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Pb-8	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-
Pb-9	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
Pb-10	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-
Pb-11	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Pb-12	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Pb-13	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Pb-14	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
Pb-15	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-

3.4. Bakteriyal İzolatların Biyokimyasal Özellikleri

Depo zararlılarından izole edilen bakteriyel izolatların biyokimyasal özellikleri ayrıntılı bir şekilde Tablo 3'de verilmiştir.

Callosobruchus maculatus'dan izole edilen Be-4, Be-6, Be-8 ve Be-9 izolatlarının KIA test besiyeri sonuçlarına göre şekerleri ferment ettiği fakat gaz ve H₂S oluşturamadıkları gözlemlenmiştir. Izole edilen diğer izolatların ise şekerleri ferment etmediği tespit edilmiştir. Aynı zamanda tüm izolatların katalaz pozitif, indol ve koagülaz yönünden negatif olduğu tespit edilmiştir. Be-9 izolatı hariç diğer tüm izolatların sitrat kullanımı yönünden negatif olduğu tespit edilmiştir. Be-3, Be-7 ve Be-10 izolatların oksidaz pozitif diğer izolatların ise oksidaz negatif olduğu tespit edilmiştir.

Acanthoscelides obtectus izolatlarının hiçbirinde H₂S ve gaz oluşumu gözlenmezken Fbe-1, Fbe-4, Fbe-7 ve Fbe-10 izolatlarının şekerleri ferment etmediği tespit edilmiştir. Fasülye tohum böceğiin ergin ve larvalarından izole edilen tüm izolatlarım metil red reaksiyonlarının pozitif, voges-prouskauer testlerinin negatif olduğu tespit edilmiştir. Fbe-3, Fbe-7 ve Fbe-8 izolatlarının katalaz negatif diğer izolatların ise katalaz pozitif olduğu tespit edilmiştir. Fbe-8 izolatı hariç diğer tüm izolatlar oksidaz negatiftir. Izole edilen tüm izolatların sitrat, jelatin, indol ve koagülaz test sonuçları negatif olarak tespit edilmiştir.

Sitotroga cerealella izolatlarının tümü şekerleri ferment ederken hiçbir izolatın H₂S ve gaz oluşturamadıkları tespit edilmiştir. Tüm izolatlar metil red pozitif, voges-prouskauer pozitif oldukları gözlemlenmiştir. Ml-1, Ml-2 ve Ml-3 izolatları katalaz pozitif, diğerleri ise negatif olarak belirlenmiştir. Ml-1 izolatı hariç diğer tüm izolatlar oksidaz negatiftir. Mısır güvesi larvalarından izole edilen tüm izolatların sitrat, nitrat, indol ve koagulaz test sonuçları negatif olarak belirlenmiştir. Ml-3 izolatı hariç diğer tüm izolatlar jelatin hidrolizi yönünden negatif olarak tespit edilmiştir.

Phthorimaea operculella izolatlarının KIA sonuçlarına göre; Pb-2, Pb-3, Pb-6, Pb-7, Pb-8, Pb-9 ve Pb-13 izolatlarının şekerleri ferment etebildiği, aynı zamanda Pb-

5 izolatının şekerleri ferment ederken gaz oluşturduğu tespit edilmiştir. Pb-11, Pb-14 ve Pb15 izolatlarının ise H₂S oluşturdukları tespit edilmiştir. Pb-13 izolatı hariç diğer tüm izolatların metil red pozitif, yine Pb-13 izolatı hariç diğer tüm izolatların voges prouskauer test sonuçlarının negatif olduğu tespit edilmiştir. Patates güvesi larvalarından izole edilen tüm izolatların indol ve koagülaz test sonuçlarının negatif olarak tespit edilmiştir.

Tablo 3. Depo zararlılarından izole edilen bakteriyal izolatların biyokimyasal özellikleri*

Izolatlar	KIA	Metil Red	V. P	Katalaz	Oksidaz	Üreaz	Sitrat	Nitrat	Jelatin	İndol	Koagülaz
Be-1	Bazik/Bazik/-/-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-
Be-2	Bazik/Bazik/-/-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
Be-3	Bazik/Bazik/-/-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
Be-4	Asid/Asid/-/-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Be-5	Bazik/Asid/-/-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
Be-6	Asid/Asid/-/-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Be-7	Bazik/Bazik/-/-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-
Be-8	Asid/Asid/-/-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Be-9	Asid/Asid/-/-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-
Be-10	Bazik/Bazik/-/-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
Be-11	Bazik/Bazik/-/-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
Fbe-1	Bazik/Bazik/-/-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Fbe-2	Asid/Asid /-/-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-
Fbe-3	Asid/Asid/-/-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fbe-4	Bazik/Bazik/-/-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Fbe-5	Asid/Asid/-/-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-
Fbe-6	Asid/Asid/-/-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-
Fbe-7	Bazik/Bazik/-/-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Fbe-8	Asid/Asid/-/-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Fbe-9	Asid/Asid/-/-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-
Fbe-10	Bazik/Bazik/-/-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Fbe-11	Asid/Asid/-/-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-
Ml-1	Asid/Bazik/-/-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Ml-2	Asid/Asid/-/-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Ml-3	Asid/Bazik/-/-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-
Ml-4	Asid/Asid/-/-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ml-5	Bazik/Asid/-/-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Ml-6	Asid/Asid/-/-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 3 (devam). Depo zararlılarından izole edilen bakteriyel izolatların biyokimyasal özellikleri.

Izolatlar	KIA	Metil Red	V.P	Katalaz	Oksidaz	Üreaz	Sitrat	Nitrat	Jelatin	İndol	Koagülaz
Pb-1	Bazik/Bazik/-/-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Pb-2	Asid/Asid/-/-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Pb-3	Asid/Asid/-/-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Pb-4	Bazik/Bazik/-/-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-
Pb-5	Bazik/Bazik/+/-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+
Pb-6	Asid/Asid/-/-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pb-7	Asid/Asid/-/-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pb-8	Asid/Asid/-/-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pb-9	Asid/Asid/-/-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pb-10	Bazik/Bazik/-/-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+
Pb-11	Bazik/Bazik/-/+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
Pb-12	Bazik/Bazik/-/-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Pb-13	Asid/Asid/-/-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Pb-14	Bazik/Bazik/-/+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-
Pb-15	Bazik/Bazik/-/+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-

3.5. Bakteriyel Izolatların Ekstrasellüler Enzim İçeriklerinin Belirlenmesi

Izole edilen bakteriyel izolatların proteaz, selülaz, amilaz, lipaz ve kitinaz olmak üzere ekstrasellüler enzim içerikleri tespit edilmiştir. Ekstrasellüler enzim içeriklerinin ayrıntılı özellikleri Tablo 4'de verilmiştir.

Callosobruchus maculatus'dan izole edilen bakteriyel izolatlardan Be-5 ve Be-6 hariç diğerlerin proteaz pozitif olduğu tespit edilmiştir. Be-1, Be-2, Be-3 ve Be-9 izolatlarının selülaz pozitif diğer izolatların ise selülaz negatif olduğu tespit edilmiştir. Be-5, Be-6 ve Be-7 izolatlarının amilaz, Be-1, Be-2, Be-3, Be-4, Be-7, Be-8, Be-10 ve Be-11 izolatlarının lipaz pozitif olduğu belirlenmiştir. Kitinaz酶 from only Be-9 izolatının pozitif olduğu tespit edilmiştir.

Acanthoscelides obtectus'dan izole edilen bakteriyel izolatlardan Fbe-2, Fbe-3, Fbe-5, Fbe-8, Fbe-9 ve Fbe-11 izolatlarının proteaz pozitif olduğu tespit edilmiştir. Fbe-1, Fbe-2, Fbe-4, Fbe-5, Fbe-9, Fbe-10 izolatlarının selülaz, Fbe-4 izolatının ise amilaz pozitif olduğu tespit edilmiştir. Fbe-1, Fbe-2, Fbe-4, Fbe-5, Fbe-6, Fbe-7, Fbe-10 ve

Fbe-11 izolatının lipaz pozitif olduğu belirlenmiştir. Fasülye tohum böceğiin ergin ve larvasından izole edilen hiçbir izolatda kitinaz enzimi bulunamamıştır.

Sitotroga cerealella'dan izole edilen bakteriyel izolatlardan Ml-1, Ml-2, Ml-3, Ml-4 ve Ml6 izolatlarının proteaz pozitif, Ml-5 izolatının ise lipaz pozitif olduğu tespit edilmiştir. Mısır güvesi larvalarından izole edilen bakteriyel izolatların hiçbirinde selülaz, amilaz ve kitinaz enzimi tespit edilememiştir.

Phthorimaea operculella'dan izole edilen bakteriyel izolatlardan Pb-4, Pb-5 ve Pb-10 hariç diğer tüm izolatların selülaz pozitif olduğu belirlenmiştir. Pb-1 ve Pb-12 izolatlarının selülaz, Pb-1 izolatının ise amilaz pozitif olduğu tespit edilmiştir. Patates güvesi larvalarından izole edilen bakteriyel izolatlardan Pb-1 ve Pb-12 izolatının lipaz, Pb-5, Pb-10, Pb-11, Pb-14 ve Pb-15 izolatlarının ise kitinaz pozitif olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4. Bakteriyel izolatların ekstrasellüler enzim içerikleri.

İzolatlar	Proteaz	Selülaz	Amilaz	Lipaz	Kitinaz
Be-1	+	+	-	+	-
Be-2	+	+	-	+	-
Be-3	+	+	-	+	-
Be-4	+	-	-	+	-
Be-5	-	-	+	-	-
Be-6	-	-	+	-	-
Be-7	+	-	+	+	-
Be-8	+	-	-	+	-
Be-9	+	+	-	-	+
Be-10	+	-	-	+	-
Be-11	+	-	-	+	-
Fbe-1	-	+	-	+	-
Fbe-2	+	+	-	+	-
Fbe-3	+	-	-	-	-
Fbe-4	-	+	+	+	-
Fbe-5	+	+	-	+	-
Fbe-6	-	-	-	+	-
Fbe-7	-	-	-	+	-
Fbe-8	+	-	-	-	-
Fbe-9	+	+	-	-	-
Fbe-10	-	+	-	+	-
Fbe-11	+	-	-	+	-

Tablo 4 (devam). Bakteriyel izolatların ekstrasellüler enzim içerikleri.

İzolatlar	Proteaz	Selülaz	Amilaz	Lipaz	Kitinaz
Ml-1	+	-	-	-	-
Ml-2	+	-	-	-	-
Ml-3	+	-	-	-	-
Ml-4	+	-	-	-	-
Ml-5	-	-	-	+	-
Ml-6	+	-	-	-	-
Pb-1	+	+	+	+	-
Pb-2	+	-	-	-	-
Pb-3	+	-	-	-	-
Pb-4	-	-	-	-	-
Pb-5	-	-	-	-	+
Pb-6	+	-	-	-	-
Pb-7	+	-	-	-	-
Pb-8	+	-	-	-	-
Pb-9	+	-	-	-	-
Pb-10	-	-	-	-	+
Pb-11	+	-	-	-	+
Pb-12	+	+	-	+	-
Pb-13	+	-	-	-	-
Pb-14	+	-	-	-	+
Pb-15	+	-	-	-	+

3.6. Bakteriyel Izolatların Antibiyotik Direnç Profili

Depo zararlısı böceklerden izole edilen bakteriyel izolatların antibiyotik direnç profilleri incelendiğinde, gram negatif izolatlar için 14 farklı antibiyotik diskı kullanılmıştır. Gentamisin, amoksisilin, tetrasiklin, rifampisin, ampisilin, trimethoprim/sülfametaksazol, kanamisin, sefalotin, siproflaksasin, kloramfenikol, seftriakson, amikasin ve seftazidim kullanılan antibiyotik disklerdir. Börülce tohum böceği ergininden izole edilen Be-5 ve Be-9, Patates güvesi larvasından izole edilen Pb-4, Pb-5, Pb-10, Pb-11, Pb-14 ve Pb-15 izolatları olmak üzere toplamda 8 izolat gram negatif antibiyotik test paneli diskleri ile antibiyotik duyarlılıklarını belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, izolatların hepsinin amoksisilne dirençli olduğu, Streptomisin, gentamisin ve seftazidim antibiyotiklerine karşı ise hassas oldukları tespit edilmiştir. Sefalotine karşı %87,5, ampisiline karşı %75, seftriaksona karşı % 62,5, siproflaksasine karşı %50, tetrasiklin ve kloramfenikole karşı %37,5, trimethoprim/sülfametaksazole karşı %25, rifampisin, kanamisin, ve amikasine karşı % 12,5 direnç tespit edilmiştir

(Tablo 5). Yapılan çalışmada tüm gram negatif izolatların en az 3 farklı antibiyotiğe karşı dirençli olduğu, Pb-14 izolatının ise 14 antibiyotikden 8'ine karşı dirençli olarak en yüksek dirence sahip olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmada gram pozitif izolatlar için gentamisin, amoksisilin, tetrasiklin, rifampisin, ampisilin, trimethoprim/sülfametaksazol, kanamisin, sefalotin, siproflaksasin, kloramfenikol, seftriakson, streptomisin, norfloksasin, vankomisin, metisilin, oksasilin ve novabiyosin olmak üzere 17 farklı antibiyotik kullanılmıştır. İzolatların direnç oranları sırası ile seftriaksona karşı %88,5, amikasine karşı %85,7, sefalotine karşı %68,5, metisiline karşı % 65,7, oksasiline karşı %60, siproflaksasine karşı % 45,7, gentamisine karşı % 25,7, norfloksasine karşı % 22,85, ampisilin ve vankomisine karşı % 11,4, kanamisine karşı %8,5 olarak tespit edilmiştir. Zararlardan izole edilen gram pozitif tüm izolatların tetrasiklin, rifampisin, trimethoprim/sülfametaksazol, kloramfenikol, streptomisin ve novabiyosin antibiyotiklerine karşı hassas olduğu belirlenmiştir (Tablo 5). Depo zararlısı böceklerden izole edilen 35 gram pozitif izolatdan 29'unun (% 82,85) en az 3 farklı antibiyotiğe karşı dirençli olduğu ve mısır güvesi larvasından izole edilen Ml-6 izolatının kullanılan 17 antibiyotikten 9'una karşı dirençli olup %52,94 direnç oranı ile en yüksek direnci taşıdığı tespit edilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. Bakteriyal izolatların antibiyotik direnç profilleri*.

Gram-negatif izolatlar	Antibiyotikler																
	CN	AX	TE	RF	A	SXT	K	S	KF	CIP	C	CRO	AK	CAZ			
Be-5	S	R	S	R	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S			
Be-9	S	R	S	S	S	S	R	S	R	R	S	R	S	S			
Pb-4	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S			
Pb-5	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S	S	R	S	S			
Pb-10	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S			
Pb-11	S	R	R	S	R	R	S	S	R	S	R	S	S	S			
Pb-14	S	R	R	S	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S			
Pb-15	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	R	S	S	S			
Gram-pozitif izolatlar	CN	AX	TE	RF	A	SXT	K	KF	CIP	C	CRO	ST	NOR	VÄ	ME	OX	NV
	Be-1	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S
Be-2	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S
Be-3	S	R	S	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	R	S	S	S
Be-4	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R	S	S
Be-6	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S
Be-7	S	R	S	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	R	S	S
Be-8	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R	S	S
Be-10	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S
Be-11	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R	S	S
Fbe-1	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R	R	S
Fbe-2	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R	R	S
Fbe-3	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R	R	S
Fbe-4	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R	R	S
Fbe-5	S	R	S	S	R	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R	S

Tablo 5 (devam). Bakteriyal izolatların antibiyotik direnç profilleri*.

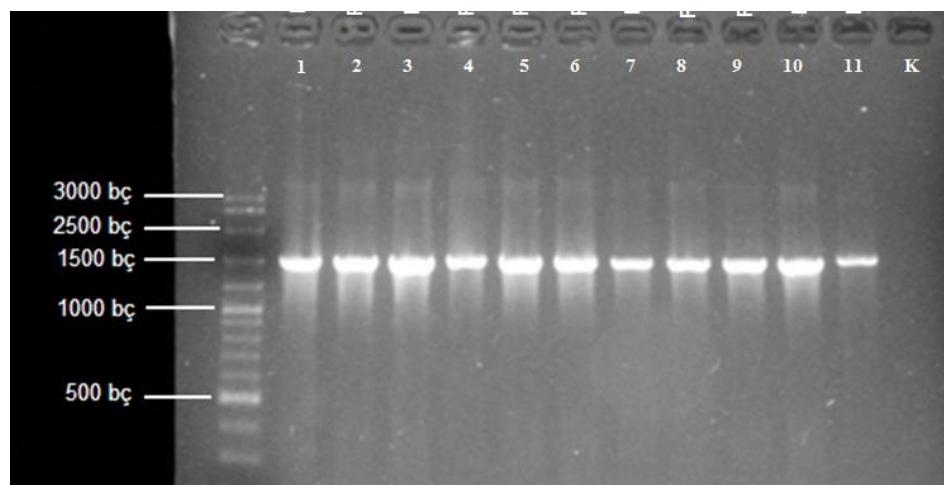
Gram-pozitif izolatlar	Antibiyotikler																
	CN	AX	TE	RF	A	SXT	K	KF	CIP	C	CRO	ST	NOR	VA	ME	OX	NV
Fbe-6	S	R	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R	S
Fbe-7	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R	S
Fbe-8	R	R	S	S	S	S	R	R	S	R	S	R	S	R	R	R	S
Fbe-9	S	R	S	S	R	S	S	R	S	S	R	S	S	R	R	R	S
Fbe-10	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R	S
Fbe-11	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R	S
Ml-1	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R	R	S
Ml-2	S	R	S	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S
Ml-3	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	S
Ml-4	R	R	S	S	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S
Ml-5	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S
Ml-6	R	R	S	S	S	S	R	R	R	S	R	S	R	S	R	R	S
Pb-1	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
Pb-2	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
Pb-3	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S	R	S
Pb-6	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S	R	S
Pb-7	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	R	S	R	R	S	R	S
Pb-8	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	R	S	R	S	S	R	S
Pb-9	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S
Pb-12	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
Pb-13	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S

*, CN: Gentamisin, AX: Amoksaslin, TE: Tetrasiklin, RF: Rifampisin, A: Ampisilin, SXT: trimethoprim/sülfametaksazol, K: Kanamisin, KF: sefalotin, CIP: Siproflaksasin, C: Kloramfenikol, CRO: Seftriakson, ST: streptomisin, NOR: Norfloksasin, VA: Vankomisin, ME: Metisilin, OX: Oksasilin, NV: Novabiyosin, R: Dirençli, S: Hassas

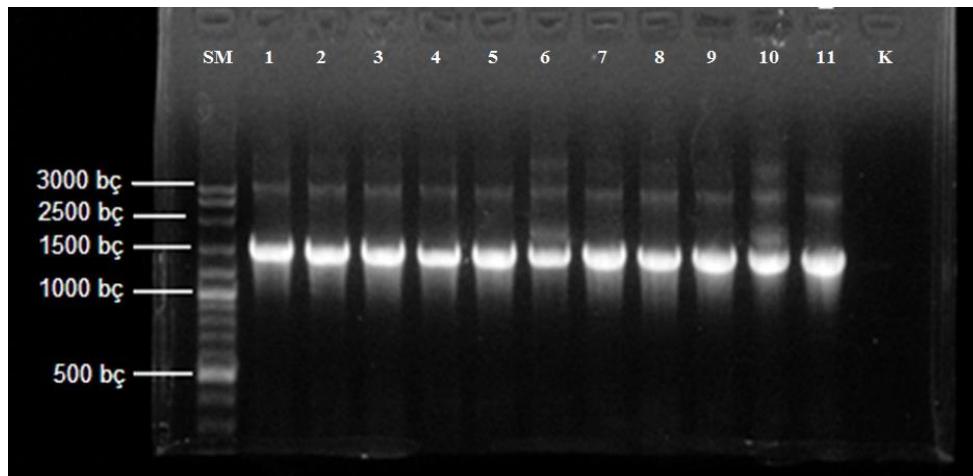
3.7. İzolatların Moleküler Özelliklerinin Belirlenmesi

Çalışmada *Acanthoscelides obtectus* (Fasulye tohum böceği) ergin ve larvalarından, *Callosobruchus maculatus* (Börülce tohum böceği) ergin ve larvalarından, *Sitotroga cerealella* (Mısır güvesi) larvalarından ve *Phthomerimae operculella* (patates güvesi) larvalarından izole edilen 43 adet izolatin 16S rRNA gen bölgeleri sekanslanarak moleküler sistematigi gerçekleştirilmiştir.

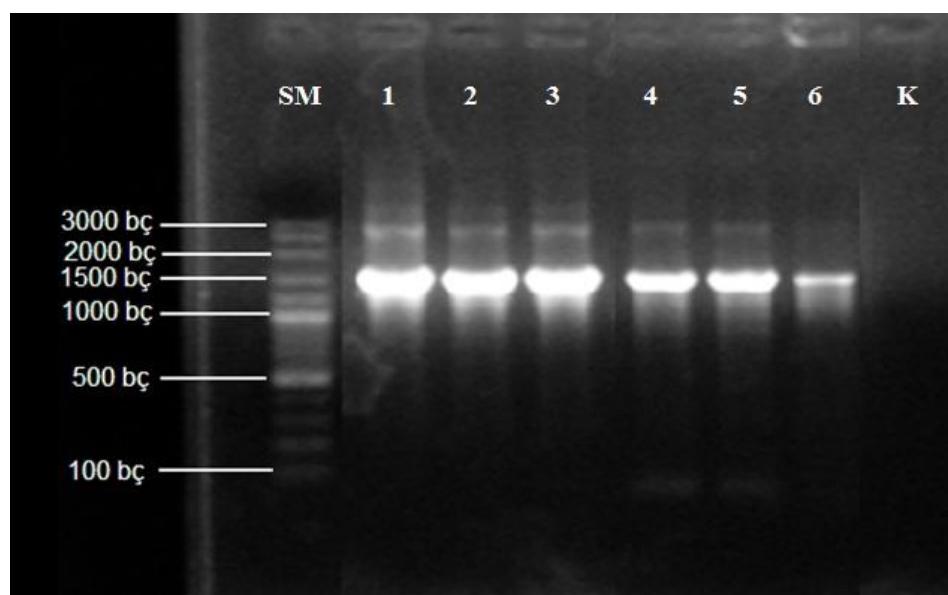
Thermocycler cihazı ile gerçekleştirilen polimeraz zincir reaksiyonu sonucunda yaklaşık olarak 1.500 bp 16S rRNA gen fragmentleri çoğaltıldı (Şekil 6, Şekil 7, Şekil 8, Şekil 9).



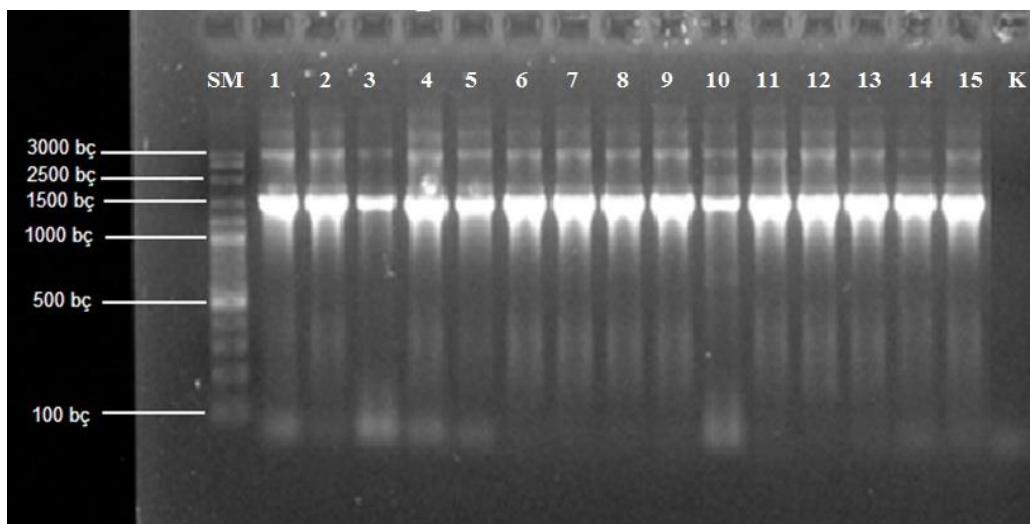
Şekil 6. *Acanthoscelides obtectus* (Fasulye tohum böceği) ergin ve larvalarından izole edilen bakteriyal izolatların 16S rRNA gen fragmentlerinin agaroz jelde görünümü. SM: standart markır (Vivantis/USA), 1: Fbe-1 izolati, 2: Fbe-2 izolati, 3: Fbe-3 izolati, 4: Fbe-4 izolati, 5: Fbe-5 izolati, 6: Fbe-6 izolati, 7: Fbe-7 izolati, 8: Fbe-8 izolati, 9: Fbe-9 izolati, 10: Fbe-10 izolati, 11: Fbe-11 izolati, K: kontrol, bç: baz çifti.



Şekil 7. *Callosobruchus maculatus* (Börülce tohum böceği) ergin ve larvalarından izole edilen bakteriyal izolatların 16S rRNA gen fragmentlerinin agaroz jelde görünümü. SM: standart markır (Vivantis/USA), 1: Be-1 izolati, 2: Be-2 izolati, 2: Be-3 izolati, 4: BE-4 izolati, 5: Be-5 izolati, 6: Be-6 izolati, 7: Be-7 izolati, 8: Be-8 izolati, 9: Be-9 izolati, 10: Be-10 izolati, 11: Be-11 izolati, K: kontrol, bç: baz çifti.



Şekil 8. *Sitotroga cereallella* (Mısır güvesi) larvalarından izole edilen bakteriyal izolatların 16S rRNA gen fragmentlerinin agaroz jelde görünümü. SM: standart markır (Vivantis/USA), 1: MI-1 izolati, 2: MI-2 izolati, 3: MI-3 izolati, 4: MI-4 izolati, 5: MI-5 izolati, 6: MI-6 izolati, K: kontrol, bç: baz çifti.



Şekil 9. *Phthomerimae operculella* (patates güvesi) larvalarından izole edilen bakteriyal izolatların 16S rRNA gen fragmentlerinin agaroz jelde görünümü. SM: standart markır (Vivantis/USA), 1: Pb-1 izolatı, 2: Pb-2 izolatı, 3: Pb-3 izolatı, 4: Pb-4 izolatı, 5: PB-5 izolatı, 6: Pb-6 izolatı, 7: Pb-7 izolatı, 8: Pb-8 izolatı, 9: Pb-9 izolatı, 10: PB-10 izolatı, 11: Pb-11 izolatı, 12: PB-12 izolatı, 13: Pb-13 izolatı, 14: Pb-14 izolatı, 15: Pb-15 izolatı, K: kontrol, bç: baz çifti.

İzolatların 16S rRNA dizin analizi MACROGEN firması tarafından yapıldı. Bu sekanslar Gen Bank'ta var olan diğer bakterilerin 16S rRNA genleriyle karşılaştırılarak yüzde benzerlikler tespit edildi (Tablo 6).

Tablo 6. Bakteriyal izolatların 16S rRNA gen benzerlikleri.

İzolat	Benzer olduğu bakteriler	GenBank No	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)
Fbe-1	<i>Staphylococcus</i> sp. BNA-3	GU451172.1	100	99
	<i>Staphylococcus</i> sp. R9-9A	HQ154574.1	100	99
	<i>Staphylococcus kloosii</i> S7-447	JQ660231.1	99	99
	<i>S. kloosii</i> ATCC 43959	NR024667.1	99	99
Fbe-2	<i>Staphylococcus</i> sp. CTSP32	EU855210.1	100	99
	<i>S. saprophyticus</i> AT7	GU097199.1	100	99
	<i>Staphylococcus</i> sp. WW60	JQ687115.1	100	99
Fbe-3	<i>Enterococcus faecalis</i> R10-3A	HQ154579.1	100	99
	<i>E. faecalis</i> LRC31	JF772057.1	100	99
	<i>Enterococcus faecalis</i>	AB690253.1	100	99
	<i>Enterococcus faecalis</i> R5-2A	HQ154556.1	100	99
Fbe-4	<i>Staphylococcus</i> sp. BNA-3	GU451172.1	100	99
	<i>Staphylococcus</i> sp. R9-9A	HQ154574.1	100	99
	<i>Staphylococcus kloosii</i> S7-447	JQ660231.1	99	99
	<i>S. kloosii</i> ATCC 43959	NR_024667.1	99	99

Tablo 6 (devam). Bakteriyal izolatların 16S rRNA gen benzerlikleri.

İzolat	Benzer olduğu bakteriler	GenBank No	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)
Fbe-5	<i>S. saprophyticus</i> CTSP10	EU855227.1	100	99
	<i>S. saprophyticus</i> CTSP9	EU855226.1	100	99
	<i>S. saprophyticus</i> CMGS3	EU073967.1	100	99
Fbe-6	<i>Staphylococcus</i> sp. CTSP32	EU855210.1	100	99
	<i>S. saprophyticus</i> AT7	GU097199.1	100	99
	<i>Staphylococcus xylosus</i> 741	GQ222240.1	100	99
	<i>S. saprophyticus</i> TD2	HM113469.1	100	99
Fbe-7	<i>Staphylococcus</i> sp. BNA-3	GU451172.1	100	99
	<i>Staphylococcus</i> sp. R9-9A	HQ154574.1	100	99
	<i>Staphylococcus kloosii</i> S4-437	JQ660155.1	99	99
	<i>Staphylococcus kloosii</i> S1-421	JQ660047.1	99	99
Fbe-8	<i>Enterococcus faecalis</i> NP-10011	AB712374.1	100	99
	<i>Enterococcus faecalis</i> LRC3	JF772057.1	100	99
	<i>Enterococcus faecalis</i> LPS18	AB530697.1	100	99
	<i>Enterococcus</i> sp. SE-1	AB470333.1	100	99
Fbe-9	<i>Staphylococcus</i> sp. CTSP32	EU855210.1	100	99
	<i>Staphylococcus</i> sp. WW60	JQ687115.1	100	99
	<i>S. sp.</i> TP-Snow-C19	HQ327128.1	100	99
	<i>S. saprophyticus</i> strain CTSP24	EU855205.1	100	99
Fbe-10	<i>Staphylococcus</i> sp. BNA-3	GU451172.1	100	99
	<i>Staphylococcus</i> sp. R9-9A	HQ154574.1	100	99
	<i>S. kloosii</i> strain S7-447	JQ660231.1	99	99
	<i>S. kloosii</i> strain S1-421-1	JQ660048.1	99	99
Fbe-11	<i>Staphylococcus</i> sp. CTSP32	EU855210.1	100	100
	<i>S. saprophyticus</i> strain AT7	GU097199.1	100	99
	<i>Staphylococcus</i> sp. WW60	JQ687115.1	100	99
	<i>S. xylosus</i> strain 741	GQ222240.1	100	99
Be-1	<i>Bacillus pumilus</i> AU MB	HQ122449.1	100	99
	<i>Bacillus</i> sp. SCSSS10	FJ461466.1	100	99
	<i>Bacillus safensis</i> KL-052	AY030327.1	100	99
Be-2	<i>Bacillus pumilus</i> Van35	GU290547.1	100	99
	<i>Bacillus</i> sp. SCSSS10	FJ461466.1	100	99
	<i>Bacillus safensis</i> KL-052	AY030327.1	100	99
Be-3	<i>Bacillus pumilus</i> HBP8	DQ275671.1	100	99
	<i>Bacillus</i> sp. SCSSS10	FJ461466.1	100	99
	<i>Bacillus safensis</i> KL-052	AY030327.1	100	99
Be-4	<i>Staphylococcus succinus</i> AT4	GU084442.1	100	99
	<i>Staphylococcus</i> sp. N27	GU086429.1	100	99
	<i>S. saprophyticus</i> CTSP10	EU855227.1	100	99
	<i>Staphylococcus xylosus</i> KL 162	NR_036907.1	99	99

Tablo 6 (devam). Bakteriyal izolatların 16S rRNA gen benzerlikleri.

İzolat	Benzer olduğu bakteriler	GenBank No	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)
Be-5	<i>Pantoea agglomerans</i> EL107	FJ357815.1	100	99
	<i>Pantoea</i> sp. B21	JX010971.1	100	99
	<i>Pantoea conspicua</i> PSB25	HQ242738.1	100	99
	<i>Pantoea anthophila</i> M19_2C	JN644500.1	100	99
Be-6	<i>Staphylococcus</i> sp. CTSP32	EU855210.1	100	99
	<i>S. saprophyticus</i> AT7	GU097199.1	100	99
	<i>Staphylococcus xylosus</i> 741	GQ222240.1	100	99
	<i>S. saprophyticus</i> CMC19	GQ456062.1	100	99
Be-7	<i>Bacillus pumilus</i> Van35	GU290547.1	100	99
	<i>Bacillus</i> sp. SCSSS10	FJ461466.1	100	99
	<i>Bacillus safensis</i> KL-052	AY030327.1	100	99
Be-8	<i>Staphylococcus succinus</i> AT4	GU084442.1	100	99
	<i>S. saprophyticus</i> CTSPL10	GU086429.1	100	99
	<i>Staphylococcus xylosus</i> 741	AY345395.1	100	99
	<i>S. gallinarum</i> S1004	EU621829.1	99	99
Be-9	<i>Pantoea agglomerans</i> EL107	FJ357815.1	100	99
	<i>Pantoea</i> sp. B21	JX010971.1	100	99
	<i>Pantoea conspicua</i> PSB25	HQ242738.1	100	99
Be-10	<i>Bacillus pumilus</i> AU MB	HQ122449.1	100	99
	<i>Bacillus</i> sp. SCSSS10	FJ461466.1	100	99
	<i>Bacillus safensis</i> KL-052	AY030327.1	100	99
Be-11	<i>Bacillus pumilus</i> Van35	GU290547.1	100	99
	<i>Bacillus</i> sp. SCSSS10	FJ461466.1	100	99
	<i>Bacillus safensis</i> KL-052	AY030327.1	100	99
MI-1	<i>S. succinus</i> M1-10	JX094169.1	100	99
	<i>Staphylococcus succinus</i>	AF004219.1	100	99
	<i>Staphylococcus</i> sp. N27	GU086429.1	100	99
	<i>S. saprophyticus</i> CTSPL10	EU855227.1	100	99
MI-2	<i>S. succinus</i> AMG-D1	NR_028667.1	100	99
	<i>Staphylococcus succinus</i> AT4	GU084442.1	100	99
	<i>S. saprophyticus</i> CTSPL10	EU855227.1	100	98
	<i>Staphylococcus</i> sp. SW80	HQ202805.1	100	98
MI-3	<i>S. succinus</i> M1-10	JX094169.1	100	99
	<i>Staphylococcus succinus</i> AT4	GU084442.1	100	99
	<i>S. saprophyticus</i> CTSPL10	EU855227.1	100	99
MI-4	<i>Enterococcus gallinarum</i> R9-1A	HQ154572.1	100	99
	<i>Enterococcus</i> sp. GYPB01	JF346884.1	99	99
	<i>Eubacterium</i> sp. 1275b	AF135452.1	99	99
	<i>Enterococcus gallinarum</i> GH76	JN412816.1	99	99

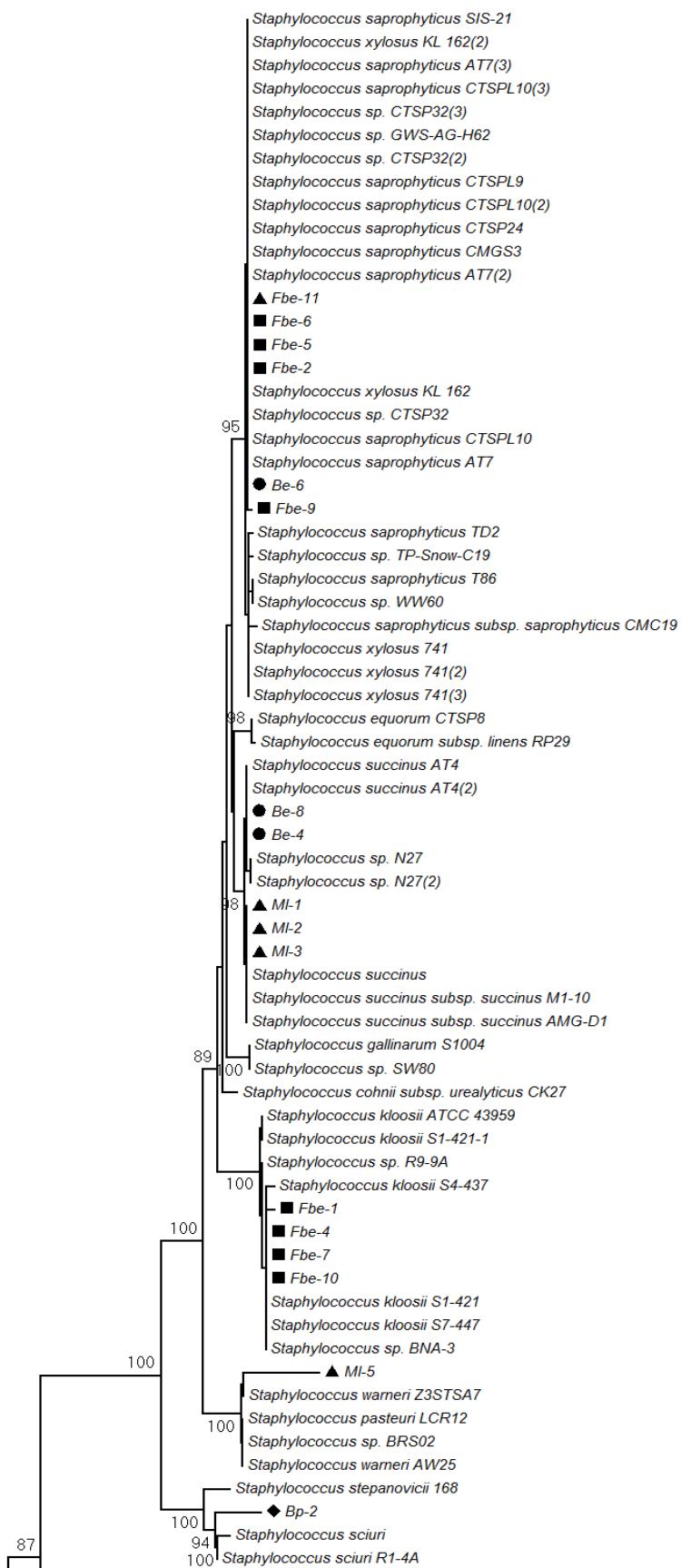
Tablo 6 (devam). Bakteriyal izolatların 16S rRNA gen benzerlikleri.

İzolat	Benzer olduğu bakteriler	GenBank No	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)
Ml-5	<i>S. saprophyticus</i> SIS-21	KF192274.1	99	97
	<i>Staphylococcus</i> sp. CTSP32	EU85520.1	100	97
	<i>S. saprophyticus</i> AT7	GU097199.1	100	97
	<i>Staphylococcus</i> sp.GWS-AG-H62	AY731373.1	100	97
Ml-6	<i>Enterococcus gallinarum</i> R9-1A	HQ154572.1	100	99
	<i>Enterococcus</i> sp. GYPB01	JF346884.1	100	99
	<i>Enterococcus casseliflavus</i> F32	EU151766.1	99	99
Pb-1	<i>Bacillus pumilus</i> SB 3182	GU191909.1	100	99
	<i>B. pumilus</i> MCCC 1A08154	JX680132.1	100	99
	<i>Bacillus pumilus</i> CTSP47	EU855220.1	100	99
Pb-2	<i>Staphylococcus</i> sp. ORG01	AY940424.1	100	99
	<i>Staphylococcus sciuri</i> R1-4A	HQ154558.1	100	99
	<i>Staphylococcus stepanovicii</i> 168	GQ222243.1	100	98
	<i>Staphylococcus sciuri</i>	AB212276.1	100	98
Pb-3	<i>E. mundtii</i> NBRC 13712	AB680486.1	100	99
	<i>Enterococcus</i> sp. NBRC 107190	AB682489.1	100	99
	<i>Enterococcus durans</i> NM78-2	HM218342.1	100	99
	<i>Enterococcus hirae</i> NRIC 0109	AB362598.1	100	99
Pb-4	<i>Alcaligenes faecalis</i> BAB-1832	KF535149.1	100	98
	<i>A. faecalis</i> NBRC 14479	AB680626.1	99	98
	<i>Alcaligenes faecalis</i> Nic-2	HQ161777.1	100	97
	<i>Alcaligenes faecalis</i> KUDC1701	KC414681.1	99	97
Pb-5	<i>Enterobacter cloacae</i> LRC85	JF772064.1	100	99
	<i>Enterobacter cloacae</i> 3YN16	GU549440.1	100	99
	<i>P. agglomerans</i> WAB1870	AM184212.1	100	99
	<i>Pantoea</i> sp. XJ3	GU140078.1	100	99
Pb-6	<i>E. mundtii</i> NBRC 13712	AB680486.1	100	99
	<i>E. mundtii</i> LMG 10748	AJ301836.1	100	99
	<i>E. mundtii</i> CECT972T	AJ420806.1	100	99
	<i>E. mundtii</i> HDYM-33	EF428252.2	100	99
Pb-7	<i>Enterococcus</i> sp. GYPB01	JF346884.1	100	99
	<i>Enterococcus casseliflavus</i> F32	EU151766.1	99	99
	<i>Vibrio fluvialis</i> CIFAMVIFL01	DQ683079.1	100	99
	<i>E. gallinarum</i> Ni1280	AB598971.1	100	99
Pb-8	<i>Enterococcus</i> sp. GYPB01	JF346884.1	100	99
	<i>E. casseliflavus</i> NBRC 3531	AB680105.1	99	99
	<i>Vibrio fluvialis</i> CIFAMVIFL01	DQ683079.1	100	99
	<i>Enterococcus gallinarum</i> R9-1A	HQ154572.1	100	99

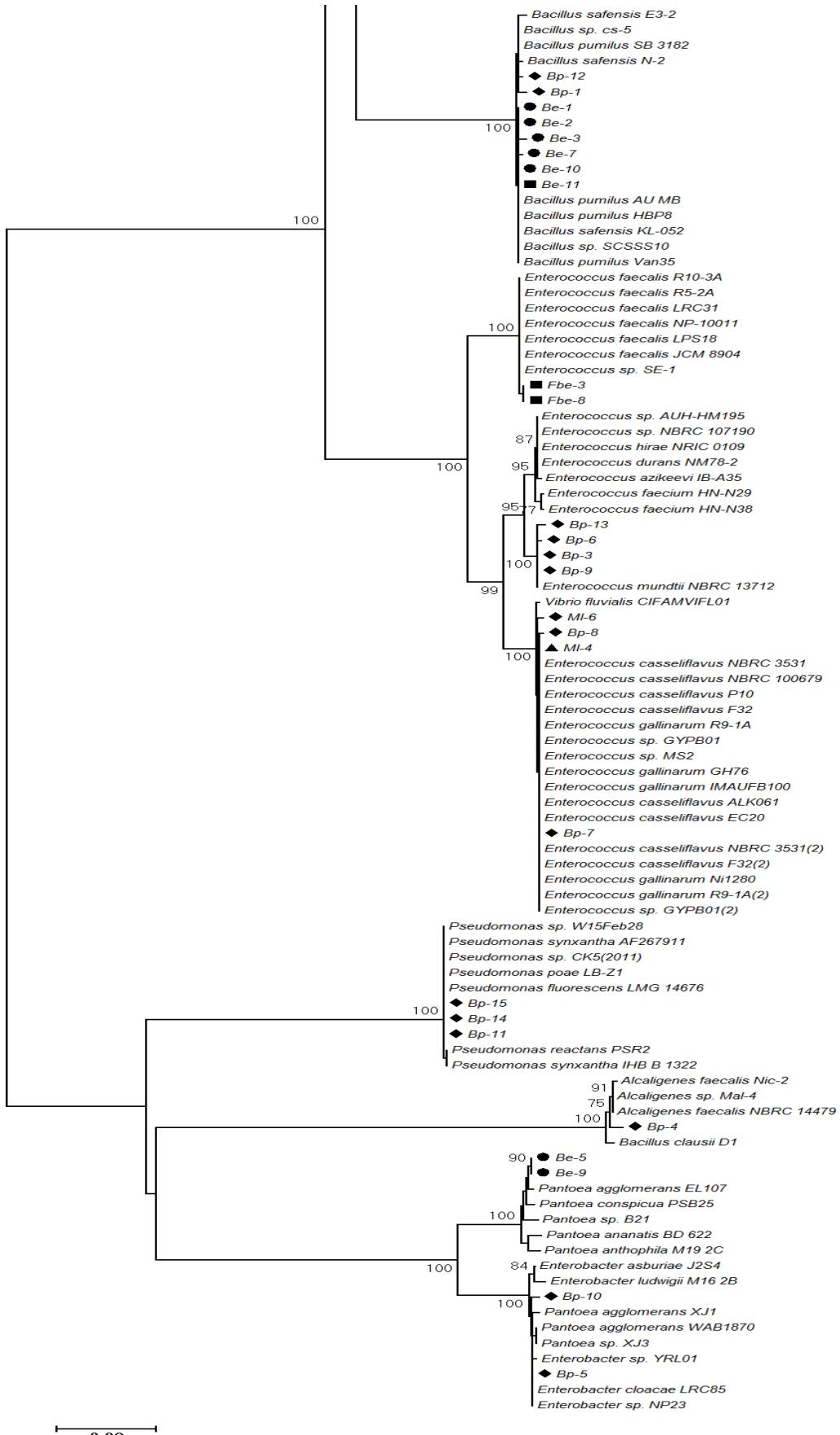
Tablo 6 (devam). Bakteriyal izolatların 16S rRNA gen benzerlikleri.

İzolat	Benzer olduğu bakteriler	GenBank No	Örtüşme (%)	Benzerlik (%)
Pb-9	<i>E. mundtii</i> NBRC 13712	AB680486.1	100	99
	<i>Enterococcus mundtii</i> Tni-9	KF551916.1	100	99
	<i>Enterococcus mundtii</i> LZ78	AB778524.1	100	99
	<i>E. mundtii</i> HDYM-33	EF428252.2	100	99
Pb-10	<i>Enterobacter cloacae</i> LRC85	JF772064.1	100	99
	<i>Enterobacter</i> sp. NP23	JQ231212.1	100	99
	<i>Enterobacter cloacae</i> 3YN16	GU549440.1	100	99
	<i>Enterobacter asburiae</i> J2S4	EU221358.1	100	99
Pb-11	<i>Pseudomonas</i> sp. CK5	JN695712.1	100	99
	<i>P. fluorescens</i> LMG 14676	GU198126.1	100	99
	<i>P. fluorescens</i> LMG 5829	GU198108.1	100	99
	<i>P. fluorescens</i> LMG 5825	GU198107.1	100	99
Pb-12	<i>Bacillus pumilus</i> SB 3182	GU191909.1	100	99
	<i>B. pumilus</i> MCCC 1A08154	JX680132.1	100	99
	<i>Bacillus pumilus</i> CTSP47	EU855220.1	100	99
Pb-13	<i>E. mundtii</i> NBRC 13712	AB680486.1	100	99
	<i>Enterococcus</i> sp. NBRC 107190	AB682489.1	100	98
	<i>Enterococcus durans</i> NM78-2	HM218342.1	100	98
	<i>Enterococcus hirae</i> NRIC 0109	AB362598.1	100	98
Pb-14	<i>P. fluorescens</i> LMG 14676	GU198126.1	100	99
	<i>Pseudomonas</i> sp. W15Feb28	EU681011.1	100	99
	<i>Pseudomonas poae</i> LB-Z1	AB495132.1	100	99
	<i>P. fluorescens</i> LMG 5829	GU198108.1	100	99
Pb-15	<i>Pseudomonas</i> sp. CK5	JN695712.1	100	99
	<i>P. fluorescens</i> LMG 14676	GU198126.1	100	99
	<i>Pseudomonas reactans</i> PSR2	GQ354529.1	100	99
	<i>Pseudomonas gessardii</i> SSB7	JX042465.1	100	99

Fasulye tohum böceği, Börülce tohum böceği, Arpa güvesi ve Patates güvesinden elde edilen bakteriyal iolatlar ile bu izolatların yakın ilişkide oldukları bakteriler ile filogenetik benzerlikleri belirlenmiştir. MEGA programı ile elde edilen dendograma göre izolatların moleküler tür analizleri tespit edilmiştir (Şekil 10).



Şekil 10. Bakteriyel izolatların filogenetik analizi.



Şekil 10 (Devam). Bakteriyel izolatların filogenetik analizi.

Yapılan moleküler karakterizasyon çalışmalarına göre *Acanthoscelides obtectus*'dan izole edilen Fbe-1, Fbe-4, Fbe-7 ve Fbe-10 izolatları *Staphylococcus kloosii*, Fbe-2, Fbe-6, Fbe-9 ve Fbe-11 izolatları *Staphylococcus* sp., Fbe-3 ve Fbe-8 izolatları *Enterococcus faecalis*, Fbe-5 izolatı ise *Staphylococcus saprophyticus* olarak tanımlanmış ve GenBank kabul numaraları alınmıştır (Tablo 7).

Callosobruchus maculatus' dan izole edilen Be-1, Be-2, Be-3, Be-7, Be-10 ve Be-11 izolatları *Bacillus pumilis*, Be-4, Be-6 ve Be-8 izolatları *Staphylococcus* sp., Be-5 ve Be-9 izolatları *Pantoea* sp. olarak tanımlanmış ve GenBank kabul numaraları alınmıştır (Tablo 7).

Sitotroga cerealella' dan izole edilen Ml-1, Ml-2 ve Ml3 izolatları *Staphylococcus succinus*, Ml-4 ve Ml-6 izolatları *Enterococcus* sp., Ml-5 izolatı ise *Staphylococcus* sp. olarak tanımlanmış ve GenBank kabul numaraları alınmıştır (Tablo 7).

Phthorimaea operculella' dan izole edilen Pb-1 ve Pb-12 izolatları *Bacillus* sp., Pb-2 izolatı *Staphylococcus sciuri*, Pb-3, Pb-6, Pb-9 ve Pb-13 izolatları *Enterococcus mundtii*, Pb-4 izolatı *Alcaligenes faecalis*, Pb-5 izolatı *Enterobacter* sp., Pb-7 ve Pb-8 izolatları *Enterococcus casseliflavus*, Pb-10 izolatı *Pantoea agglomerans*, Pb-11, Pb-14 ve Pb-15 izolatları ise *Pseudomonas fluorescens* olarak tanımlanmış ve GenBank kabul numaraları alınmıştır (Tablo 7).

Tablo 7. Bakteriyal izolatlarının tür tayini ve GenBank kabul numaraları sonuçları.

İzolatlar	Tanımlanan Türler	GenBank Kabul Numaraları
Be-1	<i>Bacillus pumilus</i>	KJ888101
Be-2	<i>B. pumilus</i>	KJ888102
Be-3	<i>B. pumilus</i>	KJ888103
Be-4	<i>Staphylococcus</i> sp.	KJ888104
Be-5	<i>Pantoea</i> sp.	KJ888105
Be-6	<i>Staphylococcus</i> sp.	KJ888106
Be-7	<i>B. pumilus</i>	KJ888107
Be-8	<i>Staphylococcus</i> sp.	KJ888108
Be-9	<i>Pantoea</i> sp.	KJ888109
Be-10	<i>B. pumilus</i>	KJ888110
Be-11	<i>B. pumilus</i>	KJ888111
Fbe-1	<i>Staphylococcus kloosii</i>	KJ888112
Fbe-2	<i>Staphylococcus</i> sp.	KJ888113
Fbe-3	<i>Enterococcus faecalis</i>	KJ888114
Fbe-4	<i>S. kloosii</i>	KJ888115
Fbe-5	<i>S. saprophyticus</i>	KJ888116
Fbe-6	<i>Staphylococcus</i> sp.	KJ888117
Fbe-7	<i>S. kloosii</i>	KJ888118
Fbe-8	<i>E. faecalis</i>	KJ888119
Fbe-9	<i>Staphylococcus</i> sp.	KJ888120
Fbe-10	<i>S. kloosii</i>	KJ888121
Fbe-11	<i>Staphylococcus</i> sp.	KJ888122
Ml-1	<i>Staphylococcus succinus</i>	KJ888123
Ml-2	<i>S. succinus</i>	KJ888124
Ml-3	<i>S. succinus</i>	KJ888125
Ml-4	<i>Enterococcus</i> sp.	KJ888126
Ml-5	<i>Staphylococcus</i> sp.	KJ888127
Ml-6	<i>Enterococcus</i> sp.	KJ888128
Pb-1	<i>Bacillus</i> sp.	KJ888129
Pb-2	<i>Staphylococcus sciuri</i>	KJ888130
Pb-3	<i>Enterococcus mundtii</i>	KJ888131
Pb-4	<i>Alcaligenes faecalis</i>	KJ888132
Pb-5	<i>Enterobacter</i> sp.	KJ888133
Pb-6	<i>Enterococcus mundtii</i>	KJ888134
Pb-7	<i>E. casseliflavus</i>	KJ888135
Pb-8	<i>E. casseliflavus</i>	KJ888136
Pb-9	<i>E. mundtii</i>	KJ888137
Pb-10	<i>Pantoea agglomerans</i>	KJ888138
Pb-11	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	KJ888139
Pb-12	<i>Bacillus</i> sp.	KJ888140
Pb-13	<i>E. mundtii</i>	KJ888141
Pb-14	<i>P. fluorescens</i>	KJ888142
Pb-15	<i>P. fluorescens</i>	KJ888143

4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Doğada birçok zararlı böcek türü vardır. Bu türler, özellikle ürün kayıplarına sebep olmakta, insan ve hayvan sağlığı yönünden tehlike oluşturmaktadır. Dünyada üretilen meyve, sebze, tahıl, yaşı ve kuru her türlü gıda maddelerinin, sanayi hammaddelerinin ve depolanmış ürünlerin, kürk, deri ve kumaş gibi maddelerin her yıl yaklaşık %15-20' si böceklerden zarar görmekte ve kullanılamaz hale gelmektedir. Günümüzde gelişmiş ülkelerde tarım ve ormancılıkta kalite ve ürün miktarının artırılmasına yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bunların en önemlileri zararlı böceklerin, zararlarının ortadan kaldırılması veya en aza indirilmesine yönelik olarak yapılan zirai mücadele çalışmalarıdır. Günümüzde zararlı böceklerle mücadele çeşitli yollarla yapılmasına rağmen, daha etkili, çevreye zararları daha az olan ve daha ekonomik mücadele yöntemleri araştırılmaya devam edilmektedir (Demirbağ vd., 2008).

Bu nedenle hem dünyada hem de ülkemizde biyolojik mücadele çalışmaları her geçen gün daha da önem kazanmaktadır ve mücadele ile ilgili çalışmaların bu yöne kaymasına sebep olmaktadır. Moleküler biyoloji, genetik mühendisliği ve biyoteknoloji alanındaki yeni bilimsel buluşlar ve gelişmeler hastalık ve zararlara biyolojik mücadelede önemli gelişmelere sebep olmuştur (Kotan, 2002; Dadaşoğlu, 2007).

Bugüne kadar böcekler ile ilişkili olan bakteriler üzerine yapılan çalışmalarla böcek-mikrobiyal patojen ilişkisi üzerinde duruldu ve nihayet dünya çapında pek çok zararlı böceği kontrol etmek için mikrobiyal insektisitler üretildi. Ancak son zamanlarda bakteriyel simbiyotların genetik mühendisliği ile geliştirilebilmeleri nedeni ile simbiyot bakterilerin mikrobiyal kontrol ajansı olarak kullanımlarında bir ışık açmıştır ve bu yüzden böcek gastrointestinal mikrobiyal toplulukları çalışmaları hız kazanmıştır. Her iki yaklaşımında da ilk adım, hedef böcekler ile ilişkili bakteri türlerinin belirlenmesidir. Bu nedenle bu çalışmada depolanmış ürün zararlara karşı daha etkin ve güvenli mikrobiyal mücadele etmenlerinin bulunması amacıyla *Acanthoscelides obtectus* (Say.), *Callosobruchus maculatus* (F.), *Sitotroga cerealella* (Oliv) ve *Phthorimaea operculella* (Zeller)' bakteriyal floraları belirlenmiştir.

Literatürde depo ürün zararlılarının bakteriyel çeşitlilik çalışmaları çok sınırlıdır. Kumari vd. (2011), kırmızı un böceği (*Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) mikroflorasını çalışmış ve bizim çalışmamıza benzer olarak *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cereus*, *Escherichia coli* ve *Enterobacter* sp. dahil olmak üzere farklı bakteriler izole etmiştir. Behar vd. (2010), *Rickettsia felis* ile enfekte olmuş *Liposcelis bostrychophila* (Badonnel) (Psocoptera: Liposcelidae)'da çalışılmışlardır. Lakshmikantha vd. (2006), depolanan ürün zararlılarından birçok *Enterococcus* türü (*E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus*) izole etmiştir. Bu çalışmada, *A. obtectus*, *C. maculatus*, *S. cerealella* ve *P. operculella* olmak üzere dört depolanan ürün zararlılarından toplamda 43 bakteriyel tür izole edilmiştir. Örneğin *B. pumilus*, *Pantoea* sp., *S. kloosii*, *S. saprophyticus*, *S. succinus*, *S. sciuri*, *E. mundtii*, *A. faecalis*, *S. agglomerans* ve *P. fluorescens* suşları depolanan ürün zaralılarda ilk kez izole edilmiştir.

Bacillus cinsi gram pozitif çubuk şeklindeki bakterileri içeren serbest yaşayan (non-patojenik) ve patojenik türleri (Madigan ve Martingo, 2005) de ihtiva eden bir cinstir. Bu cins dahilinde, böcekler ilgili olan birçok bakteri türü bulunmaktadır. En iyi bilinen örnekleri *B. thuringiensis*, *B. popilliae* ve *B. sphaericus*'dur (Stahly vd., 2006). Bu çalışmada altı tanesi *C. maculatus*, iki tanesi *P. operculella*'dan izole edilen toplamda sekiz *Bacillus* suşu izole dılmıştır. Yine *C. maculatus*'dan izole edilen altı suşun tümü *B. pumilus* olarak, *P. operculella*'dan izole edilen iki suş *Bacillus* sp. olarak tanımlanmıştır. *B. pumilus*, özellikle toprakta ve ölü bitki dokularında bol miktarda bulunan bir bakteridir (Priest, 1993). Molina vd. (2010), da göstermiştir ki bu bakteri *Ceratitis capitata* larvaları (Weidemann) (Diptera: Tephritidae) için toksiktir. Bu çalışma ile, biz de *Bacillus* cinsinin patojenik veya simbiyotik şekillerde, depolanan ürün zararlıları ile ilişkili olabileceğini göstermiş olduk. Her iki ilişkide, bu suşların bu zararlıların kontrolünde kullanılmak için kayda değer bir potansiyeli vardır. Patojenik olanlar için kolay yetiştirebileceği, genetik değişikliğinin kolay olduğu ve kolay seri üretimleri göz önüne alınabilir. Simbiyotik olan içinse bakteriler yeniden konak böceği aktarılabilir.

Staphylococcus cinsi üyeleri gram pozitif yuvarlak, üzüm gibi kümeler halinde görünen mikroorganizmalardır (Ryan ve Ray, 2004). Bu cinsin üyelerinin çoğu zararsızdır ve normalde insan ve diğer canlıların cilt ve mukozal membranlarında bulunurlar (Madigan ve Martinko, 2005). Son zamanlarda, böcekler ile bazı *Staphylococcus* cinsi üyeleri arasındaki ilişkiyi gösteren birkaç kanıtlar vardır. Günümüze kadar birçok *Staphylococcus* türüörneğin *Staphylococcus* sp., *S. aureus*, *S. carnosus*, *S. xylosus*, *S. warneri*, *S. gallinarum*, *S. scirui* ve *S. kloosii* Homoptera, Diptera ve Lepidoptera gruplarına ait farklı böceklerden izole edilmiştir (Osborn vd., 2002; Yu vd., 2008; Kuzina vd., 2001; Sevim vd., 2012b; Demirci vd., 2013). Bu çalışmada, depolanan ürün zararlardan toplamda 17 *Staphylococcus* türü izole edilmiştir. Börülce tohum böceğiinden (*C. maculatus*) 3 adet izole edilen *Staphylococcus* cinsinin hepsi *Staphylococcus* sp. olarak tanımlanmıştır. Fasulye tohum böceğiinden (*A. obtectus*) 9 adet *Staphylococcus* cinsi izole edilmiş ve bunlardan 4'ü *S. kloosii*, 4'ü *Staphylococcus* sp. ve bir tanesi ise *S. saprophyticus* olarak tanımlanmıştır. Mısır güvesi larvalarından (*S. cerealella*) 4 adet *Staphylococcus* türü izole edilmiş ve bunların 3'ü *S. succinus*, biri ise *Staphylococcus* sp. olarak tanımlanmıştır. Patates güvesi larvalarından (*P. operculella*) *S. sciuri* olarak tanımlanan bir *Staphylococcus* türü izole edilmiştir. Tüm bu çalışmalar *Staphylococcus* türlerinin patojenikten zorunlu mutalizme kadar farklı yollarda böcekler ile yakından ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu cinsin patojenik özelliklerini gösteren bir bulgu yoktur. Danışmazoğlu vd. (2012), *S. pasteurii*'nin laboratuar koşullarında *Agriotes lineatus*'a (Elateridae Coleoptera) karşı önemli bir ölüme neden olduğunu göstermiştir. Son günlerde, restriksiyon-modifikasyon sistemlerindeki son gelişmeler genetik olarak *Staphylococcus* cinsinin bazı üyelerinin büyük ölçüde manipüle olabileceği gösterdi (Monk ve Foster, 2012). Bu çalışmada, *Staphylococcus* türleri depollanmış ürün zararları ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Bu çalışma boyunca izole edilen bazı suşlar genetik olarak modifiye edilebilir ve böcek toksik proteinlerinin ekspresyonu için konak hücre olarak kullanılabilir.

Bu tez çalışmasından Enterobacteriaceae familyasından 4 adet tür izole edilmiştir. Börülce tohum böceğiinden 2 adet *Pantoea* sp., patates güvesi larvalarından ise bir adet *P. agglomerans* ve bir adet *Enterobacter* sp., izole edilip tanımlanmıştır. Enterobacteriaceae ailesi, birçok zararsız simbiyont ve *Salmonella*, *Escherichia coli*,

Serratia ve *Enterobacter* gibi bazı patojenlerinde de dahil olduğu, gram negatif bakterilerin büyük bir ailesidir (Don vd., 2005). Bu aile aynı zamanda *Serratia marcescens* ve *Enterobacter aerogenes* gibi önemli böcek patojeni olan türleride içerir (Bulla vd., 1975). Birçok böcek türünden *Pantoea agglomerans* ve *Enterobacter* sp. izolasyonu gösteren birçok çalışma vardır (Sevim vd., 2012b; Demirci vd., 2013; Çakıcı vd., 2014). Bu çalışmalar baz alınarak, Enterobacteriaceae ailesinin böcek bağırsak florasının yaygın üyeleri olduğu ve çoğu böcek türlerinin kontrolünde transgenik suşlar üretmek için genetik mühendisliği kullanımlarında uygun aday oldukları söylenebilir. Watanabe vd. (2000), ice-nucleation (*inA*) genini klonlamışlar ve *Enterobacter cloaceae* transforme etmişlerdir. *Glypodes duplicalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvalarını transjenik *Enterobacter cloaceae* suşları ile enfekte edilmiş dut yaprakları ile besleyerek soğuğa karşı test etmişlerdir. İce-nucleation geni bir protein kodlar ve bu protein membranlada birikerek donma olayını hızlandırır. Yapılan çalışma sonucunda -5°C'de kontrol grubu yaşarken, tranjenik suşu içeren larvaların olduğu gösterilmiştir. Bir başka çalışmada, *Bacillus thuringiensis* Cyt1A toksini (sivrisinek ve kara sinek larvalarına karşı öldürücü bir sitolitik protein toksin olan) *Enterobacter gergoviae* klonlanmıştır ve transgenik suşun tarımsal böcek popülasyonları Cyt1A genini yaymak için kullanılabileceği ileri sürülmüştür (Kuzina vd., 2002). Bu tez çalışması boyunca izole edilen Enterobacteriaceae familyasına ait tüpler zararlı böceklerin kontrolü için uygun olabilen yabancı genlerin sentezlenmesinde aday organizmalar olarak kullanılabilirler.

Bu tez çalışması sırasında en sık izole edilen bakteri türleri *Enterococcus* cinsine aittir. Bu cins Gram pozitif koklar şeklinde gözükürler ve çoğulukla çiftler ya da kısa zincirler meydana getirirler. Bu cinsin iki türün (*E. faecalis* ve *E. faecium*) insan bağırsaklarında yaygın olarak bulunurlar. Bu cinsin bazı türleri örneğin *E. casseliflavus*, *E. gallinarum* ve *E. raffinosus* insanlarda enfeksiyonlara neden olurlar (Gilmore vd., 2002). Bu cinsin bazı üyeleri böcekler ile yakından ilişkilidir (Martin ve Mundt, 1972; Sevim vd., 2010; Danişmazoğlu vd., 2012). Lakshmikantha vd. (2006), depolanmış ürün zararlılarına birçok *Enterococcus* türü (*E. gallinarum*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. casseliflavus*) izole etmiştir. Bu tez çalışmasında toplamda 10 adet *Enterococcus* türü izole edilip tanımlanmıştır. 2 adet *E. faecalis* türü fasulye tohum böceğiinden, 2 adet *Enterococcus* sp. türü misir güvesi larvalarından, 4 adet *E. mundtii*, 2 adet *E.*

casseliflavus ve 1 adet *Enterococcus* sp. patates güvesinden tanımlanmıştır. Bu çalışmada çoğunlukla diğer çalışmalardaki türlere benzer türler izole edilmiştir.

Alcaligenes cins gram negatif ve çubuk şeklindeki bakteri türlerini içerir. Bu cinsin en yaygın türü *A. faecalis*'tir ve yaygın olarak omurgaların bağısal kanalında, çürüyen malzemelerde, günlük süt ürünlerinde, su ve toprakta bulunur (Busse ve Stolz, 2006). *A. faecalis* bir çok böcek türünden örneğin *Ips sexdentatus* (Boern) (Coleoptera: Curculionidae), *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) ve *Tapinoma melanocephalum* (Fabricius) (Hymenoptera: Formicidae) izole edilmiştir (Sevim vd., 2012a; Secil vd., 2012; Pesquero vd., 2012). Bu tez çalışmasında da bir adet *A. faecalis* türünü patates güvesi larvasından (*P. operculella*) izole etdilip tanımlanmıştır.

Pseudomonas fluorescens gram negatif çubuk şeklinde, birden fazla kamçıyla sahip su ve toprak gibi farklı çevrelerde bulunabilen bir bakteri türüdür (Palleroni, 1984). Bu tür aynı zamanda *Fusarium* ve *Pythium* gibi patojenik mantarlara karşı bazı bitki türlerinin köklerini koruyarak biyo-kontrol özelliğine sahiptir (Haas ve Keel, 2003). Bu tür bazı bitki türlerine kolonize olabilir ve bu özelliğinden dolayı biyolojik kontrol açısından genetik mühendisliği çalışmaları için uygun bir adaydır. Herrera vd. (1994), şeker kamişi bitkisine kolonize olabilen *P. fluorescens*'e *Cry1A* genini klonladı. Bu çalışma sonucundan, transgenik *P. fluorescens* bakterilerinin kolonize olduğu şeker kamişi bitkisi, transjenik *P. fluorescens* ile kolonize olmamış kontrol grubuna göre *Eldana saccharina* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae) karşı daha fazla dirençli hale geldiği tespit edildi. Wenwei vd. (2010), akrep böcek toksini (AaHIT1) klonladıkları transjenik *P. fluorescens*'in insektisidal aktivite gösterdiğini ve aynı zamanda bitki patojenlerine karşı da aktivitesini koruduğunu göstermişlerdir. Bu bakteride böcekler ile simbiyotik ilişki içerisinde olabilir, çünkü birçok böcek türünden izole edilmiştir (Danışmazoğlu vd., 2012; Sevim vd., 2012a; Sevim vd., 2012b). Bu çalışmada da, patates güvesinden 3 adet *P. fluorescens* bakterisi izole edilip tanımlanmıştır.

Böcek bağırsağında yaşayan simbiyotik bakteriler çok farklı süreçlerde önemli roller oynamaktadır. Bu bakteriler, bazı amino asitler ve temel vitaminler salgılayarak böceğin beslenmesindeki eksiklikleri giderebilmektedirler. Böceklerin bağırsak

bakterileri aynı zamanda böcek doğal düşmanları ve paraziotoitlere karşı böceğe direnç sağlarlar. Bazı bağırsak bakterilerinin ev sahibi böceğiin yaşama süresinin uzun olması ve böcek davranışları üzerinde etkisi olduğu rapor edilmiştir (Sanchez-Contreras ve Vlisidou, 2008). Ayrıca, bazı bağırsak bakterileri yaprak sindirimini için selüloz ve pektin gibi yardımcı sindirim enzimleri üreterek böcek beslenmesine yardımcı olurlar (Dillon ve Dillon, 2004). Bu çalışmada, biz depolanan ürün böceklerinden birçok farklı bakteri türü izole ettik ve bu depolanmış ürün böceklerinde bağırsak bakterilerinin rolünü anlamak için önemli bir adımdır.

5. ÖNERİLER

Bu çalışmada depolanmış ürün zararlılarından *Acanthoscelides obtectus* (Say.), *Callosobruchus maculatus* (F.), *Sitotroga cerealella* (Oliv) ve *Phthorimaea operculella* (Zeller)' e karşı daha etkin ve güvenli mikrobiyal mücadele etmenlerinin bulunması açısından zararlıların bakteriyal floraları belirlenmiştir. Bu çalışmanın devamı olarak *A. obtectus*, *C. callosobruchus*, *S. cerealella* ve *P. Operculella* larva ve erginlerinden elde edilen bakteriyal izolatlar bu zararlara karşı denenebilir. Bu zararlara karşı yüksek aktivite gösteren suşların mikrobiyal mücadele etmeni olarak kullanılabilmesi için daha detaylı bioassay çalışmalarının yapılması ve LC₅₀, LT₅₀, LC₉₀ değerlerinin hesaplanması gerekmektedir. Ayrıca bu zararlardan elde edilen suşların güvenilirlik testlerinin (faydalı böcekler, memelilere ve kuşlara karşı toksisite testleri vs.) yapılması gerekmekte ve çalışmada belirlenen simbiyotik bakterilerin genetik mühendisliği yöntemi ile geliştirilerek zararının mücadeleinde kullanılma potansiyelleri araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abate, T. and Ampofo, J. K. O., 1996.** Insect pests of beans in Africa. Annual Review of Entomology, 41, 45–73.
- Akbahık, G., 2003.** Screening for Industrially Important Extracellular Enzymes from Alkalophilic *Bacillus* Genus. Yüksek Lisans Tezi. İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, İzmir, Türkiye, 99s, 27.
- Anonim, 2007a.** Zirai Mücadele Teknik Talimatı. T. C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Yemeklik Baklagil Hastalık ve Zararlıları.
- Anonim, 2007b.** T.C. Millî Eğitim Bakanlığı, MEGEP (Meslekî Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi), Bahçecilik Mücadele Yöntemleri, Ankara.
- Arslan, N., Yılmaz, G., Aknerdem, F., Özgüven, M., Kırıcı, S., Arıoğlu, H., Gümüşçü, A. ve Telci, E., 2000.** Nişasta-Şeker Tütün ve Tibbi-Aromatik Bitkilerinin Tüketim Projeksiyonları ve Üretim Hedefleri. V. Türkiye Ziraat Mühendisliği Kongresi, 17-21 Ocak 2000, Ankara, s 453-485.
- Azkan, N., 1994.** Yemeklik Tane Baklagiller. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayıncı, Ders Notları No: 40, Bursa. Türkiye.
- Beard, C.B., Mason, P.W., Aksoy, S., Tesh, R.B. and Richards, F.F., 1992.** Transformation of an insect symbiont and expression of a foreign gene in the Chagas' disease vector *Rhodnius prolixus*. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 46, 195-200.
- Behar, A., McCormick, L.J. and Perlman, S.J., 2010.** *Rickettsia felis* infection in a common household insect pest, *Liposcelis bostrychophila* (Psocoptera: Liposcelidae). Applied Environmental Microbiology, 76, 2280-2285.
- Boxall, R.A., 2001.** Post-harvest losses to insect-a world overview. International Biodeterioration and Biodegradation, 48, 137-152.
- Bulla, L.A., Rhodes, R.A. and Julian, G.S., 1975.** Bacteria as insect pathogens. Annual Review Microbiology, 29, 163-190.
- Burges, H.D., 1982.** Control of insects by bacteria. Parasitol, 84, 79-117.
- Busse, H.J. and Stolz, A., 2006.** A Handbook on the Biology of Bacteria: Proteobacteria: Alpha and Beta Subclasses. The Prokaryotes, 5, 675-700. DOI:10.1007/0-387-30745-1
- Carlisle, G.E. and Falkingham, J.O., 1989.** Enzyme activities and antibiotic susceptibility of colonial variants of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*. Applied Environmental Microbiology, 55, 3026-8.

Cawoy, H., Bettoli, W., Fickers, P. and Ongena, M., 2011. *Bacillus*-Based Biological Control of Plant Diseases, Pesticides in the Modern World - Pesticides Use and Management, 273-302.

Claus, M., 1992. A standardized gram staining procedure. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 8, 451–452.

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

Çelebi, Ö., 2012. *Eurygaster integriceps* (Put.) (Hemiptera: Scutelleridae) 'in Bakteriyal Florasının Ve Mikrobiyal Mücadele Etmenlerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Recep Tayip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize, Türkiye, 95s., 46.

Dadaoğlu, F., 2007. Sera ve Tarla Zararlara Karsı Etkili Biyoajan Bakteri Strainlerinin İzolasyonu Ve Tanısı. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Türkiye, 100s., 51.

Danismazoglu, M., Demir, I., Sevim, A., Demirbag, Z. And Nalcacioglu, R., 2012. An investigation on the bacterial flora of *Agriotes lineatus* (Coleoptera: Elateridae) and pathogenicity of the flora members. *Crop Protection*, 40, 1-7.

Davis, D. W., Oelke, E. A., Oplinger, E. S., Doll, J. D., Hanson, C. V. and Putnam, D. H., 1991. Cowpea. University of Minnesota. Center for Alternative Plant and Animal Products and the Minnesota Extension Service.

Demirbağ, Z., Nalçacıoğlu, R., Katı, H., Demir, İ., Sezen, K. ve Ertürk, Ö., 2008. Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele. Esen Ofset Matbaacılık, 15-30.

Demirci, M., Sevim, E., Demir, İ. and Sevim, A., 2013. Culturable bacterial microbiota of *Plagiодera versicolora* (L.) (Coleoptera: Chrysomelidae) and virulence of the isolated strains. *Folia Microbiologica*, 58, 201-210.

Dillon, R.J. and Dillon, V.M., 2004. The gut bacteria of insects: Nonpathogenic interactions. *Annual Review Entomology*, 49, 71-92.

Don, J.B., Krieg, N.R. and Staley, J.T., 2005. The Gammaproteobacteria. In: Garrity GM (ed) Bergey's manual of systematic bacteriology, 2nd 401 ed, Springer, New York, s 1108.

Donahaye, E.J. and Messer, E., 1992. Reduction in grain storage losses of small-scale farmers in tropical countries. Research Report RR-91-7, The Allan Shaw Feinstein World Hunger Program, Brown University, USA, 19s.

Donahaye, E.J., 2000. Current status of non- residual control methods against stored product pests. *Crop Protection*, 19, 571-576.

- Eilenberg, J., Hajek, A. and Lomer, C., 2001.** Suggestions for Unifying the Terminology in Biological Control, *Biocontrol*, 46, 387-400.
- Elçi, S., Kolsarıcı, Ö. ve Geçit., H.H., 1994.** Tarla Bitkileri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayıńı, 1385, 1-25.
- Er, C. ve Uranbey, S., 1988.** Nişasta ve Şeker Bitkileri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayıńı, 1504, 458.
- Evans, A. and H.E. Gridley., 1979.** Project for the Improvement of Protein and Yield in Food Legumes., 32, 1-47.
- Gilmore, M.S., Clewell, D.B., Courvalin, P., Dunny, G.M., Murray, B.E. and Rice, L.B., 2002.** The Enterococci: Pathogenesis, 406 molecular biology, and antibiotic resistance and infection control, American Society for Microbiology Press, Washington.
- Gökçe, C., Sevim, A., Demirbağ, Z. ve Demir, İ., 2009.** *Rhynchites bacchus* L., (Coleoptera: Rhynchitidae)' dan İzole Edilen Bakterilerin Tanımlanması ve Zararlı Üzerindeki Etkileri. Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi, Van, 15-18 Temmuz 2009, 342.
- Gülümser, A. ve Peşken, E., 2005.** Bazı Fasulye Genotiplerinde Verim ve Verim Unsurları Arasındaki İlişkiler ve Path Analizi. OMÜ Zir. Fak. Dergisi, 20(3), 82-87.
- Haas, D. and Keel, C., 2003.** Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. *Annual Review of Phytopathology*, 41, 117-153.
- Hall, T.A., 1999.** BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/ 98/NT. *Nucleic Acids Symposium*, 41, 95-98.
- Harada, H. and Ishikawa, H., 1997.** Experimental pathogenicity of *Erwinia aphidicola* to pea aphid, *Acyrthosiphon pisum*. *Journal of General and Applied Microbiology*, 43, 363-367.
- Hepdurgun, B., Çeliker, M., Turanlı, T., Demir, G., Üstün, N. ve Güneş, A., 2005.** Zeytinde Entegre Mücadele, 3. Baskı, Emre Basımevi, İzmir, Türkiye.
- Herrera, G., Snyman, S.J. and Thomson, J.A., 1994.** Construction of a bioinsecticidal strain of *Pseudomonas fluorescens* active against the Sugarcane Borer, *Eldana saccharina*. *Applied Environmental Microbiology*, 60, 682-690.
- Hols, P., Ferain, T., Garmyn, D., Bernard, N. and Delcour, J.. 1994.** Use of homologous expression-secretion signals and vector-free stable chromosomal integration in engineering of *Lactobacillus plantarum* for alpha-amylase and levanase expression. *Applied Environmental Microbiology*, 60, 1401-13.

Ishikawa, H., 2003. Insect symbiosis: An introduction. In: Bourtzis K, Miller TA (eds) Insect symbiosis. Chemical Rubber Company Press, New York, 1–22.

Ingabire, J.P., Hategkimana, A., Bhuvaneswari, K., Mohan, S. and Ganapathy, S., 2013. Management of Pulse Beetle, *Callosobruchus maculatus* (F) Population by Nitrogen Based Modified Atmosphere. Journal of Entomology and Zoology Studies, 1 (5), 48-52.

İşçi, Ş., 2009. *Gryllotalpa Gryllotalpa*'nın Bakteriyal Florasının ve Biyolojik Mücadele Ajanlarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye, 87s, 25.

Jette, J.F. and Ziomek, E., 1994. Determination of lipase activity by a rhodamine-triglyceride-agarose assay. Analytical Biochemistry, 219, 256-60.

Jovanovic, Z., Kostic, M. and Popovic, Z., 2007. Grain-protective properties of herbal extracts against the bean weevil *Acanthoscelides obtectus* Say. Industrial Crops and Products an International Journal, 26, 100-104.

Kamala T. and Indira, S., 2011. Evaluation of indigenous *Trichoderma* isolates from Manipur as biocontrol agent against *Pythium aphanidermatum* on common beans. 3 Biotech, 1(4), 217-225. doi: 10.1007/s13205-011-0027-3.

Karabörklü, S. ve Ayvaz, A., 2007. Soğukta Depolamanın Farklı Konukçularda Yetişen *Trichogramma evanescens* Westwood (HYM: Trichogrammatidae)'in Farklı Evreleri Üzerine Etkileri. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 23, 30-36.

Kotan, R., 2002. Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarından izole edilen patojen ve saprofitik bakteriyel organizmaların klasik ve moleküler metodlar ile tanısı ve biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Türkiye, 217s, 45.

Kumari, P., Sivadasan, R. And Jose, A. 2011. Microflora associated with the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Agricultural Technology, 7, 1625-1631.

Kuzina, L.V., Miller, E.D., Ge, B.X. and Miller, T.A., 2002. Transformation of *Enterobacter gergoviae* isolated from pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae) gut with *Bacillus thuringiensis* toxin. Current Microbiology, 44, 1-4.

Kuzina, L.V., Peloquin, J.J., Vacek, D.C. and Miller, T.A., 2001. Isolation and identification of bacteria associated with adult laboratory Mexican fruit flies, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). Current Microbiology, 42, 290- 294.

Lacey, L., A. and Goettel, M., S., 1995. Current Developments in Microbial Control of Insect Pests And Prospects for The Early 21st Century, Entomophaga, 40, 3-27.

- Lakshmikantha, H.C., Subramanyam, B.H., Larson, Z.A. and Zurek, L., 2006.** Association of *Enterococci* with stored products and stored-product insects: Medical importance and implications. Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored-Product Protection. PS 2-4, 140-149.
- Lal, D. and Raj, D.V., 2012.** Efficacy of Application of four Vegetable Oils as Grain Protectant against the Growth and Development of *Callosobruchus maculatus* and on its Damage. Advances in Bioresearch Journal, 3 (2), 55-59.
- Madigan, M. and Martinko, J., 2005.** Brock biology of microorganisms (11th ed.). Prentice Hall.
- Martin, J.D. and Mundt, J.O., 1972.** Enterococci in insects. Applied Microbiology, 24, 575-580.
- Medina, F., Li, H., Vinson, S.B. and Coates, C.J., 2009.** Genetic transformation of midgut bacteria from the red imported fire ant (*Solenopsis invicta*). Current Microbiology, 58, 478–482.
- Molina, C.A., Cana-Roca, J.F., Osuna, A. and Vilchez, S., 2010.** Selection of a *Bacillus pumilus* strain highly active against *Ceratitis capitata* (Wiedemann) Larvae. Applied Environmental Microbiology, 76, 1320-1327.
- Monk, I.R. and Foster, T.J., 2012.** Genetic manipulation of Staphylococci – breaking through the barrier. Frontiers Celluar and Infection Microbiology, 2, 1-9.
- NCCLS, National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997.** Performance standards for antimicrobial susceptibility tests, 6th ed., Wayne PA.
- Osborn, F., Berlioz, L., Vitelli-Flores, J., Monsalve, W., Dorta, B. and Lemoine, V.R., 2002.** Pathogenic effects of bacteria isolated from larvae of *Hylesia metabus* Crammer (Lepidoptera: Saturniidae). Journal of Invertebrate Pathology, 80, 454-12.
- Özer, M. ve Yücel, A., 1989.** Güneydoğu Anadolu Bölgesinde zararlı baklagillerde zararlı baklagil tohum böcekleri, yayılışları, en önemli türün biyo-ekolojisi ve savaş yöntemleri. DOA Türk. Tarım Ormancılık Dergisi, 13, 361–381.
- Palleroni, N.J., 1984.** Pseudomonadaceae. In: Krieg NR and Holt JG (eds) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Baltimore: The Williams and Wilkins Company, s 141-199.
- Pesquero, M.A., Carneiro, L.C. and Pires, D.D.J., 2012.** Insect/Bacteria association and nosocomial infection. In: Kumar MY (ed) *Salmonella - A diversified superbug*, Intech, Croatia, s 449-468.
- Prescott, L.M. and Harley, J.P., 2001.** Laboratory Exercises in Microbiology. McGraw-Hill, Fifth edition, s 449.

- Priest, F.G., 1993.** Systematics and Ecology of *Bacillus*. In: Sonenshein AL, Hoch JA, Losick R (eds) *Bacillus 465 subtilis and Other Gram-Positive Bacteria: Biochemistry, Physiology, and Molecular Genetics*, American Society for Microbiology 466 Press, Washington DC, s 3-16.
- Ridgway, R.L. and Inscoe, M.N., 1998.** Mass-Reared natural enemies for pest control: trends and challenges, in mass-reared natural enemies: application, regulation, and needs, Ridgway, R.L., M.P. Hoffmann, M.N. Inscoe, and C.S. Glenister, Eds. Thomas Say Publications in Entomology, Entomological Society of Americe, Lanham, Marylnd.
- Ryan, K.J. and Ray, C.G., 2004.** Sherris medical microbiology: An introduction to infectious diseases (4th ed.), McGraw Hill Medical.
- Sağlam, S., 2009.** Tohum Böceklerine (Bruchidae: Coleoptera) Dayanıklı Transgenik Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Bitkilerinin Elde Edilmesine Yönelik Araştırmalar. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 108s, 41.
- Sağlam, S., Çiftçi, C.Y., Khawar, K.M., Atak, M. ve Özcan, S., 2005.** In Vitro Koşullarda Fasulye Bitkisine Dört Yapraklı Aşamada Transformasyon Çalışmaları. Akdeniz Üniv. Ziraat Fak. Dergisi, 18(2), 291-294.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T., 1989.** Molecular Cloning - A Laboratory Manual, Baskı: 2, Cold Spring Habour Laboratory Press, New York.
- Sanchez-Contreras, M. And Vlisidou, I., 2008.** The Diversity of insect-bacteria interactions and its applications for disease control. Biotechnol Genetic Engineering Reviews, 25, 203-244.
- Secil, E.A., Sevim, A., Demirbag, Z. and Demir, İ., 2012.** Isolation, characterization and virulence of bacteria from *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). Biologia, 67, 767-776.
- Sevim, A., Demirbağ, Z. and Demir, İ., 2010.** A new study on the bacteria of *Agrotis segetum* Schiff. (Lepidoptera: Noctuidae) and their insecticidal activities. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 34, 333-342.
- Sevim, A., Gökçe, C., Erbaş, Z. and Özkan, F., 2012a.** Bacteria from *Ips sexdentatus* (Coleoptera: Curculionidae) and their biocontrol potential. Journal of Basic Microbiology, 52, 695-704.
- Sevim, E., Çelebi, Ö. and Sevim, A., 2012b.** Determination of the bacterial flora as a microbial control agent of *Toxoptera aurantii* (Homoptera: Aphididae). Biologia, 67(2), 397-404.
- Stahly, D.P., Andrews, R.E. and Yousten, A.A., 2006.** The Genus *Bacillus*-Insect pathogens. Prokaryotes, 4, 563-608.

Şehirali, S., 1988. Yemeklik Tane Baklagiller. Ank. Ü. Zir. Fak. Yayın, 1089, 435.

Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. and Kumar, S., 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology Evolution*, 28, 2731-2739.

Tanyeli Esmer, E., 2011. *Dendroctonus micans*'tan Entomopatojenik Fungusların İzolasyonu, Karakterizasyonu Ve Mikrobiyal Mücadele Potansiyelinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye, 69s, 21.

Tütüncü, Ş., 2006. Depolanmış Ürün Zararlısı *Carpophilus hemipterus* (L.) (Coleoptera: Nitidulidae) İle Savaşında Fosfin Gazından Yararlanma Olanakları Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 79s, 18.

URL-1, 2013. <http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/19fec2f129fbdbae.pdf>. (15 Mayıs 2015).

URL-2, 2013. <http://kutluilaclama.com.tr/tr/Ambar-Zararlilari-Ile-Mucadele>. (15 Mayıs 2015)

URL-3, 2013. http://www.tarimkutuphanesi.com/DEPOLANMIS_HUBUBAT VE_MAMULLERININ_ZARARLILARI – II 01002.html. (15 Mayıs 2015).

URL-4, 2013. <http://www.gencziraat.com/Tarla-Bitkileri/Fasulye-Yetistiriciligi-5.html>. (15 Mayıs 2015).

URL-5, 2013. http://www.gkgm.gov.tr/birim/bitki_karantina/faaliyet/teknik_talimat/yemeklik_baklagiller/baklagil_tohum_bocekleri.pdf. (15 Mayıs 2015).

URL-6, 2013. http://www.bahcesel.net/forumsel/depolanmis-urun-zararlilari-kitabi/_30480-callosobruchus-maculatus-f-borulce-tohum-boce287i. (15 Mayıs 2015).

URL-7, 2013. <http://www.topraktarim.com.tr/images/misir.pdf>. (15 Mayıs 2015).

URL-8, 2013. [http://www.turkcebilgi.com/ansiklopedi/m%C4%B1s%C4%B1r_\(bitki\)](http://www.turkcebilgi.com/ansiklopedi/m%C4%B1s%C4%B1r_(bitki)). (15 Mayıs 2015).

URL-9, 2013. <http://www.batem.gov.tr/urunler/tarlaunlari/misir/misir.htm>. (20 Mayıs 2015).

URL-10, 2013. http://www.turkiyesel.com/uvkb.org/depolanmis-urun-zararlilari/703_gelechiidae-sitotroga-cerealella-olivier-arpa-guvesi.html. (20 Mayıs 2015).

URL-11, 2013. http://www.tarimziraat.com/hastalık_ve_zararlilar/sebze_zararlilari/patates_guvesi. (20 Mayıs 2015).

Uygun, N., 2002. Zararlara Karşı Biyolojik Mücadelede Gelişmeler. Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kongresi, Erzurum, 3-4 Eylül 2002, 45.

Watanabe, K., Abe, K. and Sato, M., 2000. Biological control of an insect pest by gut-colonizing *Enterobacter cloacae* transformed with ice nucleation gene. Journal of Applied Microbiology, 88, 90-97.

Watanabe, K., Abe, K. and Sato, M., 2000. Biological control of an insect pest by gut-colonizing *Enterobacter cloacae* transformed with ice nucleation gene. Journal of Applied Microbiology, 88, 90-97.

Wenwei, L., Zhang, W., Bai, Y., Fu, Y., Chen, J., Geng, X., Wang, Y. And Xiao, M., 2010. A genetically engineered *Pseudomonas fluorescens* strain possesses dual activity against phytopathogenic fungi and insects. Journal of Microbiology and Biotechnology, 20, 281-286.

Yu, H., Wang, Z., Liu, L., Xia, Y., Cao, Y. and Yin, Y., 2008. Analysis of intestinal microflora in *Hepialus gonggaensis* larvae using 16S rRNA gene sequencing. Current Microbiology, 56, 391-396.

EKLER

EK-1 Bayteriyal izolatların 16S rRNA gen sekansları

> *Staphylococcus* sp. Fbe-1

TCACCCCAATCATTGTCCCACCTCGAGGGCTAGCTCCATAATGGTTACTC
CACCGGCTCGGGTGTACAAACTCTCCGTGGTGTGACGGCGGTGTACA
AGACCCGGGAACGTATTACCGTAGCATGCTGATCTACGATTACTAGCGA
TTCTAGAGTCTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAAC TGAGAAC
ACTTATGGGATTGCATGACCTCGCGTTAGCTGCCTTGTATTGTCCAT
TGTAGCACGTGTGTAGCCCAAATCATAAGGGCATGATGATTGACGT
CCCCCACCTCCTCCGGTTGTCAACCGCAGTCAACTAGAGTGCCAACTT
AATGATGGCAACTAAGCTTAAGGGTTGCCTCGTTGCAGGACTTAACCCAA
CATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACTGTCACTTGTCCC
CCGAAGGGAAA ACTCTGTCTCCAGAGTGGTCAAAGGATGTCAAGATTGG
TAAGGTTCTCGCGTTGCTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCG
GGTCCCCGTCAATTCTTGTAGTTCAACCTGCGGTCGTACTCCCCAGGCG
GAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGCGGAAACCCCTAACAC
TTAGCACTCATCGTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAACCTGTTGA
TCCCCACGCTTCAATCAGCGTCAGTTACAGACCAAGAACGCTCCACGGTTG
CACTGGTGTCCCTCCATATCTCTGCGCATTCAACCGCTACACATGGAATTCC
ACTTCCCTCTGCAC TCAAGTCTCCAGTTCCAATGACCCCTCACGGTTG
AGCCGTGGCTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCCTACGCGCGCTTACGC
CCAATAATTCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCA
CGTAGTTAGCCGTGGCTTCTGATTAGGTACCGTCAAGGTGCGCACAGTTAC
TTACGCAC TTGTTCTCCCTAATAACAGAGCTTACGATCCGAAGACCTTCA
TCACTCACGCGCGTTGCTCCGT CAGGCTTCCATTGCGGAAGATTCCC
TACTGCTGCCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTCCAGTGTGGCCG
ATCACCCCTCTCAGGTGGCTACGTATCGTTGCCTGGTAAGCCGTTACCTTA
CCAAC TAGCTAATACGGCGGGTCCATCTATAAGT GATAGCAAGGCCATC
TTTCACTGTAGAACCATGCGGTTCTACATGTTATCCGGCATTAGCTCGGTT
CCCGAAGTTATTCCAGTCTTATAGGTAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGT
CCGCCGCTAACGTCAAAGGAGCAAGCTCCTATCTGTTGCTCGACTTGCAT
GTATTAGGCACGCCAGCGTTACCTGAG

> *Staphylococcus* sp. Fbe-2

TCACCCCAATCATTGTCCCCTTCGACGGCTAGCTCCATAAATGGTTACT
CCACCGGCTCGGGTGTACAAACTCTCGGTGTGACGGCGGTGTACA
AGACCCGGAACGTATTACCGTAGCATGCTGATCTACGATTACTAGCGATT
CCAGCTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACGTGAGAACAACTTT
ATGGGATTGCATGACCTCGCGTTAGCTGCCCTTGTATTGTCCATTGTA
GCACGTGTGTAGCCAAATCATAAGGGCATGATGATTGACGTCATCCCC
ACCTTCCTCCGGTTGTCACCGCAGTCAACCTAGAGTGCCTAACCTAATGA
TGGCAACTAAGCTTAAGGGTTGCCTCGTGCAGGACTTAACCCAACATCTC
ACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTTGTCCCCGAA
GGGAAGGCTCTATCTCTAGAGTTCAAAGGATGTCAAGATTGGTAAGG
TTCTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTGTGCGGGTCC
CCGTCATTCCTTGAGTTCAACCTGCGGTCGTACTCCCCAGGGAGTG
CTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGC
ACTCATCGTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAACCTGTTGATCCCC
ACGCTTCGCACATCAGCGTCAGTTACAGACCAGAAAAGTCGCCTCGCCACT
GGTGTCCCTCCATATCTCTGCGCATTCAACCGCTACACATGGAATTCCACTT
CCTCTCTGCACTCAAGTTCCCAGTTCCAATGACCCCTCACGGTTGAGCC
GTGGGCTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCTACGCGCGTTACGCCAA
AATCCGGAAAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGGGCTGCTGGCACGTAG
TTAGCCGTGGCTTCTGATTAGGTACCGTCAAGATGTGCACAGTTACTTACA
CATTTGTTCTCCCTAATAACAGAGTTTACGAGCCGAAACCCCTCATCACT
CACCGCGCGTTGCTCCGTCAAGGCTTGCCTGCCATTGCGGAAGATTCCCTACTG
CTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTCCAGTGTGGCCGATCAC
CCTCTCAGGTCGGCTACGTATCGTTGCCTGGTAAGCCGTTACCTACCAAC
TAGCTAATACGGCGCGGGTCCATCTATAAGTGTAGCAAAACCATCTTCAC
TTTAGAACCATGCGGTTCCAAATGTTATCCGGTATTAGCTCCGGTTCCCGA
AGTTATCCCAGTCTTATAGGTAGGGTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGCC
GCTAACGTCAAAGGAGCAAGCTCCTATCTGTTGCTCGACTTGCATGTATT
AGGCACGCCAGCGTTCATCCTGAGC

> *Enterococcus* sp. Fbe-3

TTCACCCCAAATCATCTATCCCACCTTAGGCGGCTGGCTCCAAAAAGGTTA
CCTCACCGACTCGGGTGTACAAACTCTCCGTGGTGTGACGGGCGGTGTGT
ACAAGGCCGGGAACGTATTCAACCGCGCGTGTGACCGCTGCAATCCGAACGTGAGA
AGCGATTCCGGCTTCATGCAGGCAGTTGCAGCCTGCAATCCGAACGTGAGA
GAAGCTTAAGAGATTGCATGACCTCGCGGTCTAGCGACTCGTTGTACTTC
CCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTATAAGGGCATGATGATTGACG
TCATCCCCCACCTCCTCCGGTTGTCAACCGCAGTCTCGCTAGAGTGCCCA
ACTAAATGATGGCAACTAACAAATAAGGGTTGCGCTCGTGCAGGACTTAAC
CCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACTGTCACCTT
GTCCCCGAAGGGAAAGCTCTATCTAGAGTGGTCAAAGGATGTCAAGACC
TGGTAAGGTTCTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGT
GCAGGGCCCCGTCAATTCTTGAGTTCAACCTGCGGTCGTACTCCCCAG
GCAGGAGTGTAAATGCGTTGCTGCAGCACTGAAGGGCGAAACCCCTCCAA
CACTTAGCACTCATCGTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAACCTGTT
TGCTCCCCACGCTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGCCGCCT
TCGCCACTGGTGTCCCTCCATATATCTACGCATTCAACCGCTACACATGGAA
TTCCACTTCCTCTGCACTCAAGTCTCCAGTTCAATGACCCCTCCCG
GTTGAGCCGGGGCTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCCTGCGCTCGCTTA
CGCCCAAAAATCCGACAACGCTGCCACCTACGTATTACCGCAGGGACGTTAGTT
CACGTAGTTAGCCGTGGCTTCTGGTTAGATACCGTCAGGGACGTTAGTT
ACTAACGTCTTGTCTCTAACAACACAGAGTTACGATCCGAAAACCTT
CTTCACTCACGCGCGTTGCTCGGTCAAGACTTCTCGTCCATTGCCGAAGATT
CCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGC
CGATCACCCCTCTCAGGTGGCTATGCATCGTGGCCTGGTGAGCCGTTACCT
CACCAACTAGCTAATGCACCGCGGGTCCATCCATCAGCGACACCCGAAAGC
GCCTTCACTCTTATGCCATGCGGCATAAAACTGTTATGCGGTATTAGCACCT
GTTCCAAGTGTATCCCCCTCTGATGGGTAGGTTACCCACGTGTTACTCAC
CCGTCGCCACTCCTCTTCCAATTGAGTGCAAGCACTCGGGAGGAAAGAA
GCGTTGACTTGCATGTATTAGGCACGCCAGCGTTCGTCCTGA

> *Staphylococcus* sp. Fbe-4

CCCTGTACGACTTCACCCAATCATTGTCCCACCTCGACGGCTAGCTCC
ATAATGGTTACTCCACCGGCTCGGGTGTACAAACTCTCGTGGTGTGACCG
GCGGTGTGTACAAGACCCGGAACGTATTACCGTAGCATGCTGATCTACG
ATTACTAGCGATTCCAGCTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAAC
TGAGAACAACTTATGGGATTGCATGACCTCGCGGTTAGCTGCCCTTGT
ATTGTCCATTGTAGCACGTGTAGCCAAATCATAAGGGGCATGATGATT
GACGTCACTCCCCACCTCCTCCGGTTGTACCGGCAGTCAACTTAGAGTGC
CCAACCTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAGGGTGCCTCGTGCAGGACTTA
ACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACTGTCACT
TTGTCCCCCGAAGGGAAAACTCTGTCTCCAGAGTGGTCAAAGGATGTCAA
GATTGGTAAGGTTCTCGCGTTGCTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGC
TTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCTTGAGTTCAACCTGCGCTCGTACTCCC
CAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGCGGAAACCCCC
TAACACTTAGCACTCATCGTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAACCT
GTTTGATCCCCACGCTTCGCATTCAAGCTCAGTACAGACCAGAAAGTCGC
CTTCGCCACTGGTGTCTCCATATCTCTGCGCATTCAACCGCTACACATGG
AATTCCACTTCCTCTTCTGCACTCAAGTCTCCAGTTCCAATGACCCCTCCA
CGGTTGAGCCGTGGGCTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCTACGCGCGC
TTTACGCCAATAATTCCGGATAACGCTTGCACCTACGTATTACCGCGGCT
GCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTCTGATTAGGTACCGTCAAGGTGCGCA
CAGTTACTTACGCACTTGTCTTCCCTAATAACAGAGCTTACGATCCGAAG
ACCTTCATCACTCACGCGCGTTGCTCCGTACGGCTTCCGCTACGTTACG
GATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCCAGT
GTGGCCGATCACCCTCTCAGGTGGCTACGTATCGTTGCCTGGTAAGCCGT
TACCTTACCAACTAGCTAATACGGCGGGTCCATCTATAAGTGATAGCAA
GCCATCTTCACTGTAGAACCATGCGGTTCTACATGTTATCCGGCATTAGC
TTCGGTTCCCGAAGTTATTCCAGTCTTATAGGTAGGTTACCCACGTGTTACT
CACCCGTCCGCCGCTAACGTCAAAGGAGCAAGCTCCTATCTGTTGCTCGA
CTTGCATGTATTAGGCACGCCAGCGTTCATCC

> *Staphylococcus saprophyticus* Fbe-5

TCACCCCAATCATTGTCCCACCTCGACGGCTAGCTCCATAAATGGTTACT
CCACCGGCTCGGGTGTACAAACTCTCGTGTGACGGCGGTGTACA
AGACCCGGAACGTATTACCGTAGCATGCTGATCTACGATTACTAGCGATT
CCAGCTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACGTGAGAACAACTTT
ATGGGATTGCATGACCTCGCGTTAGCTGCCCTTGTATTGTCCATTGTA
GCACGTGTAGCCAAATCATAAGGGCATGATGATTGACGTCATCCCC
CACCTTCCTCCGGTTGTACCGGCAGTCAACCTAGAGTGCCAACTTAATG
ATGGCAACTAAGCTTAAGGGTGCCTCGTGCAGGACTTAACCCAACATCT
CACGACACGAGCTGACGACAACCAGTGCACCACTGTCACTTGTCCCCCGA
AGGGGAAGGCTCTATCTCTAGAGTTCAAAGGATGTCAAGATTGGTAAG
GTTCTCGCGTTGCTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCAGGTC
CCCGTCAATTCCCTTGAGTTCAACCTGCGGTGCGTACTCCCCAGGCAGGAGT
GCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGCGAAACCCCTAACACTTAG
CACTCATCGTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAACCTGTTGATCCC
CACGCTTCGCACATCAGCGTCAGTTACAGACCAGAAAGTCGCCTCGCCAC
TGGTGTCCCTCCATATCTCTGCGCATTCAACCGCTACACATGGAATTCCACTT
TCCTCTCTGCACTCAAGTTCCCAGTTCAATGACCTCCACGGTTGAGCC
GTGGGCTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCTACGCGCGTTACGCCAA
TAATTCCGGATAACGCTGCCACCTACGTATTACCGCGCTGCTGGCACGT
AGTTAGCCGTGGCTTCTGATTAGGTACCGTCAAGATGTGCACAGTTACTTA
CACATTGTTCTCCCTAATAACAGAGTTACGAGCCGAAACCCCTCATCA
CTCACGCGCGTTGCTCCGTACGGCTTCCGCTTACGCGGAAGATTCCCTAC
TGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCCAGTGTGGCCGATC
ACCCCTCAGGTGGCTACGTATCGTCGCCTGGTAAGCCGTTACCTTACCA
ACTAGCTAATACGGCGCGGGTCCATCTATAAGTGTAGCAAAACCATCTTTC
ACTTTAGAACCATGCGGTTCTAAATGTTATCCGGTATTAGCTCCGGTTCCC
GAAGTTATCCAGTCTTATAGGTAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCG
CCGCTAACTCAAAGGAGCAAGCTCCTTATCTGTTGCTCGACTTGCATGTA
TTAGGCACGCCGCCAGCGTTCATCCTGA

> *Staphylococcus* sp. Fbe-6

TCACCCCAATCATTGTCCCACCTCGACGGCTAGCTCCATAAATGGTTACT
CCACCGGCTCGGGTGTACAAACTCTCGTGTGACGGCGGTGTACA
AGACCCGGAACGTATTACCGTAGCATGCTGATCTACGATTACTAGCGATT
CCAGCTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACGTGAGAACAACTTT
ATGGGATTGCATGACCTCGCGTTAGCTGCCCTTGTATTGTCCATTGTA
GCACGTGTAGCCCCAAATCATAAGGGCATGATGATTGACGTCATCCCC
ACCTTCCTCCGGTTGTCACCGCAGTCAACCTAGAGTGCCTTAACCCAAACATCTC
TGGCAACTAAGCTTAAGGGTTGCCTCGTGCAGGACTTAACCCAAACATCTC
ACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTTGTCCCCGAA
GGGAAGGCTCTATCTCTAGAGTTCAAAGGATGTCAAGATTGGTAAGG
TTCTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTGTGCGGGTCC
CCGTCATTCCTTGAGTTCAACCTGCGGTCGTACTCCCCAGGGAGTG
CTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGC
ACTCATCGTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAACCTGTTGATCCCC
ACGCTTCGCACATCAGCGTCAGTTACAGACCAGAAAAGTCGCCTCGCCACT
GGTGTCCCTCCATATCTCTGCGCATTTCACCGCTACACATGGAATTCCACTTT
CCTCTCTGCACTCAAGTTCCCAGTTCCAATGACCCCTCACGGTTGAGCC
GTGGGCTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCTACGCGCGTTACGCCAA
TAAATCCGGATAACGCTTGCACCTACGTATTACCGCGGTGCTGGCACGTA
GTTAGCCGTGGCTTCTGATTAGGTACCGTCAAGATGTGCACAGTTACTTAC
ACATTGTTCTCCCTAACACAGAGTTACGAGGCCAAACCCCTCATCAC
TCACCGGGCGTTGCTCCGTACGGCTTCGCCATTGCGGAAGATTCCCTACT
GCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCCAGTGTGGCCGATCA
CCCTCTCAGGTGGCTACGTATCGTTGCCCTGGTAAGCCGTTACCTTACCAA
CTAGCTAACGGCGCGGGTCCATCTATAAGTGTAGCAAAACCATTTCA
CTT TAGAACCATGCGGTTCCAAATGTTATCCGGTATTAGCTCCGGTTCCCG
AAGTTATCCCAGTCTTATAGGTAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGC
CGCTAACGTCAAAGGAGCAAGCTCCTATCTGTTGCTCGACTGCATGTAT
TAGGCACGCCGCCAGCGTTCATC

> *Staphylococcus* sp. Fbe-7

GCTCCTTCTGATCACCAATCATTTCCACCTCGACGGTAGCTCCATAA
TGGTTACTCCACCGGCTCGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTACGGCGG
TGTGTACAAGACCCGGGAACGTATTCACCGTAGCATGCTGATCTACGATT
ACTAGCGATTCCAGCTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACGTGA
GAACAACATTATGGGATTGCATGACCTCGCGGTTAGCTGCCTTGTATT
GTCCATTGTAGCACGTGTAGCCCCAAATCATAAGGGCATGATGATTGA
CGTCATCCCCACCTCCTCCGGTTGTCACCGCAGTCAACTTAGAGTGCCC
AACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAGGGTTGCGCTCGTGCAGGACTTAA
CCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACTGTCACTT
GTCCCCCGAAGGGAAAACCTCTGCTCCAGAGTGGTCAAAGGATGTCAAGA
TTTGGTAAGGTTCTCGCGTTGCTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTT
GTGCGGGTCCCCGTCAATTCTTGAGTTCAACCTGCGGCGTACTCCCC
AGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAACGGCGGAAACCCCT
AACACTTAGCACTCATCGTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAACCTG
TTGATCCCCACGCTTCGCCNTAGCGTCAGTTACAGACCAGAAAGTCGCC
TTCGCCACTGGTGTCCCTCCATATCTCTGCGCATTCAACCGCTACACATGGA
ATTCCACTTTCTCTGCACTCAAGTCTCCAGTTCCAATGACCCCTCAC
GGTGAGCGTGGGCTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCCTACGCGCGCTT
TACGCCAATAATTCCGGATAACGCTTGCACCTACGTATTACCGCGGCTGC
TGGCACGTAGTTAGCGTGGCTTCTGATTAGGTACCGTCAAGGTGCGCACA
GTTACTTACGCACTTGTCTCCCTAATAACAGAGCTTACGATCCGAAGAC
CTTCATCACTCACCGCGCGTTGCTCCGTACGGCTTGCCTGGTAAGCCGTTA
TTCCCTACTGCTGCCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTCCAGTGT
GGCCGATCACCCTCTCAGGTGGCTACGTATCGTGCCTGGTAAGCCGTTA
CCTTACCAACTAGCTAATACGGCGCGGTCCATCTATAAGTGTAGCAAGG
CCATCTTCACTGTAGAACCATGCGGTCTACATGTTATCCGGCATTAGCTT
CGGTTCCCGAAGTTATTCCAGTCTTATAGGTAGGTTACCCACGTGTTACTC
ACCCGTCCGCCGCTAACGTCAAAGGAGCAAGCTCCTTATCTGTTGCTCGAC
TTGCATGTATTAGGCACGCCAGCGTTCATCCTGAGCGAACAAA

> Enterococcus sp. Fbe-8

CCGCTCTCTCGGGCGCCCCCCCCTGAGTCTTATCTGTGGGGTTTTCTTG
TAGATTCACCCCAAATCATTATCCCACCTAGGCGGCTGGCTCCAAAAAGGT
TACCTCACCGACTCGGGTGTACAAACTCTCGTGGTGTACGGCGGTGTG
TACAAGGCCGGAACGTATTCACCCGCGCGTGTGATCCGCGATTACTA
GCGATTCCGGCTTCATGCAGGCAGTTGCAGCCTGCAATCCGAACGTGAGAG
AAGCTTAAGAGATTGCATGACCTCGCGGTCTAGCGACTCGTTGTACTTCC
CATTGTAGCACGTGTAGCCCAGGTATAAGGGCATGATGATTGACGT
CATCCCCACCTCCTCCGGTTGTACCGGCAGTCTCGCTAGAGTGCCCAAC
TAAATGATGGCAACTAACAAATAAGGGTGCCTCGTGCAGGACTTAACCC
AACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTTGTC
CCCGAAGGGAAAGCTCTATCTCTAGAGTGGTCAAAGGATGTCAAGACCTGG
TAAGGTTCTCGCGTTGCTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTGTGCG
GGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTCAACCTTGCCTCGTACTCCCCAGGCG
GAGTGCTTAATGCCTTGCTGCAGCACTGAAGGGCGAAACCCCTCCAACAC
TTAGCACTCATCGTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGC
TCCCCACGCTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGCCGCCTCG
CCACTGGTGTCTCCATATATCTACGCATTCACCGCTACACATGGAATT
CACTCTCCTCTGCACTCAAGTCTCCAGTTCCAATGACCTCCCCGGTT
GAGCCGGGGCTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCCTGCGCTCGCTTAC
GCCCAATAAATCCGGACAACGCTGCCACCTACGTATTACCGCGCTGCTG
GCACGTAGTTAGCCGTGGCTTCTGGTTAGATACCGTCAGGGACGTTCA
TACTAACGTCTTGTCTCTCTAACAAACAGAGAGTTACGATCCGAAAACCT
TCTTCACTCACGCCGCGTTGCTCGGTCAAGACTTCGTCCATTGCCGAAGATT
CCCTACTGCTGCCCTCCCGTAGGAGTCTGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGG
CCGATCACCCCTCAGGTGGCTATGCATCGTGGCCTGGTGAAGCCGTTACC
TCACCAACTAGCTAATGCACCGCGGGTCCATCCATCAGCGACACCCGAAAG
CGCCTTCACTCTATGCCATCGGGCATAAAACTGTTATGCGGTATTAGCACC
TGTTCCAAGTGTATCCCCCTCTGATGGTAGGTTACCCACGTGTTACTCA
CCCGTCCGCCACTCCTTTCCAATTGAGTGCAAGCAACTCGGGAGGAAAGA
AGCGTTGACTTGCATGTATTAGGCACGCCAGCGTCTGAGCGAA
A

> *Staphylococcus* sp. Fbe-9

CTGATCACCCCAATCATTGTCCCACCTCGACGGCTAGCTCCATAAATGGT
TACTCCACCGGCTCGGGTGTACAAACTCTCGTGGTGTACGGCGGTGTG
TACAAGACCCGGGAACGTATTCACCGTAGCATGCTGATCTACGATTACTAG
CGATTCCAGCTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAAC TGAGAAC
AACTTATGGGATTGCATGACCTCGCGGTTAGCTGCCTTGTATTGTCCA
TTGTAGCACGTGTAGCCAAATCATAAGGGGCATGATGATTGACGTCAT
CCCCCACCTCCTCCGGTTGTCACCGGCAGTCAACCTAGAGTGCTCAACTT
AATGATGGCAACTAAGCTTAAGGGTTGCCTCGTGCAGGACTTAACCCAA
CATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACTGTCACTTGTCCC
CCGAAGGGGAAGGCTCTATCTCTAGAGTTCAAAGGATGTCAAGATTGG
TAAGGTTCTCGCGTTGCTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTGTGCG
GGTCCCCGTCAATTCTTCAACCTGCGGTCGTACTCCCCAGGCG
GAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGCGGAAACCCCTAACAC
TTAGCACTCATCGTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAACCTGTTGA
TCCCCACGCTTCGCACATCAGCGTCAGTTACAGACCAGAAAAGTCGCCTCG
CCACTGGTGTCCCTCCATATCTCTGCGCATTCAACCGCTACACATGGAATT
CACTTCTCTTCTGCACTCAAGTTCCCAGTTCCAATGACCCCTCACGGTT
GAGCCGTGGCTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCTACGCGCGCTACG
CCAAAAAATCCGGAAAACGCTTGCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGC
ACGTAGTTAGCCGTGGCTTCTGATTAGGTACCGTCAAGATGTGCACAGTTA
CTTACACATTGTTCTCCCTAATAAACAGAGTTACGAGGCCAAACCCCTC
ATCACTCACGCGGCCTGCTCCGTACGGCTTCGCCATTGCGGAAGATTCC
CTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCCAGTGTGGCC
GATCACCCCTCTCAGGTCGGTACGTATCGTTGCCTGGTAAGCCGTTACCTT
ACCAACTAGCTAATACGGCGGGTCCATCTATAAGTGTAGCAAAACCAT
CTTCACCTTAGAACCATGCGGTTCCAAATGTTATCCGGTATTAGCTCCGGT
TTCCCGAAGTTATCCAGTCTTATAGGTAGGTTACCCACGTGTTACTCACCC
GTCCGCCGCTAACGTCAAAGGAGCAAGCTCCTATCTGTTGCTCGACTTGC
ATGTATTAGGCACGCCAGCGTTCATCCTGAGC

> *Staphylococcus* sp. Fbe-10

AGAGTGTAGCACCCCTTTATTGTGTGTGGGGTCTTCTTAATTCAACC
CCAATCATTGTCCCACCTCGACGGCTAGCTCCATAATGGTTACTCCACCG
GCTCGGGTGTACAAACTCTCGTGGTGTGACGGCGGTGTACAAGACC
CGGGAACGTATTCACCGTAGCATGCTGATCTACGATTACTAGCGATTCCAGC
TTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCGAAGTGAGAACAACTTATGG
GATTGACATGACCTCGCGGTTAGCTGCCCTTGTATTGTCCATTGTAGCAC
GTGTGTAGCCCAAATCATAAGGGCATGATGATTGACGTACCCCCACCT
TCCTCCGGTTGTACCGGCAGTCAACTTAGAGTGCCAACTTAATGATGGC
AACTAAGCTTAAGGGTTGCGCTCGTGCAGGACTTAACCCAACATCTCACG
ACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTTGTCCCCCGAAGGG
GAAAAACTCTGTCTCCAGAGTGGTCAAAGGATGTCAAGATTGTAAGGTT
TTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCAGGTTCCCCG
TCAATTCTTGTAGTTCAACCTGCGGTCGTAACCTTGTCCCCAGGCGGAGTGCTT
AATGCGTTAGCTGCAGCACTAACAGGGCGAAACCCCTAACACTTAGCACT
CATCGTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAACCTGTTGATCCCCACG
CTTCGCACATCAGCGTCAGTTACAGACCAGAAAGTCGCCTCGCCACTGGT
GTTCCCTCATATCTCTGCGCATTCAACCGCTACACATGGAATTCCACTTCC
CTTCTGCACTCAAGTCTCCAGTTCAATGACCCCTCACGGTGGAGCCGTG
GGCTTCACATCAGACTAACGAAACCGCCTACGCGCGCTTACGCCAATAA
TTCCGGATAACGCTTGCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTT
AGCCGTGGCTTCTGATTAGGTACCGTCAAGGTGCGCACAGTTACTACGCA
CTTGTCTCCCTAATAACAGAGCTTACGATCCGAAGACCTTCATCACTCA
CGCGCGTTGCTCCGTACGGCTTGCCTTGCAGGCTTACGTTACGTTACTGCT
GCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCCAGTGTGGCCGATCACCC
TCTCAGGTGGCTACGTATCGTTGCCTGGTAAGCCGTTACCTTACCAACTA
GCTAATACGGCGGGTCCATCTATAAGTGTAGCAAGGCCATCTTCACG
TAGAACCATGCGGTTCTACATGTTATCCGGCATTAGCTTCAGGTTCCCGAAG
TTATTCCAGTCTTATAGGTAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGCC
TAACGTCAAAGGAGCAAGCTCCTTATCTGTTCGCTCGACTGCATGTATTAG
GCACGCCGCCAGC

> *Staphylococcus* sp. Fbe-11

CCTCGAACCTCTTCCACTTATGGGTGGGCCCCCCCCTAGATTACACCC
AATCATTGTCCCACCTCGACGGCTAGCTCCATAATGGTTACTCCACCG
CTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGTAACAGACCC
GGGAACGTATTCACCGTAGCATGCTGATCTACGATTACTAGCGATTCCAGCT
TCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCGAACTGAGAACAACTTTATGGG
ATTTCATGACCTCGCGTTAGCTGCCTTGTATTGTCCATTGTAGCACGT
GTGTAGCCAAATCATAAGGGCATGATGATTGACGTACCCCCACCTTCC
TCCGGTTGTCACCGGCAGTCAACCTAGAGTGCCAACTTAATGATGGCAAC
TAAGCTTAAGGGTTGCGCTCGTGCAGGACTTAACCCAACATCTCACGACAC
GAGCTGACGACAACCATGCACCAACCTGTCACTTGTCCCCGAAGGGGAAG
GCTCTATCTCTAGAGTTCAAAGGATGTCAGATTGGTAAGGTTCTCGC
GTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAAT
TCCTTGAGTTCAACCTGCGGCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGC
GTTAGCTGCAGCACTAAGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCG
TTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAACCTGTTGATCCCCACGCTTC
GCACATCAGCGTCAGTTACAGACCAGAAAGTCGCCCTCGCCACTGGTGTCC
TCCATATCTGCGCATTCAACCTGCGGCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGC
GCACTCAAGTTCCCAGTTCCAATGACCCCTCACGGTTGAGCCGTGGCTT
TCACATCAGACTTAAGAAACCGCCTACGCGCGCTTACGCCAAATTCCGGA
TAACGCTTGCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTG
GCTTCTGATTAGGTACCGTCAAGATGTGCACAGTTACTACACATTGTC
TTCCCTAATAACAGAGTTTACGAGCCAAACCCCTCATCACTCACGCGCG
TTGCTCCGTCAAGGCTTGCCTTGCAGGAAAGATTCCCTACTGCTGCCCTCC
GTAGGAGTCTGGACCCTGCTCAGTTCCAGTGTGGCCGATCACCCCTCAGG
TCGGCTACGTATCGTTGCCTGGTAAGCCGTTACCTACCAACTAGCTAATA
CGGCGCGGGTCCATCTATAAGTGATAGCAAAACCATCTTCACTTAAAGAAC
ATGCGGTTCCAAATGTTATCCGGTATTAGCTCCGGTTCCGAAGTTATCCC
AGTCTTATAGGTAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGCCGCTAACGTC
AAAGGAGCAAGCTCCTATCTGTTGCTCGACTGCATGTATTAGGCACGCC
GCCAGCGTTCATCCTGACGAAAAAAAACACATATATAAAAACGCCAAATA

> *Bacillus* sp. Be-1

TCAGGACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGGACAGA
AGGGAGCTGCTCCGGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGT
AACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGAAACCGGAGCTAATACCGGA
TAGTTCCTGAACCGCATGGTCAAGGATGAAAGACGGTTCGGCTGTCACT
TACAGATGGACCCCGGGCGCATTAGCTAGTTGGTGGGTAATGGCTCACCA
AGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGACTG
AGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCGCAAT
GGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTCGGAT
CGTAAAGCTCTGTTAGGGAAAGAACAAAGTGCAGAGAGTAAGTCTCGCAC
CTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTATTGGCGTAAAGGGCT
CGCAGGCGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTAACCGGGGAG
GGTCATTGGAAACTGGAAACTTGAGTGAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGG
CGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGG
CGACTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGAGCGAAAGCGTGGGAGCGAAC
AGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGAAACGATGAGTGCTAAGTGT
AGGGGTTCCGCCCTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTG
GGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCA
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGAAGCAACCGAAGAACCTTACCA
GGTCTGACATCCTCTGACAACCTAGAGATAGGGCTTCCCTCGGGGACA
GAGTGACAGGTGGCATGGTGTGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGT
TAAGTCCCGCAACGAGCGAACCCCTGATCTTAGTTGCCAGCATTGAC
GCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGAC
GTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGCTACACACGTGCTACAATGGAC
AGAACAAAGGGCTGCAAGACCGCAAGGTTAGCCAATCCCATAATCTGTT
CTCAGTTGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTA
GTAATCGCGGATCAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCCGGGCTGTACAC
ACCGCCCGTCACACCACGAGAGAGTTGCAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAAC
CTTATGGAGGCCAGCCGCCGAAGGTGGGGCAGATGATTGGGGTGAA

> *Bacillus* sp. Be-2

GCTCAGGACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGGACA
GAAGGGAGCTGCTCCGGATGTTAGCGCGGACGGGTGAGTAACACGTGG
GTAACCTGCCTGTAAGACTGGATAACTCCGGAAACCGGAGCTAACACCG
GATAGTTCTTGAAACCGCATGGTTCAAGGATGAAAGACGGTTCGGCTGTC
ACTTACAGATGGACCCGCGCGCATTAGCTAGTTGGTGGGTAATGGCTCA
CCAAGGCACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAAATCTCCGC
AATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGTGAGTGATGAAGGTTTCG
GATCGTAAAGCTCTGTTAGGAAAGAACAAAGTGCAGAGACTGCTCG
CACCTTGACGGTACCTAACCAAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC
CGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGCCATTATTGGCGTAAAGG
GCTCGCAGGCGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTAACCGGG
GAGGGTATTGGAAACTGGAAACTTGAGTGAGAGACTGGAAT
TCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGA
AGGCGACTCTCTGGTCTGTAAC TGACGCTGAGAGCGAACCGTGGGAGCG
AACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGT
GTTAGGGGTTCCGCCCTAGTGCTGCAGCTAACGCTTAAGCACTCCGC
CTGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAACCGCTAGAGATAGGGCTTCCCTCGGG
CCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCCCTAGAGATAGGGCTTCCCTCGGG
ACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTGTGTCAGCTCGTGTGAGATGTT
GGGTTAAGTCCCGAACCGAGCGCAACCGTTGATCTTAGTGCCAGCATTAG
TTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTACAAACCGGAGGAAGGTGGGGGAT
GACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGCTACACACGTGCTACAATG
GACAGAACAAAGGGCTGCAAGACCGCAAGGTTAGCCAATCCCATAATCT
GTTCTCAGTTGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGC
TAGTAATCGCGGATCAGCATGCCCGGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGT
CACACCGCCCGTCACACCACGAGAGAGTTGCAACACCCGAAGTCGGTGAGGT
AACCTTATGGAGGCCAGCCGCCGAAGGTGGGGCAGATGATTGGGGGTGAA

> *Bacillus* sp. Be-3

GCTCAGGACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGAACAA
GAAGGGAGCTGCTCCGGATGTTAGCGCGGACGGGTGAGTAACACGTGG
GTAACCTGCCTGTAAGACTGGATAACTCCGGAAACCGGAGCTAATACCG
GATAGTTCTTGAAACCGCATGGTTCAAGGATGAAAGACGGTTCGGCTGTC
ACTTACAGATGGACCCGCGCGCATTAGCTAGTTGGTGGGTAATGGCTCA
CCAAGGCACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAAATCTCCGC
AATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGTGAGTGATGAAGGTTTCG
GATCGTAAAGCTCTGTTAGGAAAGAACAAAGTGCAGAGAGTAACGTCTCG
CACCTTGACGGTACCTAACCAAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC
CGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGCCATTATTGGCGTAAAGG
GCTCGCAGGCGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTAACCGGG
GAGGGTCATTGGAAACTGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAAAT
TCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGA
AGGCGACTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGAGCGAACAGCGTGGGAGC
AACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAG
TGTTAGGGGTTCCGCCCTAGTGCTGCAGCTAACGCTTAAGCACTCCG
CCTGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAACCGCTAGAGATAGGGCTTCCCTCGGG
CCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCCCTAGAGATAGGGCTTCCCTCGGG
ACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTT
GGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGAACCCCTGATCTTAGTGCCAGCATTCA
TTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTACAAACCGGAGGAAGGTGGGGAT
GACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGCTACACACGTGCTACAATG
GACAGAACAAAGGGCTGCAAGACCGCAAGGTTAGCCAATCCCATAATCT
GTTCTCAGTTGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGC
TAGTAATCGCGGATCAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCGGCCTGTAC
ACACCGCCCGTCACACCACGAGAGAGTTGCAACACCCGAAGTCGGTGAGGTA
ACCTTATGGAGGCCAGCCGCCGAAGGTGGGGCAGATGATTGGGGTGAA

> *Staphylococcus* sp. Be-4

GCTCAGGATGAACGCTGGCGCGTGCCTAATAACATGCAAGTCGAGCGAAC
GATAAGGAGCTGCTCCTTGAAGTTAGCGCGGACGGGTGAGTAACACGT
GGGTAACCTACCTATAAGACTGGAATAACTCGGGAAACCGGAGCTAATGC
CGGATAACATATAGAACCGCATGGTTCTATAGTGAAAGATGGTTTGCTATC
ACTTATAGATGGACCCGCGCGTATTAGCTAGTTGGTAAGGTAAAGGCTTA
CCAAGGCACGATACTGAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGAA
CTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGC
AATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCCGTGAATGATGAAGGTTTCG
GATCGTAAAACCTGTTATTAGGAAAGAACAAATGCGTAAGTAACGTGCG
CATCTTGACGGTACCTAATCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC
CGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCGGAATTATTGGCGTAAAGC
GCGCGTAGGCGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTAACCGTG
GAGGGTCATTGGAAACTGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAAT
TCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGA
AGGCGACTTCTGGTCTGTAACTGACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGATC
AACACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAG
TGTTAGGGGTTCCGCCCCCTAGTGCTGCAGCTAACGCTTAAGCAACTCCG
CCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGACCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAACGCAACGCGAAGAACCTTA
CCAAATCTGACATCCTTGAAAACCTAGAGATAGAGCCTCCCTTCGGG
GGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTAGCTCGTGTGAGATG
TTGGGTTAAGTCCGCAACGAGCGAACCCCTAACGCTTAGTTGCCATCTTA
AGTGCGACTCTAGGTTGACTGCCGGTACAAACCGGAGGAAGGTGGGG
ATGACGTCAAATCATCATGGCCCCCTATGATTGGGCTACACACGTGCTACA
ATGGACAATACAAAGGGCAGCTAAACCGCGAGGTGATGCAAATCCCATAAA
GTTGTTCTCAGTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAAT
CGCTAGTAATCGTAGATCAGCATGCTACGGTAACACCGGAAGCCGGTGGAG
ACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGGTTGTAACACCCGAAGCCGGTGGAG
TAACCATTTATGGAGCTAGCCCTCAAAGGTGGACAAATGATTGGGG

> *Pantoea* sp. Be-5

TCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCAACACATGCAAGTCGGACGGTAGCA
CAGAGAGCTTGCTCTGGGTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGG
GGATCTGCCGATAGAGGGGGATAACCACGGAAACGGTGGCTAATACCGC
ATAACGTCAAGACCAAAGAGGGGGACCTCGGGCCTCTCACTATCGGAT
GAACCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGCAGGGTAATGGCCCACCTAGGCAC
GATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAC TGAGACACG
GTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGCACAATGGCGCA
AGCCTGATGCAGCCATGCCCGTGTATGAAGAAGGCCTCGGGTTGAAAG
TACTTCAGCGGGAGGAAGGCAGTGGGTTAATAACCGTGTGATTGACG
TTACCCGAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGTAATA
CGGAGGGTGCAAGCGTTAACCGGAAATTACTGGCGTAAAGCGCACGCAGGC
GGTCTGTTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGCTAACCTGGGAACTGCATT
GAAACTGGCAGGCTTGAGTCTTAGAGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGC
GGTGAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCT
GGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGAGCAAACAGGATTA
GATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGACTGGAGGTTGTCCT
TGAGGAGTGGCTCCGGAGCTAACCGTAAAGTCGACCGCCTGGGAGTAC
GGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGCCCGACAAGCGGTG
GAGCATGTGGTTAATTGATGCAACCGAAGAACCTTACCTACTCTGACA
TCCAGCGAACTTAGCAGAGATGCATTGGTGCCTCGGAACGCTGAGACAG
GTGCTGCATGGCTGCGTCAGCTCGTGTGAAATGTTGGTTAAGTCCCG
CAACGAGCGAACCCCTATCCTTGTGCCAGCGATTGGCTGGGAACTCAA
AGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTC
ATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAA
AGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCACAAAGTGCCTCGTAGTC
CGGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCG
TGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCGGCCTGTACACACCGCCC
GTCACACCAGGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGGCTAACCTCGG
GAGGGCGCTTACCACTTGTGATTGACTGGGGTGAA

> *Staphylococcus* sp. Be-6

GCTCAGGATGAACGCTGGCGCGTGCCTAATAACATGCAAGTCGAGCGAAC
GATAAGGAGCTGCTCCTTGACGTTAGCGCGGACGGGTGAGTAACACGT
GGGTAAACCTACCTATAAGACTGGGATAACTCGGGAAACCGGAGCTAATAC
CGGATAACATTGGAACCGCATGGTTCTAAAGTGAAGATGGTTTGCTATC
ACTTATAGATGGACCCGCGCGTATTAGCTAGTTGTAAGGTAACGGCTTAC
CAAGGCAACGATACTAGCCGACCTGAGAGGGTGATGCCACACTGGAAC
TGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAACTTCCGCA
ATGGGCAGAACGCTGACGGAGCAACGCCCGTGAATGATGAAGGGTTCGG
CTCGTAAAACCTGTTATTAGGAAAGAACAAATGTGTAAGTAACGTGAC
ATCTTGACGGTACCTAATCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCC
GCGGTAAACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGAATTATTGGCGTAAAGCG
CGCGTAGGCGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTAACCGTGG
AGGGTCATTGAAACTGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATT
CCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGA
AGGCGACTTCTGGTCTGTAACTGACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGATC
AACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAG
TGTTAGGGGTTCCGCCCCCTAGTGCTGCAGCTAACGCTTAAGCACTCCG
CCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGACCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAACGCAACGCGAAGAACCTTA
CCAAATCTTGACATCCTTGAAAACCTAGAGATAGAGCCTCCCTCGGG
GGACAAAGTGACAGGTGGTCATGGTTGTCGTCAAGCTCGTGTGAGATG
TTGGGTTAAGTCCGCAACGAGCGAACCCCTAACGCTTAGTTGCCATCTTA
AGTGCGACTCTAGGTTGACTGCCGGTGAACAAACCGGAGGAAGGTGGGG
ATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGACAATAACAAAGGGCAGCTAAACCGCGAGGTCACTGCAAATCCCATAAAG
TTGTTCTCAGTTGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATC
GCTAGTAATCGTAGATCAGCATGCTACGGTGAATACGTTCCGGTCTTGT
CACACCGCCCGTCACACCACGAGAGAGTTGTAACACCCGAAGCCGGTGGAGT
AACCATTTATGGAGCTAGCCGTCGAAGGTGGACAAATGATTGGGGTGAA

> *Bacillus* sp. Be-7

GCTCAGGACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGGACA
GAAGGGAGCTGCTCCGGATGTTAGCGCGGACGGGTGAGTAACACGTGG
GTAACCTGCCTGTAAGACTGGATAACTCCGGAAACCGGAGCTAACACCG
GATAGTTCTTGAAACCGCATGGTTCAAGGATGAAAGACGGTTCGGCTGTC
ACTTACAGATGGACCCGCGCGCATTAGCTAGTTGGTGGGTAATGGCTCA
CCAAGGCACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAAATCTCCGC
AATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGTGAGTGATGAAGGTTTCG
GATCGTAAAGCTCTGTTAGGAAAGAACAAAGTGCAGAGACTGCTCG
CACCTTGACGGTACCTAACCAAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC
CGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGCGAAATTATTGGCGTAAAGG
GCTCGCAGGCGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTAACCGGG
GAGGGTCATTGGAAACTGGAAACTTGAGTGAGAGACTGGAAT
TCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGA
AGGCGACTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGAGC
AACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAG
TGTTAGGGGTTCCGCCCTAGTGCTGCGACTAACGCTTAAGCACTCCG
CCTGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAACCGCTAGAGATAGGGCTTCCCTCGGG
CCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCCCTAGAGATAGGGCTTCCCTCGGG
ACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTGTGTCAGCTCGTGTGAGATGTT
GGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTGATCTTAGTGCCAGCATTAG
TTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTACAAACCGGAGGAAGGTGGGGAT
GACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGCTACACACGTGCTACAATG
GACAGAACAAAGGGCTGCAAGACCGCAAGGTTAGCCAATCCCATAATCT
GTTCTCAGTTGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGC
TAGTAATCGCGGATCAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCGGCCTGTAC
ACACCGCCCGTCACACCACGAGAGAGTTGCAACACCCGAAGTCGGTGAGGTA
ACCTTATGGAGGCCAGCCGCCGAAGGTGGGGCAGATGATTGGGG

> *Staphylococcus* sp. Be-8

TCAGGATGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGAACAGA
TAAGGAGCTGCTCCTTGAAAGTTAGCGGGGACGGGTGAGTAACACGTGG
GTAACCTACCTATAAGACTGGAATAACTTCGGGAAACCAGGAGCTAATGCCG
GATAACATATAGAACCGCATGGTTCTATAGTAAAGATGGTTTGCTATCAC
TTATAGATGGACCCGCGCCGTATTAGCTAGTTGGTAAGGTAAGGCTTACC
AAGGCAGACGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGAAC
GAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAAATCTCCGCAA
TGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCCGTGAAGTGAAGGTTTCGGA
TCGTAAAACCTGTTATTAGGAAAGAACAAATGCGTAAGTAACGTGCGCA
TCTTGACGGTACCTAATCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCG
CGGTAAACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGAATTATTGGCGTAAAGCGC
GCGTAGGCGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTAACCGTGG
GGTCATTGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATTCC
ATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAG
GCGACTTCTGGTCTGTAACGTGACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGATCAA
ACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGAAACGATGAGTGCTAAGTG
TTAGGGGTTCCGCCCCCTAGTGCTGCAGCTAACGCTTAAGCACTCCGCC
TGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGACCCG
ACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGAAAGCAACCGAAGAACCTTAC
CAAATCTTGACATCCTTGAAAACCTAGAGATAGAGCCTTCCCTCGGG
GACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAAGCTCGTGTGAGATGT
TGGGTTAAGTCCGCAACGAGCGAACCCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAA
GTTGGGCACTCTAGGTTGACTGCCGGTACAAACCGGAGGAAGGTGGGG
TGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTGGGCTACACACGTGCTACAAT
GGACAATACAAAGGGCAGCTAACCGCGAGGTGATGCAAATCCCATAAAGT
TGTTCTCAGTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCG
CTAGTAATCGTAGATCAGCATGCTACGGTGAATACGTTCCCCGGGTCTTGT
CACACCGCCCGTCACACCACGGAGAGTTGTAACACCCGAAGCCGGTGGAG
TAACCATTTATGGAGCTAGCCGTTGAAAGGTGGGACAAATGATTGGGG

> *Pantoea* sp. Be-9

GCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGGACGGTAG
CACAGAGAGCTTGCCTTGTTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCT
GGGGATCTGCCGATAGAGGGGATAACCACTGAAACGGTGGCTAATACC
GCATAACGTCGCAAGACCAAAGAGGGGACCTCGGGCCTCTCACTATCGG
ATGAACCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGCAGGGTAATGGCCCACCTAGGCG
ACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAC TGAGACA
CGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGCACAATGGCG
CAAGCCTGATGCAGCCATGCCCGTGTATGAAGAAGGCCTCGGGTTGTA
AGTACTTCAGCGGGAGGAAGCGATGAGGTTAATAACCGTGTGATTGA
CGTTACCCGCAGAAGAACCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAA
TACGGAGGGTGCAAGCGTTACGGAATTACTGGCGTAAAGCGCACGCAGG
CGGTCTGTTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGCTAACCTGGAAACTGCATT
TGAAACTGGCAGGCTTGAGTCTTAGAGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAG
CGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCC
TGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGAGCAAACAGGATT
AGATACCCGGTAGTCCACGCCGTAACCGATGTCGACTGGAGGTTGTTCCC
TTGAGGAGTGGCTCCGGAGCTAACCGTTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGAGTA
CGGCCGCAAGGTTAAAACCTAAATGAATTGACGGGGCCCGACAAGCGGT
GGAGCATGTGGTTAATTGATGCAACCGAAGAACCTTACCTACTCTGAC
ATCCAGCGAACTTAGCAGAGATGCATTGGTGCCTCGGAACGCTGAGACA
GGTGCATGGCTGTCGTCAAGCTCGTGTGAAATGTTGGTTAAGTCCC
GCAACGAGCGAACCCCTATCCTTGTGCCAGCGATTGGTGGGAACCTCA
AAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGT
CATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATA
AAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCACAAAGTGCCTCGTAG
TCCGGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAAT
CGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTGTACACACCGC
CCGTCACACCATTGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTAACCTTC
GGGAGGGCGCTTACCACTTGTGATTGACTGGGTGAA

> *Bacillus* sp. Be-10

CAGGACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGGACAGA
AGGGAGCTGCTCCGGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGT
AACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGAAACCGGAGCTAATACCGGA
TAGTTCCTGAACCGCATGGTCAAGGATGAAAGACGGTTCGGCTGTCACT
TACAGATGGACCCCGGGCGCATTAGCTAGTTGGTGGGTAATGGCTCACCA
AGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGACTG
AGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCGCAAT
GGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTCGGAT
CGTAAAGCTCTGTTAGGAAAGAACAAAGTGCAGAGAGTAAGTCTCGCAC
CTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTATTGGCGTAAAGGGCT
CGCAGGCGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTAACCGGGGAG
GGTCATTGGAAACTGGAAACTTGAGTGAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGG
CGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGG
CGACTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGGAAAGCGTGGGGAGCGAAC
AGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGAAACGATGAGTGCTAAGTGT
AGGGGTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTG
GGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCA
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGAAGCAACCGAAGAACCTTACCA
GGTCTGACATCCTCTGACAACCTAGAGATAGGGCTTCCCTCGGGGACA
GAGTGACAGGTGGCATGGTGTGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGT
TAAGTCCCGCAACGAGCGAACCCCTGATCTTAGTTGCCAGCATTGAC
GCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGAC
GTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGCTACACACGTGCTACAATGGAC
AGAACAAAGGGCTGCAAGACCGCAAGGTTAGCCAATCCCATAATCTGTT
CTCAGTTGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTA
GTAATCGCGGATCAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCCGGGCTGTACAC
ACCGCCCGTCACACCACGAGAGAGTTGCAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAAC
CTTATGGAGGCCAGCCGCCGAAGGTGGGGCAGATGATTGGGG

> *Bacillus* sp. Bl-1

GCTCAGGACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGGACA
GAAGGGAGCTGCTCCGGATGTTAGCGCGGACGGGTGAGTAACACGTGG
GTAACCTGCCTGTAAGACTGGATAACTCCGGAAACCGGAGCTAACACCG
GATAGTTCTTGAAACGCATGGTTCAAGGATGAAAGACGGTTCGGCTGTC
ACTTACAGATGGACCCGCGCGCATTAGCTAGTTGGTGGGTAATGGCTCA
CCAAGGCACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAAATCTCCGC
AATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGTGAGTGATGAAGGTTTCG
GATCGTAAAGCTCTGTTAGGAAAGAACAAAGTGCAGAGACTGCTCG
CACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC
CGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGCGAATTATTGGCGTAAAGGG
CTCGCAGGCGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTAACCGGGG
AGGGTCATTGGAAACTGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAAATT
CCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGA
AGGCGACTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGAGC
AACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAG
TGTTAGGGGTTCCGCCCCCTAGTGCTGCGACTAACGCTTAAGCACTCCG
CCTGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAACCGCTAGAGATAGGGCTTCCCTCGGG
CCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCCCTAGAGATAGGGCTTCCCTCGGG
ACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTGTGTCAGCTCGTGTGAGATGTT
GGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTGATCTTAGTGCCAGCATTAG
TTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTACAAACCGGAGGAAGGTGGGGAT
GACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGCTACACACGTGCTACAATG
GACAGAACAAAGGGCTGCAAGACCGCAAGGTTAGCCAATCCCATAATCT
GTTCTCAGTTGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGC
TAGTAATCGCGGATCAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCGGCCTGTAC
ACACCGCCCGTCACACCACGAGAGAGTTGCAACACCCGAAGTCGGTGAGGTA
ACCTTATGGAGGCCAGCCGCCGAAGGTGGGGCAGATGATTGGGG

> *Staphylococcus succinus* ML-1

GCTCAGGATGAACGCTGGCGCGTGCCTAATAACATGCAAGTCGAGCGAACG
GATAAGGAGCTGCTCCTTGAAGTTAGCGCGGACGGGTGAGTAACACGT
GGGTAACCTACCTATAAGACTGGAATAACTCGGGAAACCGGAGCTAATGC
CGGATAACATATAGAACCGCATGGTTCTATAGTGAAGATGGTTTGCTATC
ACTTATAGATGGACCCCGGCCGTATTAGCTAGTTGTAAGGTAATGGCTTAC
CAAGGCGACGATACTAGCCGACCTGAGAGGGTGATGGCCACACTGGAAC
TGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAAATCTTCCGCA
ATGGGCAGAACGCTGACGGAGCAACGCCCGTGAGTGATGAAGGTTTCGG
ATCGTAAAACCTGTTATTAGGAAAGAACAAATGCGTAAGTAACGTGCGC
ATCTTGACGGTACCTAATCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCC
GCGGTAAACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGAATTATTGGCGTAAAGCG
CGCGTAGGCGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTAACCGTGG
AGGGTCATTGAAACTGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATT
CCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGA
AGGCGACTTCTGGTCTGTAACTGACGCTGATGGCGAAAGCGTGGGATCA
AACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGT
GTTAGGGGTTCCGCCCCCTAGTGCTGCAGCTAACGCTTAAGCACTCCGC
CTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGACCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAACGCAACGCGAAGAACCTTA
CCAAATCTTGACATCCTTGAAAACCTAGAGATAGAGCCTCCCTTCGGG
GGACAAAGTGACAGGTGGTCATGGTGTGTCAGCTCGTGTGAGATG
TTGGGTTAAGTCCGCAACGAGCGAACCCCTAACGCTTAGTTGCCATCTTA
AGTGCGACTCTAGGTTGACTGCCGGTACAAACCGGAGGAAGGTGGGGA
TGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTGGGCTACACACGTGCTACAAT
GGACAATACAAAGGGCAGCTAACCGCGAGGTGATGCAAATCCCATAAAGT
TGTTCTCAGTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCG
CTAGTAATCGGTAGATCAGCATGCTACGGGTGAATACGTTCCCCGGTCTTG
TACACACCGCCGTACACCACGAAGAGTTGTAACACCCGAAGCCGGTG
GAGTAACCATTATGGAACCTAGCCGTCAAAGGTGGACAAATGATTGGG
GTGA

> *Staphylococcus succinus* ML-2

GCTCAGGATGAACGCTGGCGCGTGCCTAATAACATGCAAGTCGAGCGAACG
GATAAGGAGCTGCTCCTTGAAGTTAGCGCGGACGGGTGAGTAACACGT
GGGTAACCTACCTATAAGACTGGAATAACTCGGGAAACCGGAGCTAATGC
CGGATAACATATAGAACCGCATGGTTCTATAGTGAAGATGGTTTGCTATC
ACTTATAGATGGACCCCGGCCGTATTAGCTAGTTGTAAGGTAATGGCTTAC
CAAGGCGACGATACTAGCCGACCTGAGAGGGTGATGGCCACACTGGAAC
TGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAAATCTCCGCA
ATGGGCAGAACGCTGACGGAGCAACGCCCGTGAGTGATGAAGGTTTCGG
ATCGTAAAACCTGTTATTAGGAAAGAACAAATGCGTAAGTAACGTGCGC
ATCTTGACGGTACCTAATCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCC
GCGGTAAACGTAGGTGCAAGCGTTATCCGGATTATGGCGTAAGCGCGC
GTAGGCGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTAACCGTGGAGG
GTCATTGGAAACTGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATTCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGC
GACTTCTGGTCTGTAACTGACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAAC
AGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGT
AGGGGTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTG
GGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGACCCGCA
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCA
AATCTTGACATCCTTGAAAACCTAGAGATAGAGCCTCCCTCGGGGG
CAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAAGCTCGTGTGAGATGTTG
GGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAGT
TGGGCACTCTAGGTTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGA
CGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTGGGCTACACACGTGCTACAATGGA
CAATACAAAGGGCAGCTAAACCGCGAGGTCATGCAAATCCCATAAGTTGT
TCTCAGTTGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTA
GTAATCGTAGATCAGCATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGTCTGTACACA
CCGCCCGTCACACCACGAGAGAGTTGTAACACCCGAAGCCGGTGGAGTAACC
ATTAAGGAACCTACCCCTCAAAGGTGGAACAATGGATTGGGGTTAAATCC
TACAAGG

> *Staphylococcus succinus* ML-3

GGCTCAGGATGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGAAC
GGATAAGGAGCTTGCTCCTTGAAGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACG
TGGGTAACCTACCTATAAGACTGGAATAACTCGGGAAACCGGAGCTAATG
CCGGATAACATATAGAACCGCATGGTTCTATAGTGAAGATGGTTTGCTAT
CACTTATAGATGGACCCCGCGCCGTATTAGCTAGTTGGTAAGGTAATGGCTTA
CCAAGGCACGACGATACTGACGCCCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGAA
CTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGC
AATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCCGTGAGTGATGAAGGTTTCG
GATCGTAAAACCTCTGTTATTAGGAAAGAACAAATCGTAAGTAACGTGCG
CATCTTGACGGTACCTAATCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC
CGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGAATTATTGGCGTAAAGC
GCGCGTAGGCGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAGCCCACGGCTAACCGTG
GAGGGTCATTGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAAT
TCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGA
AGGCGACTTCTGGTCTGTAACTGACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGATC
AACACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAG
TGTTAGGGGTTCCGCCCCCTAGTGCTGCAGCTAACGCTTAAGCAACTCCG
CCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGACCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAACGCAACGCGAAGAACCTTA
CCAAATCTTGACATCCTTGAAAACCTAGAGATAGAGCCTCCCTTCGGG
GGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTAGCTCGTGTGAGATG
TTGGGTTAAGTCCGCAACGAGCGAACCCCTAACGCTTAGTTGCCATCATTA
AGTGCGCAACTCTAGGTTGACTGCCGGTACAAACCGGAGGAAGGTGGGGA
TGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTGGGCTACACACGTGCTACAAT
GGACAATACAAAGGGCAGCTAACCGCGAGGTGATGCAAATCCCATAAAGT
TGTTCTCAGTTGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCG
CTAGTAATCGTAGATCAGCATGCTACGGTGAATACGTTCCGGGTCTGTAC
ACACCGCCCGTCACACCACGAGAGGTTGTAACACCCGAAGCCGGTGGAGTA
ACCATTATGGAGCTAGCCGTCGAAGGTGGAAAATGATTGGGTGA

> *Enterococcus sp.* ML-4

TCTGCTCAGGACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGC
TTTTCTTCACCAGGAGCTTGCTCCACCGAAAGAAAAAGAGTGGCGAACGG
GTGAGTAACACGTGGTAACCTGCCATCAGAAGGGATAACACTTGGAAA
CAGGTGCTAATACCGTATAACACTATTTCCGCATGGAAGAAAGTTGAAAG
GCGCTTTCGTCACTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGA
GGTAACGGCTACCAAGGCAACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGTG
GCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAG
GGAATCTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGA
AGAAGGTTTCGGATCGTAAACTCTGTTAGAGAAGAACAGGATGAG
AGTAAAACGTTCATCCCTGACGGTATCTAACCAAGAACGCCACGGCTAACT
ACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGCAAGCGTTGTCCGGATTAA
TTGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCC
CGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAG
AGGAGAGTGBAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGA
ACACCACTGGCGAAGGCGCTCTGGTCTGTAACGACGCTGATGCTCGA
AAGCGTGGGAGCGAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGAAAC
GATGAGTGCTAAGTGTGGAGGTTCCGCCCTCAGTGCAGCAAACG
CATTAAGCACTCCGCCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGA
ATTGACGGGGGCCGCACAAGCGTGGAGCATGTGGTTAATTGAAAGCAA
CGCGAAGAACCTTACCAAGGTCTTGACATCCTTGACCAACTAGAGATAGA
GCTTCCCCTCGGGGCAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTGTGTCAGCTCG
TGTGAGATGTTGGTTAAGTCCGCAACGAGCGAACCCATTGTTAG
TTGCCATCTTGTGGGACTCTAGCGAGACTGCCGGTACAAACCGGA
GGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTATGACCTGGCTAC
ACACGTGCTACAATGGGAAGTACAACGAGTTGCGAAGTCGCGAGGCTAAC
TAATCTCTAAAGCTCTCAGTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACA
TGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGGTGAATACGT
TCCCGGGCCTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTGTAACACCCG
AAGTCGGTGAGGTAACCTTTGGAGCCAGCCGCCTAAAGTGGGATAGATG
ATTGGGGTTGAATCCTAC

> *Staphylococcus* sp. ML-5

GCGTCCTATACTGCAAGTCGAGCGAAAGATAAGGAGCTGCTCCTTGACG
TTAGCGCGGACGCTTAAGTAACACGTGGTAACCTACCTATAAGACTGGG
ATAACTTGGAAACCGGAGCTAATACCGATAACATTGGAACCGCATGG
TTCTAAAGTCAAAGATGGTTTGCTATCACTTATAGATGGACCCGCGCGTA
TTAGCTAGTTGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGCAACGATACTGAGCCGAC
CTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGAACGTGAGACACGGTCCAGACTCCTAC
GGGAGGCAGCAGTAGGAAATCTCCGCAATGGCGAAAGCCTGACGGAGC
AACGCCGCGTGAGTGATGAAGGGTTGGCTCGTAAAACCTCTGTTATTAGG
GAAGAACAAATGTGTAAGTAACTGTGCACATCTGACGGTACCTAATCAGA
AAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAG
CGTTATCCGAATTATTGGCGTAAAGCGCGTAGGCGGTTCTTAAGTCT
GATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGAAAC
TTGAGTGCAGAACAGAGGAAAGTGGAAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCA
GAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTCTGGTCTGTAACTGA
CGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGATCAAACAGGATTAGATAACCGTGGTAGT
CCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTAAAGGGGTTCCGCCCTTAGT
GCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGAGTACGACCGCAAGGTT
GAAACTCAAAGGAATTGACGGGACCCGCACAAGCGTGGAGCATGTGGTT
TAATTGAAAGCAACCGAAGAACCTTACCAAATCTGACATCCTTGAAAAA
CTCTAGAGATAGAGCCTCCCTTCGGGGACAAAGTGTGACAGGTGGTGCAT
GGTGTGTCAGCTCGTGTGAAATGTGGTTAAGTCCGCAACGAGCG
CAACCCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAGTGGCACTCTAGGTTGACTGC
CGGTGACAACCGGAGGAAAGGGTGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCT
TATGATTGGCTACCAACGTGCTACAATGGCAATAACAAAGGGCACCTTA
ACCCCGAAGGCATGCAAATCCCCAAAAGTTGGCCAATTGATGGATCC
CGAACCCCCACAACATGAAGCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGCATGC
TACGGTGAATACGTTCCGGGTCTGTACACACCGCCGTCATGAAGAGGA
GAGTTGTAACACCCGAAGCCGGTGGAGTAACCATTATGGAGCTAGCCGT
TGAAGTGTGACCAAA

> *Enterococcus sp.* ML-6

TCAGGACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGCTTTT
CTTCACCGGAGCTTGCTCCACCAGAAAGAAAAAGAGTGGCGAACGGGTGAG
TAACACGTGGTAACCTGCCATCAGAAGGGATAACACTTGGAAACAGGT
GCTAATACCGTATAACACTATTTCCGCATGGAAGAAAGTTGAAAGGCGCT
TTTGCCTACTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAGGGTAA
CGGCTCACCAAGGCAACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTAGCGGCCAC
ACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAA
TCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTAGTGAAGAA
GGTTTCGGATCGTAAAAGTCTGTTAGAGAAGAACAGGATGAGAGTA
AACGTTCATCCCTGACGGTATCTAACCAAGAAAGCCACGGCTAACTACGT
GCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGCCGGATTATTGG
GCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGC
TCAACCAGGGAGGGTCATTGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAACAGGAA
GAGTGGAAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATGGAGGAACAC
CACTGGCGAACGGCGCTCTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGCTCGAAAGC
GTGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGAAACGATG
AGTGCTAAGTGGAGGGTTCCGCCCTCAGTGCTGCAGCAAACGCATTA
AGCACTCCGCCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGA
CGGGGGCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGAAAGAACCGCGA
AGAACCTTACCAAGGTCTTGACATCCTTGACCAACTCTAGAGATAGAGCTTCC
CCTTCGGGGCAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTGTGTCAGCTCGTGTGCGT
GAGATGTTGGGTTAAGTCCGCAACGAGCGAACCCCTATTGTTAGTTGCCA
TCATTAGTTGGGCACTCTAGCGAGACTGCCGTGACAAACCGGAGGAAGG
TGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGCTACACACGTGC
TACAATGGGAAGTACAACGAGTTGCGAACGCGAGGCTAACGCTAACGCT
TAAAGCTTCTCTCAGTTGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCCG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCGCGGGTGAAATACGTTCCCCGG
GCCTTGTACACACCGCCCGTACACCCACGAGAGAGTTGTAACACCCGAAGTC
GGTAGGTAACCTTTGGAGCCAGCCGCTAACGGTGGGATAGATGATTGG
GGGTGA

> *Bacillus pumilus* PB-1

GGACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGGACAGAAG
GGAGCTTGCTCCGGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGTAA
CCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGAAACCGGAGCTAACCGGATA
GTTCCCTGAACCGCATGGTTCAAGGATGAAAGACGGTTCGGCTGTCACCTA
CAGATGGACCCGCGCGCATTAGCTAGTTGGTGGGTAATGGCTCACCAAG
GCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTATCGGCCACACTGGGACTGAG
ACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAAATCTCCGCAATGG
ACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGTGAGTGATGAAGGTTTCGGATCG
TAAAGCTCTGTTAGGAAAGAACAAAGTGCAGAGACTGCTCGCACCT
TGACGGTACCTAACCAAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCG
TAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGCCGAATTGGCGTAAAGGGCTCGC
AGGC GGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTAACCGGGGAGGGT
CATTGGAAACTGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAAATTCCACGT
GTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAACGGCA
CTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGAGCGAACAG
GATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTAG
GGGGTTCCGCCCTAGTGCTGCAGCTAACGCTAACGCACTCCGCTGGG
GAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGACA
AGCGGTGGAGCATGTGGTTAACCGCAACGCCGAAAGAACCTTACCAAGG
TCTTGACATCCTCTGACAACCCCTAGAGATAGGGCTTCCCTCGGGACAGA
GTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCACTCGTGTGAGATGTTGGGTTA
AGTCCCGCAACGAGCGAACCCCTGATCTTAGTTGCCAGCATTAGTTGGG
ACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGATGACGTCA
AATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAGA
ACAAAGGGCTGCGAGACCGCAAGGTTAGCCAATCCCATAAATCTGTTCTC
AGTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTA
ATCGCGGATCAGCATGCCCGGGTGAATACCTTCCGGGCCTGTACACAC
CGCCCGTCACACCCCGAGAGAGTTGCAACACCCGAAGTCCGGTGAGGTAACC
TTTATGGAGCCAGCCGCCGAAGGTGGGGCAGATGATTGGGGTGA

> *Staphylococcus* sp. PB-2

CAGGATGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGAACAGAT
GAGAAGCTGCTCTGTAGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGG
TAACCTACCTATAAGACTGGATAACTCCGGAAACCGGGCTAATACCGG
ATAATATTTGAACCGCATGGTCAATAGTGAAGAGACGGTTCGGCTGTCAC
TTATAGATGGACCCGCGCGTATTAGCTAGTTGGTAAGGTAATGGCTTACCA
AGGCGACGATACTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGAACCTG
AGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAAT
GGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCGTAGTGAAGGTCTCGGAT
CGTAAAACCTGTGTTAGGGAAAGAACAAATTGTTAGTAACGAAACAAGT
CTTGACGGTACCTAACCAAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTATACCGGATAGTTGGCGTAAAGCGCG
CGTAAGGCGGTTTTAAGTTGATGTGAAAGCCCACGGCTAACCGTGG
GGGTCAATTGAAACTGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGATTCC
ATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAG
GCCGCTCTGGTCTGTAACGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGATCAA
ACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGAAACGATGAGTGCTAAGTG
TTAGGGGTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCTTAAGCACTCCGCC
TGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGACCCG
CACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGAAAGCAACCGAAGAACCTTAC
CAAATCTTGACATCCTTGACCGCTCTAGAGATAGAGTCTTCCCTCGGG
GACAAAGTGACAGGTGGTCATGGTTGTCGTAGCTCGTGTGAGATGT
TGGGGTTAAGTCCGCAACGAGCGAACCTTAAGCTTAGTGCATCATT
AGTGCGCACTCTAGGTTGACTGCCGGTACAAACCGGAGGAAGGTGGG
TGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTGGCTACACACGTGCTACAAT
GGATAATACAAAGGGCAGCGAATCCCGAGGGCAAGCAAATCCCATAAAA
TTATTCTCAGTTGGATTGAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATC
GCTAGTAATCGTAGATCAGCATGCTACGGTGAATACGTTCCGGTCTGTAC
ACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTGTACACCGGAAGCCGTGGAGTAA
CCTTTAGAGCTAGCCTCGAAAGTGGACAATGATTGGG

> *Enterococcus* sp. PB-3

GACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGCTCTTTCCC
ACCGGAGCTTGCTCCACCAGGAAAAGAGGAGTGGCGAACGGGTGAGTAAC
ACGTGGGTAACCTGCCCATCAGAAAGGGATAACACTGGAAACAGGTGCTA
ATACCGTATAACAATCGAAACCGCATGGTTGTTGAAAGGCGCTTACG
GTGCCGCTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACG
GCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTATCGGCCACAT
TGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAAATCT
TCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGTGAGTGAAGAAGG
TTTCGGATCGTAAAACCTGTTAGAGAAGAACACAAGGGTGAGAGTAAC
TGTTCACCCCTTGACGGTATCTAACCAAGAACGCCACGGCTAACTACGTGCCA
GCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGATTATTGGCGT
AAAGCGAGCGCAGGCGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGCTCAA
CCGGGGAGGGTATTGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGT
GGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATGGAGGAACACCACT
GGCGAAGCCGGCTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGG
GGAGCAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTG
CTAAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTCAGTGCTGCAGCTAACGCTTAAGCA
CTCCGCCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGG
GGCCCGACAAGCGTGGAGCATGTGGTTAATTGAAGCAACGCGAAGAA
CCTTACCAGGTCTGACATCCTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTCC
CGGGGGCAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTAGCTCGTGTGAG
ATGTTGGGTTAAGTCCGCAACGAGCGCAACCCTATTGTTAGTGCATCA
TTTAGTTGGGCACTCTAGCAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGG
GGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGCTACACACGTGCTAC
AATGGGAAGTACAACGAGTCGCGAACGAGCGAGGCTAACGCTAACGCTTAA
AGCTTCTCTCAGTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCCGGAA
TCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGGGTGAATACGTTCCCGGGCC
TTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAAGAGTTGTAACACCCGAAGTCGG
TGAGGTAACCTTTGGAGGCCAGCCGCCTAACGGTGGGATAGATGATTGGGG
GTGAA

> *Alcaligenes faecalis* PB-4

AGATTGAACGCTAGCGGGATGCTTACACATGCAAGTCGAACGGCAGCGCG
AGAGAGCTGCTCTTGGCGCGAGTGGCGACGGGTGAGTAATATATCG
GAACGTGCCAGTAGCGGGGATAACTACTCGAAAGAGTGGCTAATACCGC
ATACGCCCTACGGGGAAAGGGGGATCGCAAGACCTCTCACTATTGGAG
CGGCCGATATCGGATTAGCTAGTTGGTGGGTAAAGGCTCACCAAGGCAAC
GATCCGTAGCTGGTTGAGAGGACGACCAGCCACACTGGGACTGAGACACG
GCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATTTGGACAATGGGGAA
ACCCTGATCCAGCCATCCCGCGTGTATGATGAAGGCCTCGGGTTGTAAGT
ACTTTGGCAGAGAAGAAAAGGTATCCCCTAACGGGATACTGCTGACGG
TATCTGCAGAATAAGCACCGCTAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAATAC
GTAGGGTCAAGCGTTAACCGATGACTGGCGTAAAGCGTGTGAGGCG
GTTCGGAAAGAAAGAATGTGAAATCCCAGGGCTAACCTTGGAACTGCATT
TTAACTGCCGAGCTAGACTATGTCAGAGGGGGTAGAATTCCACGTGTAG
CAGTGAAATGCGTAGATATGTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCCC
TGGGATAATACTGACGCTCAGACACGAAAGCGTGGGAGCAAACAGGATT
AGATACCCCTGGTAGTCCACGCCCTAACCGATGTCAACTAGCTGTTGGGCC
GTTAGGCCTAGTAGCGCAGCTAACCGTGAAGTTGACCGCCTGGGAGTA
CGGTCGCAAGATTAACCGTAAAGGAATTGACGGGACCCGCACAAGCGGT
GGATGATGTGGATTAATTGATGCAACCGAAAAACCTTACCTACCCCTGA
CATGTCTGGAAAGCCGAAGAGAGATTGGCCGTGCTCGCAAGAGAACCGGAAC
ACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAAGCTCGTGTGAGATGTTGGTTAAGT
CCCGCAACGAGCGAACCCCTGTCATTAGTGCTACGCAAGAGCACTCTAAT
GAGACTGCCGGTACAACCGGAGGAAGTGGGATGACGTCAGTCCTCATGG
CCCTTATGGTAGGGCTTCCACGTCAACATGGTCGGACAGAGGGTCGC
CACCCCGAGGGGAGCCATCTCAGAAACCGATCGTAGTCGGATCGCATCT
GCACTCGCTGCGTGAATCGGAATCGCTAGTATCGCGGATCAAATGTCGCGG
TGAAACGTTCCGGTCTTGTACACACCGCCGTACACATGGGAGTGGTTCA
CAGAAGTAGTACCTACCGTAGGAGGCCTACACGGTGGATCTGATGGGG

> Enterobacter cloacae PB-5

GCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAACGGTAG
CACAGAGAGCTGCTCTCGGGTGACGAGTGGCGACGGGTAGTAATGTCT
GGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACC
GCATAACGTCGAAGACCAAAGAGGGGGACCTCGGGCCTTGCCTACAG
ATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGTAACGGCTCACCTAGGCG
ACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAACGTGAGACA
CGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGCACAATGGCG
CAAGCCTGATGCAGCCATGCCCGTGTATGAAGAAGGCCTCGGGTTGTA
AGTACTTCAGCGGGAGGAAGGTGTTGTTAATAACCGCAGCAATTGA
CGTTACCCGCAGAAGAACCGCTAACCTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAA
TACGGAGGGTGCAAGCGTTAACCGAATTACTGGCGTAAAGCGCACGCAG
GCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGCTAACCTGGGAACGTGCA
TTCGAAACTGGCAGGCTAGAGATCTGGAGGAATACCGTGGCGAAGGCGGCC
CCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGTGCAGCGTGGGAGCAAACAGGA
TTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGATGTCGACTGGAGGTTGTC
CCTTGAGGCGTGGCTCCGGAGCTAACCGTTAACGCGTAAAGTCGACCGCCTGGGAG
TACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGCCGCACAAGCG
GTGGAGCATGTGGTTAACCGATGCAACCGAAGAACCTTACCTACTCTG
ACATCCAGAGAACTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTCGGGAACTCTGAGA
CAGGTGCTGCATGGCTGCGTCAGCTCGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTC
CCGCAACGAGCGCAACCCTATCCTTGTGCCAGCGTCCGGCCGGAACT
CAAAGGAGACTGCCAGTGATAAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAA
GTCATCATGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATA
CAAAGAGAACCGAACTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCCTCGT
AGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTA
ATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCGGCCTTGTACACACC
GCCCGTCACACCATTGGGAGTGGGTTGAAAAGAAGTAGGTAGCTAACCT
TCCGGGAGGGCGCTTACCACTTGTGATTGACTGGGGTGAA

> *Enterococcus mundtii* PB-6

GACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGCTCTTTCCC
ACCGGAGCTTGCTCCACCAGGAAAAGAGGAGTGGCGAACGGGTGAGTAAC
ACGTGGGTAACCTGCCCATCAGAAAGGGATAACACTGGAAACAGGTGCTA
ATACCGTATAACAATCGAAACCGCATGGTTGTTGAAAGGCGCTTACG
GTGCCGCTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACG
GCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTATCGGCCACAT
TGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAAATCT
TCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGTGAGTGAAGAAGG
TTTCGGATCGTAAAACCTCTGTTAGAGAAGAACACAAGGGTGAGAGTAAC
TGTTCACCCCTTGACGGTATCTAACCAAGAACGCCACGGCTAACTACGTGCCA
GCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGATTATTGGCGT
AAAGCGAGCGCAGGCGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGCTCAA
CCGGGGAGGGTATTGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAACAGGAGAGT
GGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCA
GGCGAAGCCGGCTCTCTGGTCTGTAACACTGACGCTGAGGCTCGAACCGTG
GGGAGCAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGT
GCTAAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTCAGTGTGAGCTAACGCATTAAGC
ACTCCGCCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGGCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGAAGCAACCGAAGA
ACCTTACCAAGGTCTGACATCCTTGACCACTCTAGAGATAGAGTAGCT
TCGGGGCAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTAGCTCGTGTGA
GATGTTGGTTAAGTCCCACGAGCGAACCCCTATTGTTAGTGTGCCATC
ATTAGTTGGCACTCTAGCAAGACTGCCGTGACAAACCGGAGGAAGGTG
GGGGATGACGTCAAATCATGCCCCCTATGACCTGGGCTACACACGTGCT
ACAATGGGAAGTACAACGAGTCGCGAACGCGAGGCTAACGTAATCTCTT
AAAGCTTCTCTCAGTTGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCCGG
AATCGCTAGTAATCGCGGATCACACGCCGGGGAAAAACCTTCCCGGGC
CTTGTACACACCGCCCGTACACCACCGAGAGTTGTAACACCCGAAGTCG
GTGAGGTAACCTTTGGAGGCCAGCCGCCTAAAGTGGGATAGATGATTGGG
GGTGAA

> *Enterococcus* sp. PB-7

CTCAGGACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGCTTT
TCTTCACCGGAGCTGCTCCACCGAAAGAAAAAGAGTGGCGAACGGGTGA
GTAACACGTGGTAACCTGCCCATCAGAAGGGATAACACTTGAAACAGG
TGCTAATACCGTATAACACTATTTCCGCATGGAAGAAAGTTGAAAGGCGC
TTTGCCTCACTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAGGTA
ACGGCTCACCAAGGCAACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTAGCGGCCA
CACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGA
ATCTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGTGAGTGAAGA
AGGTTTCGGATCGTAAAACCTCTGTTAGAGAAGAACAGGATGAGAGT
AAAATGTTCATCCCTGACGGTATCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACG
TGCCAGCAGCCCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGCCGATTATTG
GGCGTAAAGCGAGCGCAGGCAGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCG
CTCAACCAGGGAGGGTCACTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAACAGG
AGAGTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACA
CCAGTGGCGAAGGGCGCTTCTGGTCTGTAAGTGCAGCAAACGCATT
CGTGGGAGCGAACAGGATTAGATACCGCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGAT
GAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTCAGTGCTGCAGCAAACGCATT
AAGCACTCCGCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTG
ACGGGGGCCGCACAAGCGTGGAGCATGTGGTTAATTGAAGCAACGCG
AAGAACCTTACCAAGGTCTGACATCCTTGACCAACTCTAGAGATAGAGCTC
CCCTCGGGGCAAAGTGCAGGGTGCATGGTGTGTCAGCTCGTGT
GTGAGATGTTGGGTTAAGTCCGCAACGAGCGAACCCATTGTTAGTTGC
CATCATTAGTTGGCACTCTAGCGAGACTGCCGTGACAAACCGGAGGAA
GGTGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGCTACACACG
TGCTACAATGGGAAGTACAACGAGTTGCGAAGTCGCGAGGCTAACGTAATC
TCTTAAAGCTCTCAGTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAG
CCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCC
GGGCCTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTGTAACACCCGAAG
TCGGTGAGGTAACCTTGGAGGCCAGCCGCTAACGGTGGGATAGATGATTG
GGGGTGAAGTCGTAAC

> *Enterococcus* sp. PB-8

TCAGGACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGCTTTT
CTTCACCGGAGCTTGCTCCACCAGAAAGAAAAAGAGTGGCGAACGGGTGAG
TAACACGTGGTAACCTGCCATCAGAAGGGATAACACTTGGAAACAGGT
GCTAATACCGTATAACACTATTTCCGCATGGAAGAAAGTTGAAAGGCGCT
TTTGCCTACTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAGGGTAA
CGGCTCACCAAGGCAACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTAGCGGCCAC
ACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAA
TCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTAGTGAAGAA
GGTTTCGGATCGTAAAAGTCTGTTAGAGAAGAACAGGATGAGAGTA
AAATGTTCATCCCTGACGGTATCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGT
GCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGCCGGATTATTG
GGCGTAAAGCGAGCGCAGGCAGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGG
CTCAACCGGGGAGGGTATTGAAACTGGGAGACTTGAGTCAGAACAGG
AGAGTGGATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATGGAGGAACA
CCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAC TGACGCTGAGGCTCGAAAG
CGTGGGAGCGAACAGGATTAGAACCTGGTAGTCCACGCCGAAACGAT
GAGTGCTAAGTGGAGGGTTCCGCCCTCAGTGCTGCAGCAAACGCATT
AAGCACTCCGCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTG
ACGGGGGCCGCACAAGCGTGGAGCATGTGGTTAATTGAAGCAACGCG
AAGAACCTTACCAAGGTCTGACATCCTTGACCAACTCTAGAGATAGAGCTC
CCCTCGGGGCAAAGTACAGGTGGTGCATGGTGTGTCAGCTCGTGTGTC
GTGAGATGTTGGGTTAAGTCCGCAACGAGCGAACCCATTGTTAGTTGC
CATCATTAGTTGGCACTCTAGCGAGACTGCCGTGACAAACCGGAGGAA
GGTGGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGCTACACAC
GTGCTACAATGGGAAGTACAACGAGTTGCGAAGTCGCGAGGCTAAGCTAAT
CTCTAAAGCTCTCAGTTGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAA
GCCGGAAATCGCTAGTAATCGCGGATCACACGCCGCGGTGAAAAACCTTC
CCGGGGCCTGTACACACCGGCCGTCACACCACGGAGAGTTGTAACACC
CGAAGTCGGTGAGGTAACCTTGAGGCCAGCCGCTAAAGTGGGATAGAT
GATTGGGGGTGAA

> *Enterococcus* sp. PB-9

GACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGCTCTTTCCC
ACCGGAGCTTGCTCCACCAGGAAAAGAGGAGTGGCGAACGGGTGAGTAAC
ACGTGGGTAACCTGCCCATCAGAAAGGGATAACACTGGAAACAGGTGCTA
ATACCGTATAACAATCGAAACCGCATGGTTGTTGAAAGGCGCTTACG
GTGCCGCTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACG
GCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTATCGGCCACAT
TGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAAATCT
TCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGTGAGTGAAGAAGG
TTTCGGATCGTAAAACCTCTGTTAGAGAAGAACAAAGGGTGAGAGTAAC
TGTTCACCCCTTGACGGTATCTAACCAAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCA
GCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGATTATTGGCGT
AAAGCGAGCGCAGGCGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGCTCAA
CCGGGGAGGGTATTGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGT
GGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCA
GGCGAAGCCGGCTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGG
GGAGCAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTG
CTAAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTCAGTGCTGCAGCTAACGCTTAAGCA
CTCCGCCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGG
GGCCCGACAAGCGTGGAGCATGTGGTTAATTGAAGCAACGCGAAGAA
CCTTACCAGGTCTGACATCCTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTCCCCT
CGGGGGCAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTAGCTCGTGTGAG
ATGTTGGGTTAAGTCCGCAACGAGCGCAACCCTATTGTTAGTTGCCATCA
TTTAGTTGGGCACTCTAGCAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGG
GGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGCTACACACGTGCTA
CAATGGGAAGTACAACGAGTCGCGAACGCGAGGGCTAAGCTAACCTTA
AAGCTTCTCTCAGTTGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCCGG
ATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGGGTGAAAAACGTTCCCGGGG
CCTGTACACACCCGCCGTACACCACGGAGAGGTTGTAACACCCCGAAG
TCGGTGAAGGTAACCTTTGGAGGCCAGCCCTAAAGTGGGATAGATGA
TTGGGGGTGAA

> Enterobacter cloacae PB-10

GCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAACGGTAGCACAGAGAGCTTG
CTCTCGGGTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGAAACTGCCTG
ATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTGCA
AGACCAAAGAGGGGGACCTCGGGCCTTGCCATCAGATGTGCCAGATG
GGATTAGCTAGTAGGTGGGTAACGGCTCACCTAGGCACGATCCCTAGCT
GGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAACGTGAGACACGGTCCAGACTCC
TACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGACAATGGCGCAAGCCTGATGCA
GCCATGCCCGTGTATGAAGAAGGCCTCGGGTTGAAAGTACTTCAGCG
GGGAGGAAGGTGTTGTTAATAACCGCAGCAATTGACGTTACCCGAGA
AGAACGACCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAAACGGAGGGTGCA
AGCGTTATCGGAAGACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCCGGTCTGTCAAG
TCGGATGTGAAATCCCCGGGCTAACCTGGAACTGCATTGAAACTGGCA
GGCTAGAGTCTGTAGAGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGC
GTAGAGATCTGGAGGAATACCGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGA
CTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGAGCAAACAGGATTAGATACCGTGG
TAGTCCACGCCGTAACGATGTCACTGGAGGTTGTGCCCTGAGCGTG
GCTTCCGGAGCTAACCGTTAACGCGCTGGGAGTACGCCGCAAG
GTTAAAACCAAATGAATTGACGGGGCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTG
GTTAATTGATGCAACCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAA
CTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATG
GCTGTCGTAGCTCGTGTGAAATGTTGGTTAAGTCCCGCAACGAGCG
AACCCCTATCCTTGTGCCAGCGTCCGGCCGGAACTCAAAGGAGACTG
CCAGTGATAAAACTGGAGGAAGGTGGGATGACGTCAAGTCATCATGCC
TACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGA
ACTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAG
TCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAA
TGCTACGGTGAATACGTTCCGGCCTGTACACACCGCCGTACACCCATG
GGGAAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTAACCTCCGGAGGGCGC
TTACCACTTGTGATTGACTGGGTGA

> *Pseudomonas* sp. PB-11

AGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAGAGA
GAAGCTTGTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATC
TGCCTGGTAGTGGGGATAACGTTCGAACGGACGCTAACACCGCATACG
TCCTACGGGAGAAAGCAGGGACCTCGGGCCTGCGCTATCAGATGAGCC
TAGGTGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCACGATCC
GTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAAC TGAGACACGGTCCA
GACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGGACAATGGCGAAAGCCT
GATCCAGCCATGCCCGTGTGAAGAAGGTCTCGGATTGTAAAGCACTTT
AAGTTGGGAGGAAGGGTTGTAGATTAATACTCTGCAATTGACGTTACCG
ACAGAATAAGCACCGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCCGGTAAACAGAGG
GTGCAAGCGTTAACCGAATTACTGGCGTAAAGCGCGCTAGGTGGTTG
TTAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGGCTAACCTGGAACTGCATTCAAAC
TGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTGGAAATTCTGTGTAGCGGTGA
AATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCACTGGCGAAGGCACACCTGGAC
TAATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGAGCAAACAGGATTAGATAC
CCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGAAGCCTTGAG
CTTTAGTGGCGCAGCTAACGCTTAAGTTGACCCGCTGGGAGTACGGCC
GCAAGGTTAAAACCTAAATGAATTGACGGGGCCCGACAAGCGGTGGAG
CATGTGGTTAACCGAAGCAACCGAAGAACCTTACCAAGGCCTGACATC
CAATGAACCTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTCGGGAACATTGAGACAGGT
GCTGCATGGCTGTCGTAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTA
ACGAGCGCAACCCTGTCCTAGTTACCAGCACGTTATGGTGGGACTCTAA
GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGATGACGTCAAGTCAT
CATGGCCCTTACGCCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAG
GGTGGCCAAGCCCGAGGTGGAGCTAACCGATCGTAGTCCG
GATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCG
AATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTGTACACACCGCCCCGTC
ACACCATGGGAGTGGGTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTCGGGA
GGACGGTTACCACGGTGTGATTGACTGGGGTGAAGTC

> *Bacillus pumilus* PB-12

TCAGGACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGGACAGA
AGGGAGCTGCTCCGGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGT
AACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGAAACCGGAGCTAATACCGGA
TAGTCCTGAACCGCATGGTCAAGGATGAAAGACGGTTCGGCTGTCACT
TACAGATGGACCCCGGGCGCATTAGCTAGTTGGTGGGTAATGGCTCACCA
AGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGACTG
AGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCGCAAT
GGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTCGGAT
CGTAAAGCTCTGTTAGGGAAAGAACAAAGTGCAGAGAGTAAGTCTCGCAC
CTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGTATTATTGGCGTAAGGGCTC
GCAGGCGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTAACCGGGGAGG
GTCATTGGAAAATGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAAATTCCAC
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGC
GACTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGAGCGAAC
AGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGAAACGATGAGTGCTAAGTGT
AGGGGTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTG
GGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCA
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGAAGCAACCGAAGAACCTTACCA
GGTCTGACATCCTCTGACAACCTAGAGATAGGGCTTCCCTCGGGACA
GAGTGACAGGTGGCATGGTGTGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGT
TAAGTCCCGCAACGAGCGAACCCCTGATCTTAGTTGCCAGCATTAGTTGG
GCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGATGACGT
CAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGCTACACACGTGCTACAATGGACA
GAACAAAGGGCTGCGAGACCGCAAGGTTAGCCAATCCCATAAATCTGTT
TCAGTTGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGT
AATCGCGGATCAGCATGCCCGGGTGAATACGTTCCGGGCTTGTACACA
CCGCCCGTCACACCACGAGAGAGTTGCAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACC
TTTATGGAGCCAGCCGCCGAAGGTGGGGCAGATGATTGGGGTGAA

> *Enterococcus* sp. PB-13

GACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGCTCTTTCCC
ACCGGAGCTTGCTCCACCAGGAAAAGAGGAGTGGCGAACGGGTGAGTAAC
ACGTGGGTAACCTGCCCATCAGAAAGGGATAACACTGGAAACAGGTGCTA
ATACCGTATAACAATCGAAACCGCATGGTTGTTGAAAGGCGCTTACG
GTGCCGCTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACG
GCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTATCGGCCACAT
TGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAAATCT
TCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGTGAGTGAAGAAGG
TTTCGGATCGTAAAATCTGTTAGAGAAGAACACAAGGGTGAGAGTAAC
TGTTCACCCCTTGACGGTATCTAACCAAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCA
GCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGGTGATCCGGATTGTTGAGGC
GTAAAGCGAGCGCAGGCAGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTC
AACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAACAGGAGA
GTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATCGTAGATATATGGAGGAACACCA
GTGGCGAAGGCGGCTCTGGTCTGTAACGACGCTGAGGCTCGAAAGCGT
GGGAGCAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAG
TGCTAAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAG
CACTCCGCCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACG
GGGGCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGAAGCAACGCGAAG
AACCTTACCAAGGTCTTGACATCCTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTCCC
TTCGGGGCAAAGTGACAGGTGGCATGGTGTGTCAGCTCGTGTG
AGATGTTGGGTTAAGTCCGCAACGAGCGAACCCATTGTTAGTGTG
CATTAGTTGGCACTCTAGCAAGACTGCCGGTACAAACCGGAGGAAGGT
GGGGATGACGTCAAATCATGCCCTTATGACCTGGCTACACACGTGCT
ACAATGGGAAGTACAACGAGTCGCGAACGCGAGGCTAACGCTAATCTCTT
AAAGCTTCTCTCAGTTGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCCGG
AATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGGGTGAAAACCGTCCCGGG
CCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGGAGAGTTGTAACACCCCGAAGT
CCGGTGAGGTAACCTTTGGAGGCCAGCCGCCTAAAGTGGGATAGATGAT
TGGGGGTGAA

> *Pseudomonas* sp. PB-14

GCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAG
AGAGAAGCTGCTTCTCTTGAGAGCGGCCGACGGGTGAGTAATGCCTAGGA
ATCTGCCTGGTAGTGGGGATAACGTTCGAAACGGACGCTAACATACCGCAT
ACGTCCCTACGGGAGAAAGCAGGGACCTCGGGCCTGCGCTATCAGATGA
GCCTAGGTGGATTAGCTAGTTGGTAGGTAATGGCTACCAAGGCGACGA
TCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAAC TGAGACACGGT
CCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGGACAATGGCGAAA
GCCTGATCCAGCCATGCCCGTGTGAAGAAGGTCTCGGATTGTAAAGC
ACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGTTGTAGATTAATACTCTGCAATTGACGTT
ACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACA
GAGGGTCAAGCGTTAACCGAATTACTGGCGTAAAGCGCGTAGGTGG
TTTGTAAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGCTAACCTGGGAACACTGCATTCAA
AACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTGGAAATTCCCTGTGTAGCGG
TGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTG
GACTAATACTGACACTGATGTCGAAAGCGTGGGAGCAAACAGGATTAGAT
ACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGATGTCAACTAGCCGTTGGAAGCCTTG
AGCTTTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACGGGGCCGCACAAGCGTGG
CCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGCCGCACAAGCGTGG
GCATGTGGTTAACCGAAGCAACCGAAGAACCTTACCAAGGCGTACAT
CCAATGAACCTTAGAGATAGATTGGTAGCCTCGGAACATTGAGACAGG
TGCTGCATGGCTGTCGTAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGT
AACGAGCGCAACCCCTGTCCTAGTTACCAAGCACGTTATGGTGGGCACTCTA
AGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGATGACGTCAAGTCA
TCATGGCCCTTACGGCCTGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGA
GGGTTGCCAAGCCCGAGGGTGGAGCTAACCGATCGTAGTCC
GGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGC
GAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTGTACACACCGCCCG
TCACACCATGGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTCGGG
AGGACGGTTACCACGGTGTGATTGACTGGGTGA

> *Pseudomonas* sp. PB-15

TCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCAACACATGCAAGTCGAGCGGTAGAG
AGAAGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAAT
CTGCCTGGTAGTGGGGATAACGTTCGAAACGGACGCTAACACCGCATAC
GTCCTACGGGAGAAAGCAGGGACCTCGGGCCTGCGCTATCAGATGAGC
CTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTAGGTAATGGCTACCAAGGCGACGATC
CGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAAC TGAGACACGGTCC
AGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGGACAATGGCGAAAGC
CTGATCCAGCCATGCCCGTGTGAAGAAGGTCTCGGATTGTAAGCAC
TTAAGTTGGAGGAAGGGTTGTAGATTAATACTCTGCAATTGACGTTAC
CGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGGTAATACAGA
GGGTGCAAGCGTTAACCGAATTACTGGCGTAAAGCGCGTAGGTGGTT
TGTTAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACACTGCATTCAA
ACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTGGATTTCCTGTGTAGCGGT
GAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGG
ACTAATACTGACACTGANGTCGAAAGCGTGGGAGCAAACAGGATTAGATA
CCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTGGAAGCCTTGA
GCTTTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGAGTACGGC
CGCAAGGTTAAAACCAAATGAATTGACGGGGCCCGACAAGCGGTGG
GCATGTGGTTAACCGAAGCAACCGAAGAACCTTACCAAGGCCCTGACAT
CCAATGAACCTCTAGAGATAGATTGGTGCCTCGGAACATTGAGACAGG
TGCTGCATGGCTGTCGTAGCTCGTGTGAGATGTTGGTTAACCGGT
AACGAGCGCAACCCCTGTCCTAGTTACCAAGCACGTTATGGTGGGACTCTA
AGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGATGACGTCAAGTCA
TCATGGCCCTTACGCCCTGGCTACACACGTGCTAACATGGTCGGTACAGA
GGGTTGCCAAGCCCGAGGGTGGAGCTAACCGATCGTAGTCC
GGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGC
GAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTGTACACACCGCCCG
TCACACCATGGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTCGGG
AGGACGGTTACCACGGTGTGATTGACTGGGTGAA

ÖZGEÇMİŞ

Meryem DEMİRCİ 1988 yılında Rize' de doğdu. Lise eğitimini 2004 yılında Rize Lisesi' nde tamamladı. 2010 yılında Rize Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden mezun oldu. 2011 yılında Recep Tayip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı. Halen yüksek lisans eğitimi Recep Tayip Erdoğan Üniversitesi'nde devam etmektedir.