

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***POECİLİMON SİMİLİS SİMİLİS*'İN KÜLTÜRE EDİLEBİLİR BAKTERİYAL
FLORASININ BELİRLENMESİ VE MİKROBİYAL MÜCADELE ETMENİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hüseyin TEPE

AĞUSTOS 2011

TRABZON

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***POECİLİMON SİMİLİS SİMİLİS'İN* KÜLTÜRE EDİLEBİLİR BAKTERİYAL
FLORASININ BELİRLENMESİ VE MİKROBİYAL MÜCADELE ETMENİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Biyolog Hüseyin TEPE

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
"YÜKSEK LİSANS (BİYOLOJİ)"
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 02.08.2011
Tezin Savunma Tarihi : 26.08.2011**

Tez Danışmanı : Doç.Dr. Remziye NALÇACIOĞLU

Trabzon 2011

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalında

Hüseyin TEPE tarafından hazırlanan

***POECİLİMON SİMİLİS SİMİLİS'İN KÜLTÜRE EDİLEBİLİR BAKTERİYAL
FLORASININ BELİRLENMESİ VE MİKROBİYAL MÜCADELE ETMENİNİN
ARAŞTIRILMASI***

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 09 / 08 / 2011 gün ve 1417/7 sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından 26 / 08 / 2011 tarihinde yapılan sınavda**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ

Üye : Prof. Dr. Figen CELEP

Üye : Doç. Dr. Remziye NALÇACIOĞLU

Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

“*Poecilimon similis similis*’in Kültüre Edilebilir Bakteriyal Florasının Belirlenmesi ve Mikrobiyal Mücadele Etmeninin Araştırılması” başlıklı bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı’nda “Yüksek Lisans Tezi” olarak hazırlanmıştır.

Yüksek Lisans tez danışmanlığımı üstlenerek, gerek konu seçimi gerekse çalışmaların değerlendirilmesi sırasında yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Remziye NALÇACIOĞLU’na, tezin değerlendirilmesi ve geliştirilmesinde yardımcı olan değerli jüri üyeleri hocalarıma, gerek laboratuvar çalışmalarım gerekse arazi ve teorik çalışmalarımın her aşamasında maddi manevi imkanlarını esirgemeyen, her zaman sabırla bizleri dinleyen, hocam sayın Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ’a, laboratuvar çalışmalarım sırasında göstermiş oldukları ilgiden ötürü Doç. Dr. Kazım SEZEN, Doç. Dr. İsmail DEMİR’e, arazi çalışmalarım esnasında yardımcı olan değerli arkadaşım Mert ARSLAN’a laboratuvar çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Emrah Sami SEÇİL, Filiz ÖZKAN, İnci CEVHER, Mehtap DANIŞMAZOĞLU ve yardımlarını esirgemeyen değerli laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Mikrobiyal florasını çalıştığım yeşilçekirgenin sistematik çalışmalarında yardımcı olan Erciyes Üniversitesi Biyoloji Bölümü’nden sayın Doç. Dr. Abdurrahman AYVAZ’a ve tür tayinini yapan Abant İzzet Baysal Üniversitesi Biyoloji Bölümü’nden sayın Doç. Dr. Mustafa ÜNAL’a teşekkürlerimi bildiririm.

Ayrıca üniversite yıllarımda bana bilimi sevdiren ve üniversite bitiminde de akademik hayata yönlendiren, sonraki dönemlerde de desteklerini esirgemeyen Melikşah Üniversitesi Rektörü sayın hocam Prof. Dr. Reşit ÖZKANCA’ya çok teşekkür ederim.

Bu tezin hazırlanması sırasında ve hayatımın bu aşamasına kadar her anında yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen fedakâr aileme minnet ve şükranlarımı sunarım.

Hüseyin TEPE

Trabzon 2011

TEZ BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Poecilimon similis similis*’in Kùltüre Edilebilir Bakteriyal Florasının Belirlenmesi ve Mikrobiyal Mücadele Etmeninin Araştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Doç. Dr. Remziye NALÇACIOĞLU’nun sorumluluğunda tamamladığımı, örnekleri kendim topladığımı, deneyleri ilgili laboratuarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 01/08/2011

Hüseyin TEPE

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	III
TEZ BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	IX
SUMMARY	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
TABLolar DİZİNİ.....	XIII
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XIV
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Orthoptera (Çekirgeler) Takımı ve Zararları	2
1.3. Çekirgelerin Oluşturdukları Salgınlar	4
1.4. Çekirgelerin Sistematığı.....	5
1.4.1. Orthoptera (Arthropoda: Hexapoda): Düz Kanatlılar	5
1.4.2. Familya: Tettigonide (Çayır çekirgeleri)	6
1.4.3. Genus: <i>Poecilimon</i> (Fischer, 1854) Cinsi:	9
1.4.4. <i>Poecilimon similis similis</i> (Retowski, 1889)'in Sistematik Durumu ve Teşhis Karakterleri	10
1.5. Çekirgelerin Biyolojisi.....	11
1.5.1. Çekirgelerde Çiftleşme Davranışları, Ovipozisyon	11
1.6. Çekirgelerle Mücadele	14
1.6.1. Kültürel Önlemler	14
1.6.2. Kimyasal Mücadele	14
1.6.3. Biyolojik Mücadele.....	16
1.7. Çalışmanın Amacı.....	20
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	21
2.1. Böceklerin Toplanması	21
2.2. Bakteri İzolasyonu ve Karakterizasyonu	21
2.2.1. Kültüre Edilebilir Bakteri İzolasyonu.....	21

2.2.2.	Saf Kùltürlerin Hazırlanması ve Stoklanması.....	22
2.2.3.	İzolatların Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi	22
2.2.3.1.	Gram Boyama	22
2.2.3.2.	Endospor Boyama	23
2.2.4.	İzolatların Fizyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi	23
2.2.4.1.	Optimum Büyüme Sıcaklıklarının Belirlenmesi	23
2.2.4.2.	pH Aralıklarının Belirlenmesi.....	24
2.2.4.3.	NaCl Toleranslarının Belirlenmesi	24
2.2.5.	Biyokimyasal Özelliklerin Belirlenmesi	24
2.2.5.1.	Nişasta Hidroliz Testleri	24
2.2.5.2.	Katalaz Testleri	25
2.2.5.3.	Oksidaz Testleri	25
2.2.6.	API 20E Panel Test Sistemi	25
2.2.7.	API 50 CH Panel Test Sistemi	26
2.2.8.	Seçici ve Ayırt Edici Besiyerlerinin Kullanılması.....	26
2.3.	İzolatların Moleküler Karakterizasyonları	27
2.3.1.	Genomik DNA'larının Hazırlanması	27
2.3.2.	16S rRNA Geninin PCR ile Çoğaltılması.....	27
2.4.	İnsektisidal Aktivite Testleri.....	28
2.4.1.	En Yüksek İnsektisidal Etkiye Sahip İzolatin Arazi Şartlarında Doz Uygulamaları	28
2.5.	Enfekte Çekirgelerden Entomopatojenik Fungus İzolasyonu	29
2.6.	İzole edilen Fungusun Moleküler Karakterizasyonu	30
2.6.1.	Fungal DNA İzolasyonu	30
2.6.1.2.	rRNA ITS5-ITS4 Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması	30
3.	BULGULAR.....	32
3.1	Zararlı Çekirgenin Türünün Belirlenmesi.....	32
3.2	<i>Poecilimon similis similis</i> (Retowski, 1889) Bakteriyel florasının belirlenmesi.....	32
3.3.	İzolatların Karakteristik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Tür Tayinleri	33
3.3.1.	Morfolojik Özellikleri.....	33
3.3.2.	Fizyolojik Özellikleri	34
3.3.3.	Biyokimyasal ve Metabolik Özellikleri	35
3.3.3.1.	API20E Panel Test Sistemiyle Tespit Edilen Özellikler.....	36

3.3.3.1.	API20E Panel Test Sistemiyle Tespit Edilen Özellikler.....	36
3.3.3.2.	API 50 CH Panel Test Sistemiyle Tespit Edilen Özellikler	37
3.3.4.	İzolatların Moleküler Karakterizasyonu	39
3.3.4.1.	16S rRNA Gen Sıraları	39
3.4.	İnsektisidal Aktivite Çalışmaları.....	41
3.4.1.	<i>Poecilimon similis similis</i> (Retowski, 1889)'ten Elde Edilen İzolatların İnsektisidal Etkileri.....	41
3.5.	PSS12 Numaralı İzolatın Arazi Şartlarında Doz Uygulamaları	42
3.6.	PSS12 numaralı izolatın (<i>Serratia marcescens</i>) Arazi Doz Uygulamaları ile Laboratuar Doz Uygulamalarının Karşılaştırılması	43
3.7	İzole Edilen Fungusun 18S ITS Gen Dizisinin Aydınlatılması	44
4.	TARTIŞMA	46
5.	SONUÇLAR.....	55
6.	ÖNERİLER.....	57
7.	KAYNAKLAR	58
8.	EKLER.....	70
ÖZGEÇMİŞ		

POECİLİMON SİMİLİS SİMİLİS'İN KÜLTÜRE EDİLEBİLİR BAKTERİYAL FLORASININ
BELİRLENMESİ VE MİKROBİYAL MÜCADELE ETMENİNİN ARAŞTIRILMASI

Hüseyin TEPE

Karadeniz Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Remziye NALÇACIOĞLU

2011, 69 Sayfa, 16 Sayfa Ek

Poecilimon similis similis'in (Retowski, 1889) (Yeşil Çekirge, Tettigoniidae: Orthoptera) bakteriyal florası ve entomopatojenlerinin belirlenerek bu zararlıya karşı mücadele etmeninin araştırması amaçlı yapılan bu çalışmada, ilk olarak zararlıdan 12 adet bakteriyal izolat ve 1 adet fungal izolat elde edildi. Bu izolatlardan bakteriyal izolatların morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler özellikleri, fungusun ise sadece moleküler özellikleri belirlendi.

Bakteriyal flora üyelerinin zararlı üzerindeki insektisidal etkileri araştırıldı. PSS11 olarak kodlandırılan ve *Serratia marcescens* olduğu saptanan izolatanın 5. günde zararlı üzerinde %100'lük ölüm etkisine sahip olduğu tespit edildi. PSS5 olarak kodlandırılan izolatanın ise yapılan kimyasal testler ve 16S rRNA analiz sonuçlarının NCBI genom veri tabanında bulunmaması nedeni ile yeni tür olma ihtimali bulunmaktadır.

Sonraki çalışmalarda bu izolatanın uygun bir formülasyonda *Poecilimon similis similis*'in ve benzer *Poecilimon* ve *Isophya* cinslerindeki zararlı yeşilçekirgelere karşı uygulanması planlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Poecilimon similis similis*, Yeşil çekirge, bakteriyal flora, Mikrobiyal mücadele, *Serratia marcescens*, *Beaveria bassiana*

Master Thesis

SUMMARY

DETERMINATION OF THE CULTURABLE BACTERIAL FLORA OF POECILIMON
SIMILIS SIMILIS AND INVESTIGATION OF ITS MICROBIAL CONTROL AGENT

Hüseyin TEPE

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Biology Graduate Program
Supervisor: Assoc. Prof. Remziye NALÇACIOĞLU
2011, 69 Pages, 16 Pages Appendix

The purpose of this study is to investigate the fight against the pest *Poecilimon similis similis* (Retowski, 1889) (Green Grasshopper, Tettigoniidae: Orthoptera) by determining its bacterial flora and entomopathogens. At first, twelve bacterial isolate and one fungal isolate were obtained from the pest. The morphological, physiological, biochemical and molecular features of the bacterial isolates and molecular feature of the fungal isolate were determined.

The insecticidal effects of the members of bacterial flora on the pest were investigated. It is found that *Serratia marcescens* isolate which was coded as PSS11 have a 100 % fatal effect on the pest within 5 days. The isolate PSS5 is likely to be a new species because the results of biochemical tests and 16S rRNA analysis of the isolate could not be found on NCBI genome database.

This isolate can be used to control the harmful green grasshoppers which could be found on *Poecilimon similis similis* and *Poecilimon* and *Isophya* species.

Key Words: *Poecilimon similis similis*, green grasshopper, bacterial flora, microbial control, *Serratia marcescens*, *Beauveria bassiana*

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Bir Tettigoniidae üyesi çekirgenin ürettiği spermatofuru yerken görüntüsü	11
Şekil 2. Çekirgelerde hayat döngüsü	12
Şekil 3. Çekirgenin kutikulası diseksiyon ile açıldıktan sonra yumurtalarının, genel görüntüsü ve binoküler mikroskobundaki görünümü.....	13
Şekil 4. Çekirgelerin yumurtadan çıktıktan sonraki nimf evresi	13
Şekil 5. Çekirgelerin tüm hayat evresi görüntüsü, yumurta evresi, nimf evresi (L1,L2,L3,L4,L5) ve yetişkin çekirge	14
Şekil 6. Çok önemli çekirge patojeni türlerinde patojenik fungus türlerinin sistematik durumu.....	17
Şekil 7. <i>Beauveria amorpha</i> tarafından enfekte olmuş bir çekirge	18
Şekil 8. Fungal İzolatın ITS5-ITS4 bölgesini çoğaltmak için kullanılan primerlerin pozisyonları	31
Şekil 9. İzolatlara ait 16S rRNA genlerinin PCR sonuçları % 1'lik agaroz jeldeki görüntüleri	39
Şekil 10. <i>Poecilimon similis similis</i> 'in kültüre edilebilir bakteriyal flora üyelerinin zararlı üzerindeki insektisidal aktiviteleri.....	41
Şekil 11. <i>Poecilimon similis similis</i> 'den izole edilen <i>Serratia marcescens</i> izolatının <i>Poecilimon</i> sp. üzerine karakteristik enfeksiyon rengi.....	42
Şekil 12. <i>Poecilimon similis similis</i> 'den izole edilen <i>Serratia marcescens</i> izolatının 2×10^9 , 10^9 , 10^7 ve 10^5 yoğunluklarında hazırlanan karışımının arazi şartlarında <i>Poecilimon similis similis</i> üzerine etkisi.....	43
Şekil 13. <i>Poecilimon similis similis</i> 'den izole edilen <i>Serratia marcescens</i> izolatının 10^9 , 10^7 ve 10^5 yoğunluklarında hazırlanan karışımının arazi şartlarında <i>Poecilimon similis similis</i> üzerine arazi şartlarında ve laboratuvar şartlarındaki ölüm etkilerinin karşılaştırılması.....	44
Şekil 14. Arazi çalışması esnasında bulunan doğal fungus enfeksiyonlu <i>Poecilimon similis similis</i> 5.evre nimfi	44
Şekil 15. İzole edilen fungusun 18S ITS (ITS5-ITS4) gen dizilerinin PCR sonucunun jel elektroforezi görüntüsü.....	45

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Orthoptera takımına ait Ensifera alt takımı içerisinde yer alan iki büyük üst familya ve familyalar	7
Tablo 2. Tettigoniidae familyasına ait alt familyalar ve içerdikleri tür sayıları	7
Tablo 3: Tettigonide familyasında bulunana bazı cinsler aşağıda verilmiştir	9
Tablo 4. Zararlı çekirgeler (Orthoptera: Acrididae, Catantopidae, Tettigoniidae	15
Tablo 5. İzolatların morfolojik özellikleri	33
Tablo 6. İzolatların fizyolojik özellikleri.....	34
Tablo 7. İzolatların klasik yöntemlerle belirlenen biyokimyasal özellikleri	35
Tablo 8. İzolatların API 20 E panel test sistemi ile belirlenen özellikleri.....	36
Tablo 9. İzolatların API50CH panel test sistemi ile belirlenen özellikleri.....	37
Tablo10. Bakteriyal izolatların 16S rRNA dizilerine göre gen bankasında dizisi bilinenlerle karşılaştırılması.....	40

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ΔT_m	: DNA'nın komplementer iki zincirinin birbirinden ayrılma sıcaklığı
ADH	: Arginin dehidrolaz
AMY	: Amigdalın
ARA	: Arabinoz
bp	: Baz çifti
CIT	: Sitrat
CFU	: Koloni oluşturabilen birim
DDT	: Dikloro-difenil-trikloroetan
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDWIP	: Dünya böcek patojenleri ekolojik veritabanı
GEL	: Jelatin
GLU	: Glukoz
H ₂ S	: Hidrojen sülfür
ICP	: İnektisidal kristal proteini
IND	: İndol
INO	: İnositol
LDC	: Lisin dekarboksilaz
MAN	: Mannitol
MEL	: Melibiose
MK	: Metil kırmızısı
NPV	: Nükleopolihedrovirüs
ODC	: Ornitin dekarboksilaz
PBS	: Fosfat buffer salin
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RFLP	: Restriksiyon fragmenti uzunluk polimorfizmi
RHA	: Rhamnose
RNA	: Ribonükleik asit
SAC	: Sukroz
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SOR	: Sorbitol

TDA : Triptofan deaminaz
URE : Üre
VIDIL : Böcek viral hastalıkları veritabanı
VP : Voges proskauer
WHO : Dünya sağlık örgütü
CBD : Kitin bağlanma bölgesi

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Bugün dünyamızda hızlı nüfus artışına karşın besin yetersizliği en önemli problemlerdendir. Bu hızlı nüfus artışına mükabil yerleşim yerlerinin ve sanayinin artması ile birlikte tarım arazileri de oldukça daralmıştır. Bu yanlış ve kontrolsüz sanayileşme ve yerleşmenin tarımda oluşturduğu engelleri mütakiben mevcut tarım yerlerine böceklerin zararlarının da eklenmesi besin açığının daha da büyümesine neden olmaktadır. Tüm bu şartlar altında besin üretiminin önündeki engelleri kaldırmak ya da en az seviyelere indirmek en önemli konulardan birisi haline gelmektedir.

İnsanlar yerküremizdeki tüm canlılarla ilgilendiği gibi böceklerle de yakından ilgilenmişlerdir. Böcekler dünya üzerinde oldukça geniş bir alana yayılmış durumdadır. Tanımlanan hayvan türleri içerisinde en fazla tür sayısına sahip canlı grubudur.

Böcekler, omurgasız organizmalar (Invertebrata) olup, canlılar dünyasının Animalia alemi altında bulunan, Arthropoda filumunun Hexapoda alt filumuna ait Insecta sınıfı içerisinde yer alır. Dünyada tanımlanan hayvan türlerinin % 97 sini böcekler oluşturmaktadır. Doğada yaşayan böceklerin % 99,5'inin insanlar için faydalı olduğu bilinmektedir. Bilinen yaklaşık 1 milyon 300 bin böcekten sadece % 0,5'i doğa ve insana zarar vermektedir (Demirbağ vd., 2008).

Böceklerin doğaya ve insanlara çok çeşitli faydaları vardır. Şöyle ki, böcekler doğal ortamda polen taşınımına yardımcı olarak tozlaşmayı gerçekleştirirler. Böylece çiçekli bitkilerde meyve ve tohum oluşumunu sağlarlar. Tabiatta ölmüş ya da ölmekte olan organizmaları ve organik maddeleri kısa sürede ayrıştırarak, ortamın temizlenmesini ve toprağın daha verimli olmasını sağlarlar. Bazı böcekler, başka böcekleri yediklerinden dolayı biyolojik mücadele materyali olarak kullanılırlar. Eskiden Çin'de kangren yaralarını iyileştirmek için bir çeşit sinek larvalarının kullanıldığı belirtilmektedir. Her bir böcek türü tabiatta doğal denge ve besin zinciri içinde yer alırlar. Böceklerin en önemli faydaları ise bazı türlerin ürünlerini (bal ve ipek gibi) insanlara doğrudan sunmalarıdır (Demirbağ vd., 2008).

Doğada birçok zararlı böcek türleri bulunmaktadır. Bu türler, özellikle ürün kayıplarına sebep olmakta ve insan ve hayvan sağlığı yönünden tehlike oluşturmaktadır. Dünyada üretilen meyve, sebze, tahıl, yaş veya 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 kullanılmaz hale gelmektedir. Bu zararların ekonomik karşılığı da yılda yaklaşık olarak 7-10 milyar dolar civarındadır. Ayrıca böcekler virüs, bakteri, ve mantar hastalıklarının sebep olduğu tifo, veba, sıtma gibi hastalıkları da yaymaktadır. Ancak, bunlar mevcut böceklerin çok küçük bir oranını oluşturmaktadır (Demirbağ ve vd., 2008).

Kelebekler, yusufcuklar ve kınkanatlıların belirli türleri, çok güzel görünümlere sahip olduklarından özellikle koleksiyoncular tarafından aranmaktadırlar. Bal arılarının balından, ipek böceğinin ipeğinden, bazı kabuklu bitlerin boyasından yaralanılırken bazıları da denek hayvanı olarak kullanılmaktadırlar. Buna rağmen birçok tür özellikle çekirgeler, hamam böcekleri, yarım kanatlılar, güveler, karıncalar, kınkanatlılar, termitler, bitler, pireler, tahtakuruları, sinekler gibi toplam 10.000 kadar tür insanlar için gerçek bir sorun oluşturmaktadır (Demirsoy, 1992).

Türkiye, Asya ve Avrupa kıtalarını birleştiren doğal bir köprü özelliğinde olduğundan, her iki kıtaya ait böcek faunasının büyük bir bölümüne sahiptir. Coğrafik pozisyonu, kısa mesafelerde değişen iklimi ve ilginç topografyası ülkemize oldukça farklı ekosistemler ve habitatlar kazandırmış, dolayısıyla zengin bir böcek faunasının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu fauna içerisinde Orthoptera türleri de önemli bir grubu oluşturmaktadırlar. Orthoptera, tür sayısı bakımından zengin olmasının yanı sıra zararlı türlere sahip olması nedeniyle de önemli bir takımdır (Lodos, 1983).

1.2. Orthoptera (Çekirgeler) Takımı ve Zararları

Orthoptera takımı (Çekirgeler) 24 binden fazla türü ile böcekler içerisinde tür sayısı bakımından oldukça zengin bir gruptur (Eades ve Otte, 2008). Ülkemizde 600'den fazla bilinen tür sayısı ile üzerinde iyi çalışılmış böcek takımlarından biridir (Ünal, 2003).

Çekirgeler polifag'dırlar, hemen hemen bütün bitkileri, kabuk veya kuru odun ve hatta taşları yerler. Hareket kabiliyetleri bakımından onlarla hiç bir böcek rekabet edemez. Çekirgelerin sürüler halinde yüzlerce mil göç ettiği ve yolları üzerindeki her türlü bitki

örtüsünü yiyerek geniş bir alanın tahribine sebep oldukları bulunmuştur. Çekirgelerle mücadele için, böcek öldürücü ilaçların ve diğer tedbirlerin kullanılması konusunda birçok deneysel çalışma yapılmalıdır (Demirsoy, 1992).

Bu takıma ait bazı türler sürüler halinde uzun mesafelere uçarak göç edebilirler. Bu göçler esnasında konakladıkları yerlerde özellikle kültür bitkilerine yüksek oranda zarar verirler. Nitekim insanlık tarihinin ilk dönemlerinden itibaren büyük zararlara, açlık ve göçlere yol açmışlardır (Çanakçıoğlu, 1993). Ülkemizde özellikle 1950' li yıllarda son derece zararlı populasyonlar oluşturan çeşitli Orthoptera türleri, geniş çaplı mücadele programlarının uygulanmasına sebep olmuştur. Ülkemizin Orthoptera faunasının tespiti ile ilgili çeşitli araştırmacılar tarafından birçok çalışma gerçekleştirilmiştir (Demirsoy, 1975; Karabag vd., 1971; 1974; 1980; Gümüssuyu, 1981; Çıplak ve Demirsoy, 1996; Çıplak vd., 1996; Çıplak, 2003; Kovancı vd., 2003). Bu nedenle ülkemizde en iyi çalışılmış böcek takımlarından biri de Orthoptera takımıdır.

Çekirgelerin insan ve bitkilerde yaptıkları zarar tahmin edilemeyecek kadar büyüktür. Kaba bir tahminle dünyadaki mahsulün 1/3 ü bu hayvanlar tarafından yok edilmektedir denilebilir. Örneğin bir çekirge sürüsü 2 milyar bireyden oluşabilir ve 3.000 ton kadar ağırlığa ulaşabilir. Bu rakam bazen 50.000 tona kadar yükselebilir. Korkunç büyüme yetenekleri vardır. Salgın hastalıkların mikroplarını taşıdıkları için bitkilerin yanı sıra insanları da büyük ölçüde tehdit ederler. Sürünün boyutları tahminin ötesindedir; 5 ila 12 km²'lik bir alanı kaplayan bir sürü yaklaşık 700 milyon-2 milyar hayvan içerir (1.000-3.000 tonluk bir kitle). Bu her hektara 2,5 ton çekirge demektir. Bununla birlikte 250 km²'lik bir alana yayılmış 35 milyar bireyden oluşmuş 50.000 tonluk sürülerde gözlenmiştir (Demirsoy, 1992).

Eğer bir larvanın son deri değiştirmesine kadar erginin vücut ağırlığının 10 misli bitkisel besin yediği düşünülürse, orta büyüklükteki bir sürünün sadece gençlik evrelerinde 20.000 ton yediği hemen anlaşılabilir. Ergin evrede de bu miktarın 2 misli kullanılır. Ayrıca hayvanlar bitkiyi ısırarak kopardıklarından, bitkinin büyük bir kısmı da besin olmadan yere düşerek yitirilir (Demirsoy, 1992).

Bir çekirgenin günde kendi ağırlığı kadar gıdayı yiyebileceği, 40 milyarlık bir çekirge sürüsünün ortalama 80 bin ton ağırlığında olduğu ve bu yüzden günde yaklaşık 80 bin ton mısırı tüketebileceği ve bunun da 40 bin insanın bir yıllık yiyeceği olduğu düşünüldüğünde, netice tüyler ürperticidir (Deniz, 1993).

1.3. Çekirgelerin Oluşturdukları Salgınlar

Çekirgeler dünyadaki sıcak-yarı kurak bölgelerde önemli zararlar Oluşturan böceklerdir. *Locusta migratoria manilensis* geçmiş birkaç yılda salgınlar oluşturarak ciddi zararlar vermiştir (Wright, 1986; Showler, 1995; Latchininsky, 2001; Huang ve Zhu, 2001; Scanlan vd., 2001).

Çölçekirgesi (*Schistocerca gregaria* Forsk) Afrika'nın Moritanya, Mali, Nijer, Cad, Sudan, Etiyopya, Somali, Arabistan Yarımadası'nın hemen tamamı, İran ve Pakistan'ın güneyi ile Hindistan'ın güney batısında çoğalmakta ve buralardan doğu, batı ve kuzeye göç ederek büyük salgınlar yapmaktadır. Ülkemiz de 1865, 1878,1890, 1902, 1915, 1928, 1930, 1931, 1945, 1953, 1958, 1960 ve 1962 yıllarında bu salgınlara maruz kalmıştır (Uvarov, 1977; Lodos, 1983; Özbek, 1989). Bu salgınların etkisiyledir ki, Cumhuriyet'in ilk yıllarında (1926) "Çekirge Kanunu" adıyla bir kanun çıkarılmıştır (Özbek ve Yıldırım, 1994).

Ülkemizdeki yerli çekirge türleri de yer yer salgınlar yapmakta ve kısa mesafelere de olsa göçler meydana getirmektedirler. Batı Anadolu'da yaygın olan ve verdiği zarar yönünden çekirge türleri arasında ilk sırayı alan *Dociostaurus maroccanus* Thunb. (Fas Çekirgesi) (Balamir, 1956; Lodos, 1983) bu önemini günümüzde de korumaktadır. Özbek ve Yıldırım (1994)'e göre bu türün ülkemizde 1833, 1861, 1865, 1875, 1881, 1904, 1927 ve 1931 yıllarında salgınlar yaptığını ve önemli kayıplara neden olduğunu belirtmektedir. Hatta *D. maroccanus* ve muhtemelen diğer bazı çekirge türlerinin meydana getirdikleri kayıplar nedeniyle Tarım Bakanlığı ülkemizdeki çekirge sorununu bilimsel olarak araştırmak amacıyla 1931 yılı temmuz ve ağustos aylarında Rus araştırmacı Akridoloji biliminin kurucusu Uvarov'u Türkiye'ye davet etmiştir (Uvarov, 1932).

Doğu Anadolu Bölgesi'nde özellikle de Erzurum, Kars ve Ağrı yaylalarında yaygın olarak bulunan *Calliptamus italicus* (L. 1758) ekolojik koşulların bu böceğin gelişmesi için elverişli olduğu yıllarda epidemiy yapmaktadır. Nitekim, 1978-1982 yılları arasında Kars'n Selim ilçesinde 5 yıl süre ile bu çekirgeye karşı ilaç atılması mecburiyeti hasıl olmuştur. Hatta 1981'de epidemiy alanı çok daha genişlemiş Selim'e ek olarak Sarıkamış ve Kars'ın bazı köylerinde de ilaçlama yapılmıştır. Aynı tür Erzurum'un Dumlulu dağlarında 1982 yılında yüksek populasyon oluşturmuş ve ilaç atılmasını zorunlu kılmıştır. 1992 Temmuz'unda ise Ilıca (Erzurum)'ya bağlı Ovacık beldesinin Ahırcık Köyü yaylasında

epidemi olmuş; köylüler yaylaya çıktıkları için ilaç atılması mahsurlu bulunmuştur. Bu arada şiddetli dolu düşmesi, populasyonun önemli derecede azalmasına sebep olmuştur (Özbek, 1989).

Ülkemizde son 5 yılda Çorum, Ankara, Amasya, Ordu, Karabük, Erzincan, Gümüşhane, Balıkesir, Ağrı, Aydın ve Bingöl'de yeşilçekirgeler (*Poecilimon* sp. ve *Isophya* sp.) geniş alanlarda çekirge istilaları olmuş ve İl Tarım Müdürlüklerince bunlara karşı kimyasallar kullanılarak mücadele çalışmaları yapılmıştır.

Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü'nün resmi internet sitesinde ki Zirai Mücadele Rehberi'nde zararlı çekirgeler *Doclostaurus maroccanus* (Fas çekirgesi), *Locusta migratoria* (Madrap çekirgesi), *Pararcyptera labiata* (Güçük çekirge), *Calliptamus italicus* (İtalyan çekirgesi), *Platypleis intermedia* (Kılıçlı Çekirge), *Melanogryllus desertus* (Kara Çekirge), *Oecanthus pellucens* (Bağ Horozcuğu), *Isophya* spp. (Yeşil Çekirgeler), *Poecilimon* spp. (Yeşil Çekirgeler) olarak belirlenmiştir (URL11).

1.4. Çekirgelerin Sistematığı

1.4.1. Orthoptera (Arthropoda: Hexapoda): Düz Kanatlılar

Çekirgelerin sınıflandırılmasına çeşitli kaynaklarda farklılıklar mevcuttur. Aşağıda ki sınıflandırma Demirsoy (1992)'a ait sınıflandırmadır.

Takım: Orthoptera (Çekirgeler),

Alt takım: Ensifera (Uzun antenli çekirgeler): Antenleri, daima vücutlarından daha uzundur. Ses çıkarma organı üst kanadın kaide kısmına yakın konumlanmıştır.

Familiya: Gryllidae (Karaçekirgeleri, Cırcırböcekleri)

Familiya: Gryllotalpidae (Danaburunları)

Familiya: Tettigonide (Çayır çekirgeleri, Ot çekirgeleri, Yeşilçekirgeler,)

Familiya: Rhabdophoridae (Kambur çekirgeler, mağara çekirgeleri)

Familiya: Gryllacrididae (Kozalı çekirgeler)

Alt takım: Caelifera (Kısa antenli çekirgeler): Antenler kısa ve iplik şeklindedir. Ses çıkarma üst kanatların sürtülmesiyle olmaz..

Familiya: Acrididae (Tarla çekirgeleri, Kır çekirgeleri)

Familiya: Tridactylidae (sucul çekirgeler, cücedanaburunları)

- Familya: Pyrgomorphidae (Konik başlılar)
 Familya: Tetrigidae (Bataklık çekirgeleri, bodur çekirgeler)
 Familya: Pamphagidae (Hantal çekirgeler)
 Familya: Cylindrachetidae
 Familya: Pneumoriade
 Familya: Proscopiidae

1.4.2. Familya: Tettigonide (Çayır çekirgeleri)

Tettigonidae familyası, Orthoptera takımının Ensifera alt takımı içerisinde yer almaktadır. Antartika dışında bütün kıtalarda, tropikal ormanlardan (Heller, 1995) turbalıklara ve ağaç seviyesinin çok üstünde mevcut olan alpin zonlara kadar çok farklı habitatlarda görülmektedirler. Çoğu çayır çekirgesi omnivor olup bitkiler, leşler ve zaman zaman avladıkları küçük canlılar üzerinden beslenirler. Bunların arasında polen üzerinden beslenen Zaprochilinae ve karnivor Saginae gibi, belirli besine özelleşmiş gruplar vardır. Çayır çekirgelerinin beslenme aktiviteleri ekinlere zarar verebilir, fakat populasyon seviyeleri düşük olduğunda önemli ekonomik zararları yoktur. İstisna olarak: Tettigoniinae ve Conocephaline gösterilebilir (Jago, 1997; Mbata, 1992). Özellikle bunların sürü oluşturan türleri potansiyel zararlılardır. Örnek olarak büyük sürüler şeklinde göç eden Kuzey Amerika'nın uçamayan Mormon çekirgesi (*Anabrus simplex*) verilebilir (Saglam, 2004; Mert, 2008). Çekirgelerin insanlar üzerindeki olumlu etkileri arasında ise, bazı türlerinin insanlar için besin teskil etmesi ve özellikle Çin gibi ülkelerde "Şarkı söyleyen ev hayvanı" olarak satılması sayılabilir (Gwynne, 2001).

Tettigonidae familyası üyeleri, 6 familya içeren Tettigonoidea üst familyası içerisinde yer alır (Tablo 1). Bütün Tettigoniidae üyelerinde ortak olan başlıca karakterler; kılıç seklini almış bir ovipozitörün varlığı ve oldukça büyük ve yenilebilir olan spermatofor üretimidir. Tettigoniidae üyeleri, belki de en çok, erkeklerin tegminal stridülasyon yoluyla çıkarttıkları çağrı sesleri ve ön tibia dirseğinin hemen altında bulunan ses organları ile bilinirler. Fakat bu karakterler sadece Tettigoniidae üyelerine özgü olmayıp, Gryllidae ve Gryllotalpidae gibi başka familyalarda da bulunur (Gwynne, 2001).

Tablo 1. Orthoptera takımına ait Ensifera alt takımı içerisinde yer alan iki büyük üst familya ve familyalar (Gwynne, 2001).

Tettigoniidea	Grylloidea
Haglidae	Gryllidae
Tettigonidae	Gryllotalpidae
Stenopelmatidae	Mogoplistidae
Cooloolidae	Schizodactylidae
Gryllacrididae	
Rhaphidophoridae	

Günümüzde 1070 genus içerisinde yer alan 6000 yasayan tür ile temsil edilen (Otte, 1997) bu grup ülkemizde “çayırçekirgesi” olarak adlandırılmaktadırlar. Tettigoniidae içerisinde yer alan alt familyaların listesi tablo 1’de verilmistir.

Bu çizelgede görüldüğü gibi Tettigoniidae familyası içerisindeki en zengin grup, dünya üzerine yayılmış 2000 civarında tür ile temsil edilen ve bu tezde bakteriyal florası çalışılan *Poecilimon similis*’in de içinde bulunduğu Phaneropterinae alt familyasıdır (Tablo2).

Tablo 2. Tettigoniidae familyasına ait alt familyalar ve içerdikleri tür sayıları (Otte, 1997).

Alt Familya	Tür Sayısı
Austrosaginae	33
Bradyporinae	56
Conocephalinae	962
Hetrodinae	77
Lipotactinae	25
Listrosceidinae	50
Meconematinae	445
Meconopodinae	159

Tablo 2'nin Devamı

Microtettigonidae	2
Phaneropterinae	2.013
Phasmodinae	2
Phyllophorinae	69
Pseudophyllinae	1.051
Saginae	50
Tettigoniinae	868
Tympanophorinae	7
Zaprochilinae	18

Çayır çekirgeleri dünya geneline yayılmış bir gruptur. Aynı zamanda çok ciddi yükselti farklılığı bulunan bölgelere de yayılmış durumdadırlar. Öyle ki Antarktika haricindeki tüm kıtalarda bulunan bu hayvanlar, tropikal alanlardan çok yükseklerdeki alpin zonlara kadar dağılmış durumdadırlar (Heller, 1995). Ancak yayılım alanı ile kurdukları asıl önemli ilişki vejetasyonu bir mikrohabitat olarak etkin biçimde kullanmalarıdır. Öyle ki kanatları, yaprakları (Nickle and Castner, 1995) ya da dalları taklit eden pek çok kriptik tür bilinmektedir.

Tettigonide familyası genusları (Tablo3) çoğunlukla yeşil renkte olmakla birlikte değişik renkte olanları vardır. Antenleri kıl şeklinde ve uzundur. Tympanal organ vardır ve 1. çift bacağın tibiasında yer alır. Bu familyadaki türler kendilerine özgü bir ses çıkarırlar. Tegmina arka kanatlar bazı türlerde gelişmiş, bazılarında ise kısalmış ve nadiren de gelişmemiştir. Ovipozitorleri gelişmiş olarak bulunur, bazı türlerde vücuttan uzundur. Yumurtalarının tek tek bırakırlar. Bazı türler yumurtalarını bitki dokularında açtıkları yarıklara, bazıları ise toprağa dizebilirler veya toprağa bırakırlar. Çoğunlukla bitkiler ile beslenmekle birlikte predatörleri de vardır (Ecevit, 2007).

Tablo 3: Tettigonide familyasında bulunana bazı cinsler aşağıda verilmiştir (Ecevit, 2007).

Genus: *Leptophyes* sp.

Genus: *Tylopsis* sp.

Genus: *Tettigonia* sp.

Genus: *Platycless* sp.

Genus: *Decticus* sp.

Genus: *Medecticus* sp.

Genus: *Isophya* sp.

Genus: *Poecilimon* sp.

1.4.3. Genus: *Poecilimon* (Fischer, 1854)

Poecilimon (Orthoptera, Tettigoniidae) cinsi, yaklaşık 140 tür ile Phaneropterinae alt familyası içerisindeki en zengin cinslerden biridir. Bu takson tip örneği olarak *Barbitistes jonicus* Fieber (*Poecilimon jonicus jonicus*) kullanılarak, Fischer tarafından 1853 yılında adlandırılmıştır. 70 den fazla türü Anadolu'da yaşamaktadır. Bunların çoğu Anadolu'ya endemiktir ve Türkiye'nin batı ve kuzey-batısında yaşamaktadır. Endemik türlerin bazıları Anadolu ile Yunanistan'ı birbirine bağlayacak Ege adalarında bulunur, diğer alanlarda *Poecilimon* türleri yüksek oranda çeşitlilik gösterirler. Bu türler çalı bitki örtüsünde, iğne yapraklı ormanların açık kenarlarında ya da deniz seviyesinde olan orman sınırının yukarısındaki açık alanlarda yaşarlar. Genellikle *Isophya* cinsi gibi yeşil renklidir, hepsinde kısa kanatlar mevcuttur. Çoğu *Poecilimon* türü, erkek bireylerindeki "cerci" yapısı ile kolaylıkla ayırt edilebilir (URL7). Ülkemizde bu gruptaki canlıların teşhis edilip bilim dünyasına kazandırılmasında, basta Prof. Dr. Tefik Karabağ (18 tür), Doç. Dr. Mustafa ÜNAL (12 tür) ve Doç. Dr. Hasan Sevgili'nin katkıları büyüktür (URL8 ve Mert, 2008).

1.4.4. *Poecilimon similis similis* (Retowski, 1889)'in sistematik durumu ve teşhis karakterleri

Takım	: Orthoptera
Alt Takım	: Ensifera
Üst Familya	: Tettigonioidea
Familya	: Tettigoniidae
Alt Familya	: Phaneropterina
Genus	: <i>Poecilimon</i> Fischer, 1854
Tür	: <i>Poecilimon similis</i>
	<i>Poecilimon similis similis</i> Retowski, 1889
	<i>Poecilimon similis richteri</i> Ramme, 1933

Poecilimon türlerini ayırt etmek için kullanılan diagnostik karakterler, morfolojide görülen küçük farklılıklara dayanır. Kullanılan morfolojik karakterler arasında en önemlileri pronotum, tegmina, erkek serkusları ve subgenital plakası, dişi subgenital plakası ve ovipozitördür (Bei-Bienko, 1965; Salman, 1978).

Poecilimon cinsinde vücut rengi yeşilin tonlarındadır. Ovipositor ventralde daima düz, yalnız uç kısımda yukarı doğru kıvrık ve dislidir. Vertexin fastigiumu antenin birinci segmentinden dar ve antenler vücuttan çok uzundur. Bu genel özellikler *P.similis* için de geçerli olmakla birlikte, genel renk yeşil, kirli yeşil ve kızılımsı yeşil olabilmektedir. Bu çalışmada da belirtildiği gibi *P.similis*'in erkeklerinde pronotum orta kısımda konkav (içbükey), disilerde ise silindriktir (Salman, 1978).

Bütün Tettigoniidae üyelerinde ortak olan başlıca karakterler; kılıç şeklini almış bir ovipositorun varlığı ve oldukça büyük ve yenebilir olan spermatofor üretimidir (Şekil1). Tettigoniidae üyeleri, belki de en çok, erkeklerin tegminal stridulasyon yoluyla çıkarttıkları çağrı sesleri ve ön tibia dirseğinin hemen altında bulunan ses organları ile bilinirler (Sağlam, 2004).



Şekil 1. Bir Tettigoniidae üyesi çekirgenin ürettiği spermatofuru yerken görüntüsü (URL1).

1.5. Çekirgelerin Biyolojisi

1.5.1. Çekirgelerde Çiftleşme Davranışları, Ovipozisyon ve Hayat Döngüsü

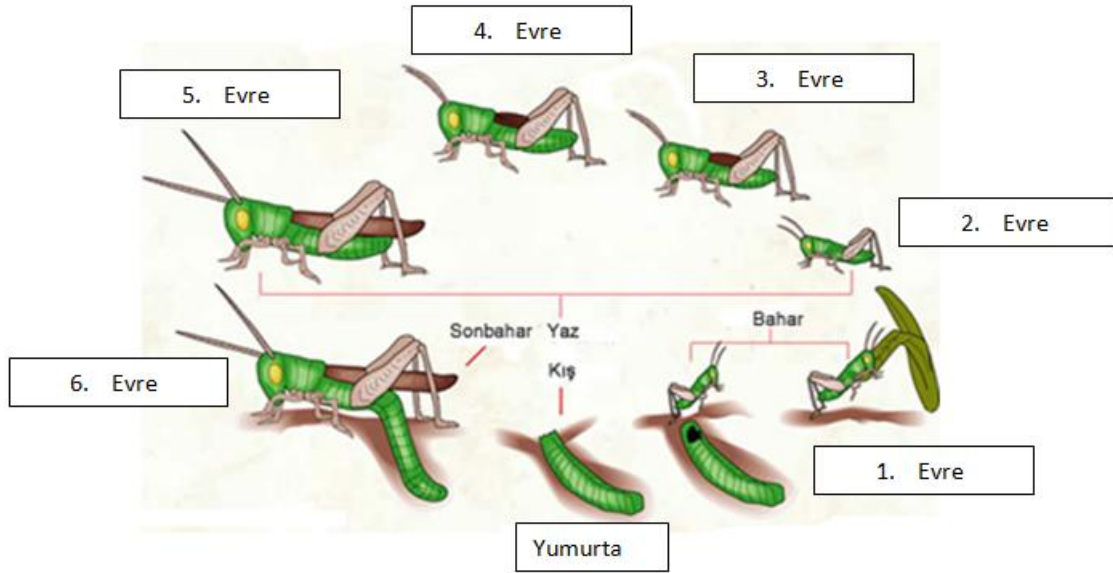
Nispeten bütün çayır çekirgelerinde çiftleşme, erkeklerin ötme sesleri ile başlatılır. Kanatlar havaya kaldırılır ve sağ tegmende bulunan dorsal tarak, sol tegmenin alt kısmında bulunan bir çizgiye sürtülür. Çoğu türlerde dişiler fonotaksis yoluyla erkeklere cevap verirken, bazı dişiler de erkeklere akustik olarak cevap verebilirler. Akustik cevap veren dişiler, erkeklerden farklı “tegminal” mekanizmalar kullanarak bu sesleri çıkartırlar (Gwynne, 2001).

Ensifera alt takımında erkekler tarafından ötme ile cezbedilen dişilerin çoğu, çiftleşme sırasında aktif rol oynar. *Caelifera* alt takımına göre en büyük fark, çiftleşme sırasında erkeklerin dişinin altında bulunması ya da bundan türemiş bir kopulasyon konumunu almasıdır. Dişi, ya erkekler tarafından çıkarılan müzik ile ya da ön abdomen segmentinden veya arka göğüs segmentinden dışarıya açılan deri bezlerinin salgıları ile cezbedilir. Bu madde dişiler tarafından zevkle yalanır ya da kemirilir, *Caelifera* alt takımının aksine çiftleşme çoğunluk akşam vakitleri meydana gelir ve ancak bir kaç dakika sürer (Sağlam, 2004).

Döllenen dişi, bitki dokularının içine veya toprağa yumurtlar. Ensifera’da yumurta değişik şekillerde bırakılır. Kuvvetli, kılıç şeklinde ovipozitoru olanlar genellikle toprağa yumurta bırakırlar (Tettigoniidae, Decticinae, Saginae, Ehippigerinae, Rhapsiphoridae ve bir çok Gryllidae) (Sağlam, 2004).

Bir defada bırakılan yumurta sayısı, çayırçekirgelerinin aynı türünün bireyleri arasında dahi değişir. Bir dişi, çok defa haftalar süren bir zaman süreci içerisinde, farklı kuluçka yerlerine farklı sayıda yumurta bırakılabilir. *Tettigoniidae* üyeleri tarafından bırakılan yumurta sayısı, genellikle 150-200 arasında değişir ve yumurtalar Caelifera alt takımına ait türlerin aksine, köpüksü bir kılıf içerisinde yer almazlar (Gywnne, 2001).

Tettigoniidae bireylerinde kışlama, yumurta şeklinde gerçekleştirilir. Dağlık ve soğuk bölgelerde yaşayan türler için en yaygın hayat döngüsü yılda bir nesildir (Gywnne, 2001). Çekirgelerin yaşam döngüsü 5 nimf evresi ve ergin evresi olmak üzere 6 yaşam evresinden oluşur (Şekil2).



Şekil 2. Çekirgelerde hayat döngüsü (URL2).

Bazı türlerde yumurtaların bırakıldığı mevsime göre diyapoz süresi 2 yıla çıkabilirken, birçok türde, bir soğuk dönem diyapoz altında olan yumurtaların açılması için yeterlidir (Ingrish, 1984). Daha sıcak iklimlerde iki kere ovipozisyon görülebilir, yani iç içe geçmiş iki kuşak olabilir (Ando, 1991) ya da hayat döngüsünün tüm evrelerinin tüm yıl boyunca görüldüğü sürekli çakısan kuşaklar gözlenebilir (Sağlam, 2004).

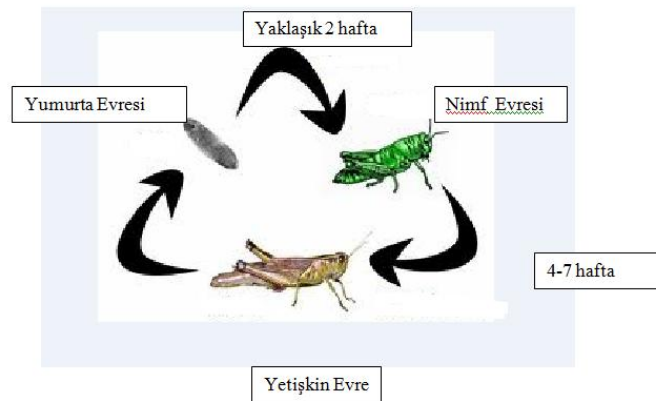
Yılmaz (2010) tarafından yapılan bir çalışma da bir *Tettigoniidae* (Orthoptera) türü olan *Poecilimon cervus* (Karabağ) yumurta yapısı incelenmiş. Yumurtalar ortalama 3.4x1.3

mm boyutunda ve bilateral simetri gösteren uzamış oval yapıdadır. Yumurtanın üzerinde yer yer hafifçe belirgin koryonik çokgen deseni bulunur. Yumurtanın posteriyor kutbu yakınında bulunan mikropil bölgesinde 9–18 mikropil açıklığı yer alır (Şekil3). Yumurtanın anterior kutbundan posteriyor kutbuna doğru uzanan bir kaburga yapısı mikropil bölgesi hariç tüm yumurtayı bir kuşak şeklinde sarar (Yılmaz, 2010).



Şekil 3: Çekirgenin kutikulası diseksiyon ile açıldıktan sonra yumurtalarının, genel görüntüsü (URL3) ve binoküler mikroskobundaki görünümü.

Yumurta açılımı genellikle şafak vakti gerçekleşir ve bunun fotoperiyot tarafından tetiklendiği düşünülmektedir (Reinhold, 1998). Nimfler, erginlerin küçük ve kanatsız formlarıdır (Şekil4). Tettigoniidae bireylerinin nimfleri erginliğe ulaşmadan önce, türe bağlı olarak, 4 ila 9 kez deri değiştirirler (Gywnne, 2001).



Şekil 4: Çekirgelerin yumurtadan çıktıktan sonraki nimf evresi (URL4).

Nimfler her deri değiştirmede vucutlarını boyca yaklaşık 1/4 oranında büyütür ve gittikçe daha çok ergine benzerler. Nimf evresinin gelişme süresi sıcaklığa bağlıdır. Bu yüzden bu gelişme evresi büyük ölçüde değişiklik gösterebilir. Son deri değiştirme, ergin deri değişimidir (Şekil5). Bu evrede, kanatların sertleşmesi için biraz daha uzun zamana ihtiyaç duyulur. Erkekler çok defa kopulasyon organı şertleşir sertleşmez çiftleşme yeteneği kazanmalarına karşın, dişilerin erginleşmesi daha uzun süre alır (Demirsoy, 1999).



Şekil 5: Çekirgelerin tüm hayat evresi görüntüsü, yumurta evresi, nimf evresi (L1,L2,L3,L4,L5) ve yetişkin çekirge (URL5).

1.6. Çekirgelerle Mücadele

1.6.1. Kültürel Önlemler

Toplu haldeki yumurtlama yerlerinin sürülerek yumurtaların yok edilmesi yöntemi, çekirge yoğunluğunu azaltmak yönünden faydalı olabilir.

1.6.2. Kimyasal Mücadele

Rezervasyon alanlarında zararlı çekirge nimflerinin görülmeye başlamasından ve yapılan sürveylerle uygun yoğunluğun saptanmasından sonra derhal ilaçlı mücadeleye

geçilir. Çekirgeler bu dönemlerde toplu halde ve daha az hareketlidirler. Yumurta açılımı, iklim koşulları ile ilgili olarak duraklıyor ve tekrar başlıyorsa, arazide gözlem ve kontrollere devam edilmeli, gerekirse bu alanlar tekrar ilaçlanmalıdır. Genellikle kimyasal mücadele Fas, Güdük ve Yeşilçekirgelere karşı Nisan'da, Karaçekirge ve İtalyan çekirgesine Mayıs'ta, Madrap Çekirgesinin 2. dönem nimflerine temmuz'da başlatılabilir. Ancak mücadele coğrafi bölgelere ve iklim faktörlerine bağlı olarak daha önce veya daha ileri bir tarihte de olabilir (Bağcı, 2007).

Zararlı çekirgeler (Orthoptera: Acrididae, Catantopidae, Tettigoniidae, Gryllidae)'e karşı tavsiye edilen kimyasal ilaçlar Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 4. Zararlı Çekirgeler (Orthoptera: Acrididae, Catantopidae, Tettigoniidae, Gryllidae)'e Karşı Tavsiye Edilen İlaçlar (Bağcı, 2007; Ecevit, 2007).

Etkili maddenin adı ve oranı	Formülasyonu	Dozu (Preparat)	
		Dekara (Nimf)	Dekara (Ergin)
Parathion Methyl 360 g/1	Em.	100 ml	
Malathion 190 g/1	E.C.	900 ml	
Fenitrothion % 3	Toz	2.5 kg	

Ayrıca son yıllarda çekirgelere karşı mücadelede ülkemizde kimyasal olan Cypermethrin adlı pestisit kullanılmaktadır. Salgın olan birçok bölgede İl ve İlçe Tarım Müdürlükleri özellikle yeşilçekirgelere karşı birçok alanda bu kimyali kullanarak yeşilçekirgelerle mücadele çalışmaları yapmıştır.

Cypermethrin sentetik piretroitlerdendir. Sentetik piretroitler kontakt ve mide zehiri etkilidirler. İnsektisit etkileri yüksek, sıcakkanlılara etkileri ise düşüktür. Ayrıca ne tam metabolize olurlar ne de çabucak zehirliliklerini kaybederler. Bu nedenle kalıntı ve birikimleri ciddi problemlere sebep olur. Sularda pestisitlerin ağır kontaminasyonları oksijen kıtlığına dolayısıyla da zehirlenmelere öncülük eder ve en nihai olarakta balıkların kitlesel ölümlerine yol açarlar (Bradbury ve diğ., 1985; David ve Somasundram, 1985; Ghosh ve Chatterji, 1987; Agnihothrudu, 1988).

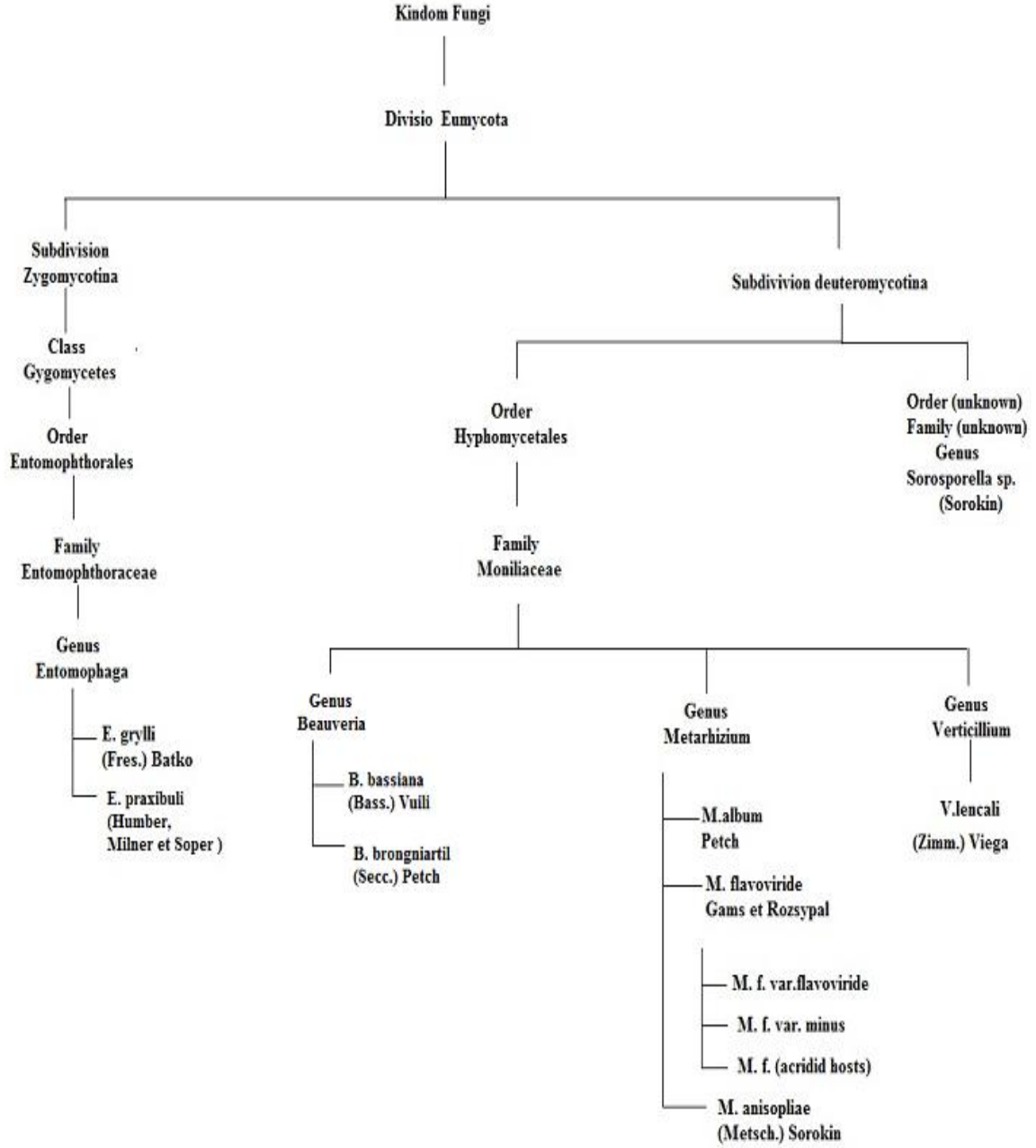
Çekirgelerin kontrolünde sentetik kimyasallar etkili olabilmektedir. Fakat bu kimyasallar çevreye oldukça zarar vermektedirler. Sonuç olarak daha tehlikesiz kontrol metodları bulmaya acilen ihtiyaç vardır.

1.6.3. Biyolojik Mücadele

Çekirgelerin çok sayıda doğal düşmanı vardır. Nematodlardan *Mermin* sp. ve *Agamermis* sp. çekirge vücudunda iç parazit olarak bulunmuştur (Ecevit, 2007). Acerina takımından *Eutrombidium* sp. ve *Charletonia* sp. bir çok çekirgenin dış parazitidir (Ecevit, 2007). Coleoptera takımından *Mylabris scabiosae* ve *Trichodes amnios* larvaları çekirge yüksüklerindeki yumurtaları yerler. Mantidae familyasından *Mantis religiosa*, *Bolivaria brachyptera* ve *Empusa fasciata* nimf ve erginleri birçok çekirgenin önemli predatörleridir. Tettigoniidae familyasından *Sağa* sp. ve *Decticus albifrons* da çekirgelerin predatörleridir. Ayrıca birçok kuşlar özellikle sığırcık (*Sturnus vulgaris*), Alaca sığırcık (*Pastor roseus*), leylekçiller (Ciconidae), Kargagiller (Corvidea), Serçeğiller (Passeridae) v.b kuşlar çekirge nimf ve erginlerinin önemli doğal düşmanıdır (Bağcı, 2007). Çekirgelerde mikrosporidia enfeksiyonları da tespit edilmiştir.

Nosema locustae ilk olarak *Locusta migratoria*' dan (Canning, 1953) izole edilmiştir. Yine çekirgelerden Iridoviridae familyasına mensup *Cricket Iridovirus* (CrIV) (Kleespies ve vd. 1999), Reoviridae familyasına mensup Cytoplasmic Polyhedrosis Virus (Colgan 1986), Picornaviridae familyasına mensup Crystalline Array Virus (Jutila vd., 1970) ve Poxviridae familyasına mensup Entomopoxvirus (Henry ve Jutila, 1966; Purrini vd., 1988; Purrini ve Rhode, 1988; Meynadier vd., 1992) olmak üzere 4 familyaya ait virüs izole edilmiştir.

Son yüzyıldan günümüze kadar çekirgelerde fungal salgın hastalıklar (epizootik) kayıtlara girmiş ve Bruner 1902 ve Benois (1929) tarafından özetlenmiştir. En yoğun çalışmalar Howard (1901) tarafından gerçekleştirilen Entomophaga (= Entomophthora) grylli (Fresenius) ile yapılan deneylerdir. Funguslar tüm dünyadaki çekirgelerde sıklıkla ölüme neden olmuşlardır. Bu durumlar Kuzey Amerika'da (Treherne and Buckel, 1949; Soper vd., 1983), Avrupa'da (Fresenius, 1856), Afrika'da (Chapman and Page, 1986), Asya'da (Roffey, 1968), Avustralya'da (Milner, 1978) kayıtlara alınmıştır. Yine parazit mantarlardan *Empusa grylli*'nin yağmurlu, serin ve nemli havalarda Fas, İtalyan ve diğer çekirgelerde ölüm meydana getirdiği rapor edilmiştir (Ecevit, 2007). Fakat şimdiye kadar bu funguslar suni ortamlarda üretilmediği için pratik uygulamalarda kullanılamamıştır. Çekirgelerde patojenik olan çok önemli türlerin sistematik durumu aşağıda sunulmuştur (Şekil6).



Şekil 6. Çok önemli çekirge patojeni türlerinde patojenik fungus türlerinin sistematik durumu (Ainsworth et al., 1973'den değiştirilerek).

M. flavovirideis isteğe bağlı (fakültatif) bir patojendir, doğal durumlar altında böceği tamamen kaplayabilir. Kolay bir şekilde yapay ortamlarda seri üretebilir. *Beauveria* spp. beauverisin, bassianin, bassianolide, oosporin, destruksin B gibi *in vivo* ve *in vitro* ortamda pek çok toksik bileşik üretmektedir (Zimmermann 2007a). Ancak Quesada-Moraga ve Vey (2003) *B. bassiana*'nın çekirgelere karşı patojenik olması için toksin

üretimine gerek duymadığını belirtmiştir. *Beauveria amorpha* çekirgelere karşı yoğun olarak patojenite gösterir, fungus hifleri çekirgenin tüm vücudunu kaplayabilir (Şekil7).



Şekil 7: *Beauveria amorpha* tarafından enfekte olmuş bir çekirge (URL6).

Bakterilerden *Aerobacter aerogenes* var. *acridiorum* Fas çekirgesi bağırsaklarında bulunmakta ve soğuk havalarda toplu ölümlere neden olmaktadır (Ecevit, 2007). *Bacillus thuringiensis* (Bt)'lerin çekirgelere karşı insektisidal aktiviteleri nadiren rapor edilmiştir. Çinden bir toprak numunesinden izole edilen ve karakterize edilen bir Bt suşu olan BTH-13 çekirgelerde spesifik bir aktivite gösterir. Bu bakterinin *Locusta migratoria manilensis*'e karşı toksisite testleri uygulanmış ve sonuçlar bakterinin larva ve yetişkin çekirgelere karşı yüksek oranda toksik olduğunu göstermiştir (Song vd., 2008). Yine bazı çalışmalarda, çekirgelere özgül Bt suşları izole edilmiştir (Zelazny vd., 1990, 1991, 1997).

Çekirgelerin sindirim kanalının orta barsak için ortalama pH değerleri Bodine adlı araştırmacı tarafından (1925) 6,4-7,4 olarak verilirken, başka bir çalışmada Bomar ve arkadaşları (1991) yedi alandan toplanan *Melanoplus differentialis*'lerde ortabarsak pH'ı genellikle erkeklerde dişilere göre daha yüksek olmakla birlikte pH, 6.41 ile 6.68 arasında değiştiğini tespit etmiştir. Ortabarsak pH'sı üzerine son yapılan çalışmalardan birisi de ShuJuan adlı araştırmacılar tarafından 2009 yılında yapılmış ve ortabarsak pH değeri cinsiyetler arasında değişkenlik göstermekle birlikte, dişi bireylerde 6.92 ± 0.043 ,

erkeklerde ise 7.03 ± 0.054 olarak tespit edilmiştir. Türler arasında değişiklik göstermekle birlikte değişik araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalar çekirgelerin ortabarsak pH değerinin 6,4 ile 7,4 arasında olduğunu bildirmişlerdir.

B.t. toksinleri pH 9,5 de çözünerek aktif olmakta ve enfektif özelliğini göstermektedir. Fakat çekirgelerin ortabarsak pH larının 6,4 ile 7,4 arasında değişiklik göstermesinden dolayı *B.t.* toksinleri çekirgelere karşı patojenik değildir. Bu neden ötürü biyolojik mücadelede yoğun olarak kullanılan *B.t.* çekirgelerin mücadelesinden yetersiz kalmaktadır.

Coccobacillus acridiorum d'Herelle Meksika'da *Schistocerca pallens*'dan izole edilmiş ve Steinhaus (1949) tarafından *Aerobacter aerogenes* gibi yeniden adlandırılmıştır. Bu bakteri *M. bivittatus*, *M. bilituratus* (Bucher, 1959a), ve *S. gregaria* (Stevenson, 1954) de ölümlere neden olmuştur. Fakat bu bakteri türü memelilerde enfeksiyon oluşturduğu bilinen *Enterobacter aerogenes* ile yakından ilişkilidir. Sonuç olarak bu gibi hijyenik nedenlerden ötürü bu bakteri biyolojik kontrole bir aday olarak dikkate alınamayabilir.

Serratia marcescens, çekirgelerden ilk defa Stevenson adlı araştırmacı tarafından (1959) izole edilmiş ve bu kullanılarak salgın-epizootik sonlandırılmıştır.

1.7. Çalışmanın Amacı

Yukarıda belirtilen tüm çabalara rağmen, *Poecilimon similis similis* (Retowski, 1889) (Yeşil Çekirge, Tettigoniidae: Orthoptera)'in tarım alanlarına ve çeşitli kültür bitkilerine zararı ülkemiz ve tüm dünyada hala etkin bir şekilde devam etmektedir. En son olarak 2010 yılı Mayıs ayında, Çorum İskilip ilçesinin Elmalı ve Çatkara köylerinde çekirge salgını meydana gelmiş ve bu nedenden ötürü İskilip İlçe Tarım Müdürlüğü tarafından çekirgelerle mücadele amaçlı 200 dekarlık alanda ilaçlama yapılmıştır. Bu zararlının etkinliğini azaltmak veya ortadan kaldırmak çok önemli bir konu haline gelmiştir. Literatüre baktığımızda bu zararlının kültüre edilebilir flora patojenlerinin tespiti ve bu organizmaların zararlı üzerindeki patojeniteleri ile ilgili herhangi bir çalışma tespit edilememiştir.

Bu düşünceler ışığında bu çekirgenin entomopatojenlerinin belirlenmesi, yapılan bu tez çalışmasının amacını oluşturmaktadır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Böceklerin Toplanması

Çalışmada kullanılan çekirgeler Haziran 2010 tarihinde, Çorum ili, İskilip İlçesi, Elmalı Köyü, Arpaseki mevki'inden (40°46'10.31"K ile 34°20'52.44"D yörüngesi 1160 m) toplandı. Böcekler, siteril edilmiş özel kaplara konularak toplandıkları yer ve tarih not edildikten sonra laboratuara getirildi. Laboratuarda larvaların makroskopik incelemeleri yapılarak ölü ve hastalıklı olanlar ayrıldı. Toplanan çekirgeler tür tayini yaptırılmak üzere, toplandıkları yer ve tarih not edildikten sonra Abant İzzet Baysal Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden Sayın Doç. Dr. Mustafa ÜNAL'a vücut yapısı bozulmadan %10'luk formalin içerisinde 1erkek-1dişi birey olacak şekilde gönderildi.

2.2. Bakteri İzolasyonu ve Karakterizasyonu

2.2.1. Kültüre Edilebilir Bakteri İzolasyonu

Laboratuara getirilen çekirge nimflerinden 5 adet, steril petri kapları içerisine konularak %70'lik etil alkol ile 5 dk. yüzey sterilizasyonu yapıldı. Bu işlemin ardından çekirgeler, içerisinde steril saf su bulunan petrilere alınarak 2-3 kez yıkandı ve üzerlerindeki alkol uzaklaştırıldı. Daha sonra homojenizatör tüpüne aktarılan çekirgelerin üzerine 1 ml nütrient sıvı besiyeri ilave edildi ve steril homojenizatör ile larvaların iyice ezilmesi sağlandı. Elde edilen karışım steril edilmiş bir tülbent ile süzüldü ve süzüntü başka bir tüpe alındı. Bu karışımdan 10 µl, 50 µl ve 100 µl alınarak üç ayrı nütrient agar besiyerine ekim yapıldı. Kalan karışım 30°C'de 5-6 saat inkübe edildi. Bu inkübasyonun amacı, karışımda çok düşük sayıda olabilecek mikroorganizmaların sayısını artırarak, sonraki ekimde tespit edilmelerini kolaylaştırmaktır. Bu inkübe edilen karışımdan da 10 µl ve 50 µl alınarak yine nütrient agar besiyerlerine ekim yapıldı. Ayrıca, bu inkübe edilen karışım seyreltildi ve her tüpten 10 µl, 25 µl ve 50 µl alınarak ayrı ayrı nütrient agar besiyerlerine ekimler yapıldı.

Son olarak da, yüksek sıcaklığa dayanıklı bakterilerin izolasyonu için, karışımdan 1 ml alınıp, ependorf mikrosantrifüj tüp içerisinde 80°C’de 10 dk. bekletildi. Bundan da 10 µl, 25 µl ve 50 µl alınarak üç ayrı nütrient agar besiyerine ekim yapıldı.

Nütrient agar besiyerine yapılan ekimlerin hepsi 30°C’lik etüvde 2-3 gün süreyle inkübe edildi.

2.2.2. Saf Kültürlerin Hazırlanması ve Stoklanması

İnkübasyonun ardından nütrient agar besiyeri üzerinde büyüyen bakteri kolonileri, binoküler mikroskop altında incelendi. Farklı koloni renk ve morfolojilerine sahip olanlar steril edilmiş özeyle dikkatlice seçilerek çizgi ekimleri yapıldı. Bu şekilde saf kültürler elde edildi. Elde edilen kültürler, numaralandırılarak, sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere %20’lik steril gliserol içerisinde – 80 °C’de stoklandı.

2.2.3. İzolatların Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

İlk ayrımları mikroskopik olarak yapılan izolatların mikroskopta koloni rengi, yüksekliği, morfolojisi, kolonilerin kenar görünüşü, gram boyamaya göre bakteri morfolojisi, spor boyama sonuçları belirlendi.

2.2.3.1. Gram Boyama

Gram boyama, bakterilerin hücre duvarının içeriği hakkında bilgi veren bir boyama yöntemidir. Gram negatif olarak boyanan bakterilerin hücre duvarındaki peptidoglikan tabaka, gram pozitif olarak boyanan bakterilere göre çok daha incedir. Gram boyama için herbir izolat nütrient sıvı besiyerine ekildi ve 30°C’ye ayarlı su banyosunda 16-24 saat inkübasyona bırakıldı. Büyüyen kültürlerden bakteriyal smear hazırlandı ve alevden geçirilerek tespit edildi. Hazırlanan smear, 1 dk kristal viole ile muamele edilerek dH₂O ile yıkandı. Kuruması beklenmeden 1 dk lugol ile muamele edildi. Aseton-alkolle renk giderilinceye kadar yıkandıktan sonra renk kaybını durdurmak için hemen dH₂O ile

yıkandı. Safranin ile 30-60 saniye muamele edildi ve smear tekrar dH₂O ile yıkandı. Açık havada kurutulduktan sonra mikroskop altında incelemeye alındı. Mor renkle boyanan bakterilerin gram pozitif, pembe renk ile boyanan bakterilerin ise gram negatif olduğuna karar verildi (Cappuccino ve Sherman, 1992).

2.2.3.2. Endospor Boyama

İzolatların endospor oluşturup oluşturmadığını ve varsa endosporun hücre içersindeki pozisyonunu belirlemek amacıyla, yalnız gram olumlu izolatlar nutrient sıvı besiyerine ekildi ve 48-72 saat 30°C'ye ayarlı su banyosunda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından bakteriyal smearlar hazırlandı ve alevden geçirilerek tespit edildi. Hazırlanan smearlar küçük bir filtre kağıdıyla kapatılarak, malaşit yeşiliyle 5 dk su buharı üzerinde boyandı. Daha sonra dH₂O ile yıkandı ve 30-60 saniye safranin ile muamele edildi. Tekrar dH₂O ile yıkanarak açık havada kurutuldu. Mikroskop altında incelenerek kırmızı renkli hücreler içersinde yeşile boyanmış sporların varlığı araştırıldı (Cappuccino ve Sherman, 1992).

2.2.4. İzolatların Fizyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

2.2.4.1. İzolatların Optimum Büyüme Sıcaklıklarının Belirlenmesi

İzolatların maksimum ve minimum büyüme sıcaklıklarının belirlenmesi amacıyla bakteriler nutrient sıvı besiyerine ekildi ve 30-55°C arasındaki sıcaklıklar için 5 gün, 20-30°C arasındaki sıcaklıklar için 14 gün ve 20°C'nin altındaki sıcaklıklar için 21 gün etüvde inkübe edilerek maksimum ve minimum büyüme sıcaklıkları ortaya çıkarıldı (Sneath, 1968).

İzolatların optimum büyüme sıcaklıklarının belirlenmesi amacıyla nutrient sıvı besiyeri içinde yapılan 16-24 saatlik kültürlerden, OD₆₀₀ = 0,1 olacak şekilde yeniden nutrient sıvı besiyerine ekim yapıldı. Hazırlanan kültürler 10, 15, 30, 37, 45 ve 50 °C'lerde büyütüldü. Yapılan bu kültürlerden saat başı örnekler alınarak spektrofotometrede

OD₆₀₀'de absorbans değerleri ölçülerek bakterilerin optimum olarak büyüdüğü sıcaklıklar ortaya çıkarıldı (Cappuccino ve Sherman, 1992).

2.2.4.2. İzolatların pH Aralıklarının Belirlenmesi

İzolatların büyüebildikleri pH aralığının belirlenmesi için, değişik pH değerlerine (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) sahip nütrient sıvı besiyerlerine inoküle edildiler ve 30°C'ye ayarlı etüvde üç gün inkübe edildi. İnkübasyon neticesinde üreme olup olmadığına spektrofotometrede (OD₆₀₀'de) ölçümler yapılarak karar verildi.

2.2.4.3. İzolatların NaCl Toleranslarının Belirlenmesi

İzolatların NaCl toleranslarının belirlenmesi amacıyla %3, 5, 7, 10, 12, 15 oranında NaCl eklenmiş nütrient sıvı besiyerleri hazırlandı. Bu besiyerlerinden 4'er ml deney tüplerine alınarak herbir izolattan bunlara ekim yapıldı ve 14 gün boyunca 30°C'ye ayarlı etüvde inkübe edildi. İnkübasyon sonunda üreme olan ve olmayan tüpler belirlenerek, izolatların hangi oranlarda tuzu tolere edebildiklerine karar verildi (Sneath, 1968).

2.2.5. İzolatların Biyokimyasal Özelliklerin Belirlenmesi

2.2.5.1. Nişasta Hidroliz Testleri

İzolatların nişastayı hidroliz edip etmediklerinin belirlenmesi için "nişasta agar besiyerleri" hazırlandı (Ek-1). Bu besiyerini içeren petrilere herbir izolattan çizgi ekim yapıldı ve 3 ve 7 gün boyunca 30°C'ye ayarlı etüvde inkübe edildi. İnkübasyondan sonra petrilere üzerine lugol ilave edildi ve koyu kahverengi rengin oluşumu nişastanın hidroliz olduğunu, mavi rengin oluşumu ise nişastanın hidroliz olmadığını gösterdi (Benson, 1985).

2.2.5.2. Katalaz Testleri

Bakteriler, aerobik solunum sırasında hidrojen peroksit (H_2O_2) ve bazı durumlarda ise tamamen toksik olan süperoksitler üretmektedir. Mikroorganizmalar, oluşan bu ürünlerin olumsuz etkisinden, bu maddeleri katalaz ve peroksidaz enzimlerinin yardımıyla yıkarak kurtulmaya çalışırlar. İzolatların katalaz enzimi üretilip üretilmediğini ortaya çıkarılması amacıyla “triptik soy agar besiyeri” hazırlandı. İzolatlar bu besiyeriye içeren petrilere ekildikten sonra, 24-48 saat $30^\circ C$ 'de inkübe edildi. İnkübasyonun ardından petrilere %3'lük H_2O_2 çözeltisi ilave edildi ve gaz kabarcıklarının mevcudiyetinde testin pozitif olduğuna karar verildi (Cappucino ve Sherman, 1992).

2.2.5.3. Oksidaz Testleri

İzolatların oksidaz enzimi üretilip, üretilmediğinin belirlenmesi amacıyla triptik soy agar besiyerleri hazırlandı. Herbir izolattan bu besiyeriye içeren petrilere çizgi ekim yapıldı ve $30^\circ C$ 'de 24-48 saat inkübe edildikten sonra petrilere oksidaz testi ayıracağı ilave edildi. Siyah renk oluşumlarında testin pozitif olduğuna karar verildi (Benson, 1985).

2.2.6. API 20E Panel Test Sistemi

Bu test uygulanırken nütrient agar üzerinde büyütülmüş gece kültürleri bir özeyle alınarak %0.85 NaCl içerisinde iyice karışması sağlandı. Buraya aktarılacak olan kültür miktarı Mc Farland standardı kullanılarak belirlendi.

Hazırlanan bu kültür daha sonra API 20E panelindeki tüm kuyucuklara dolduruldu. Bu aşamada kuyucuk içerisinde hava kabarcığı kalmamasına dikkat edildi.

Kültürleri ihtiva eden API panelleri 18-24 saat inkübasyona tabii tutuldu. Elde edilen sonuçlar Ek Tablo 4.1'de tanımlandığı gibi renklerine bakılarak sonucun pozitif mi yoksa negatif mi olduğuna karar verildi.

2.2.7. API 50 CH Panel Test Sistemi

İzolatların bu test sisteminde değerlendirilmelerinin yapılabilmesi için bir gece önceden bakterilerin genel bir besiyeri olan tripton soy agar (TSA) besiyerine çizgi ekimleri yapıldı. İnkübasyon sonunda elde edilen tek kolonilerden 3 ml'lik besiyeri içerisinde 'Mc Farland' standartı 0,5 olacak şekilde aktarıldı (Ek-2). Hazırlanan bu bakteri karışımı test panellerinin başlangıç gözeneğine ilave edilip panel, dik tutularak bakteri karışımının tüm test kuyucuklarına aynı anda ulaşması sağlandı. Ekimi yapılmış paneller özel bölmelerine yerleştirildikten sonra 24 saat ile 48 saat arasında inkübasyona tabi tutuldu. Bu panel sisteminde API 20E'den farklı olarak panele sonradan ayıraç ilavesi yapıldı. Elde edilen sonuçlar Ek Tablo 4.2'de tanımlandığı gibi renklerine bakılarak pozitif veya negatif olarak değerlendirildi.

2.2.8. Seçici ve Ayırt Edici Besiyerlerinin Kullanımı

Bazı besiyerler hem seçici hem de ayırt edici maddeler ihtiva ettiklerinden her iki amaç için de kullanılabilir. MacConkey Agar (MCA), Mannitol salt agar (MSA) bunlara örnek olarak verilebilir.

Çekirgelerden izole edilen bakteriler MacConkey Agar (MCA)'a ekilerek laktoz fermantasyonuna bakıldı. Ayrıca besiyeride bulunan bile tuzu ve kristal violet boyasının gram olumlu bakterilerin büyümelerini inhibe etme özelliğinden dolayı izolatların gram özellikleri de teyit edildi ve sonuçlar 24 ve 48 saat sonunda kaydedildi.

Diğer taraftan izolatlar mannitol fermentasyonlarının ve tuz toleranslarının belirlenmesi için Mannitol Salt Agar (MSA) besiyerine ekim yapıldılar ve sonuçlar 24 ve 48 saat sonunda kaydedildi.

2.3. İzolatların Moleküler Karakterizasyonları

2.3.1. Genomik DNA İzolasyonu

Genomik DNA'nın izolasyonu, Sambrook ve ark. (1989)'a göre gerçekleştirildi. Bir gün önceden 3 ml Leura-Bertani (LB)'ye ekim yapılarak 30°C'de inkübasyona bırakılan bakteriler, ependorf tüpler içerisinde 13.000 rpm'de 3-4 dk santrifüj edildi. Santrifüjden sonra süpernatant uzaklaştırıldı ve pellet üzerine 500 µl TE tamponu eklendi (Ek-1). Sonra pellet iyice çözüldü ve üzerine 10 mg lizozim ilave edilerek ve 37°C'de 1 saat bekletildi. Hücrelerdeki proteinlerin parçalanması için 50 µl %10'luk SDS eklenerek 37°C'de 30 dk inkübe edildi. Daha sonra her tüpe 3 M'lık 55 µl sodyum asetat eklendi ve 65°C'de, 30 dk alt-üst edilerek hücrelerin parçalanması sağlandı. Tüplere 500 µl fenol-kloroform-izoamil alkol ilave edildi. Tekrar alt-üst edilerek karıştırıldı ve 13.000 rpm'de 4 dk santrifüj edildi. Sonra tüplerin içerisindeki karışımın üst fazı alınarak yeni tüplere aktarıldı. Bu tüplere 500 µl kloroform eklendi ve alt-üst edilerek 13.000 rpm'de 4-5 dk santrifüj edildi. Üst faz alınarak yeni tüplere aktarıldı ve buna 3 ml 55 µl 3 M'lık sodyum asetat ve 1.000 µl %96'lık etil alkol ilave edildi. Karışım -20°C'de 45 dk bekletildi. Daha sonra 13.000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi ve sıvı kısım uzaklaştırıldı. Pellet üzerine 500 µl alkol ilave edilerek 13.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi. Üst kısımdaki sıvılar boşaltıldı ve pellet açık havada kurutuldu. Elde edilen DNA pelleti, 50-100 µl steril TE tamponunda çözümlenerek +4°C'de saklandı.

2.3.2. 16S rRNA Geninin Analizi

16S rRNA genleri, herbir izolattan saflaştırılan genomik DNA kullanılarak PCR ile UNI16S-F (5'-ATTCTAGAGTTTGATCATGGCTCA-3') ileri ve UNI16S-R (5'-ATGGTACCGTGTGACGGGCGGTGTGTA-3') geri primerleri kullanılarak çoğaltıldı. PCR reaksiyonlarının koşulları Beffa (1996)'ya göre oluşturuldu. PCR tüpüne 12 ng kalıp DNA, 5 µl 10 x PCR tamponu (100 mM Tris-HCl, pH 8,3; 500 mM steril KCl), 1,5 mM MgCl₂, 0,5 mM 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 karışımı ilave edildi ve steril saf su ile 50 µl'ye tamamlandı. Çoğaltma işlemi Biometra Personal Cycler cihazında

gerçekleştirildi. Reaksiyon sıcaklıkları ve süreleri ise ilk denatürasyon basamağı 95°C de 2 dk olarak gerçekleştirildikten sonra, 94°C’de 1 dk (denatürasyon için), 56°C’de 1 dk (hibridizasyon için) ve 72°C’de 2 dk (polimerizasyon için)’da 36 döngü olarak gerçekleştirildi. Elde edilen PCR ürünlerinin 5 µl’si %1,1’lik agaroz jelde yürütüldü ve etidyum bromür boyası (0,5 µg/ml) ile boyandıktan sonra "BioDocAnalyze" sistemiyle görüntüldü.

İzolatların genomik DNA'larından PCR ile çoğaltılan 16S rRNA genleri baz dizin analizi yaptırılmak üzere Macrogen firması (Kore)’na gönderildi. Elde edilen yaklaşık 1350 bp uzunluğundaki 16S rRNA dizi sonuçları Gen bankasındaki mevcut diziler ile karşılaştırıldı ve aralarındaki benzerlikler belirlendi.

2.4. İzolatların İnsektisidal Aktivite Testleri

İnsektisidal aktivite için Çorum ili, İskilip İlçesi, Elmalı Köyü, Arpaseki mevkiinden toplanarak laboratuara getirilen ve karakterizasyonu yapılan 4 ve 5. instar çekirge nimfleri kullanıldı.

Bu deney için çekirgeden elde edilen izolatların spor oluşturmamalarının 24-48 saatlik kültürleri kullanıldı. Bakteri yoğunluğu, spektrofotometrede ölçülerek OD₆₀₀’de 1,89 ($1,8 \times 10^9$ bakteri/ml) olacak şekilde ayarlandı. Sonra 3000×g’de 10 dk santrifüj edilen hücrelerin oluşturduğu pellet 5 ml steril PBS’de çözüldü (Ben-Dov vd., 1995). Bu şekilde hazırlanan kültürler larvalara verilecek olan uygun büyüklükteki marul yapraklarına emdirildi ve kutulara bırakıldı. Bu kutulara 4-6 saat boyunca aç bırakılmış 10’er adet çekirge bırakıldı ve 25°C, %50-60 nem oranında 10 gün inkübe edildi. Ölüler günlük kontrol edilerek, uzaklaştırıldı ve kaydedildi. Denemeler üçer tekrarlı yapıldı ve ölüm oranları Abbott formülüne göre hesaplandı (Abbott, 1925).

2.4.1. En Yüksek İnsektisidal Etkiye Sahip İzolatın (PSS11) Arazi Şartlarında Doz Uygulamaları

Poecilimon similis similis’den izole edilen ve en yüksek insektisidal etkiye sahip olduğu belirlenen bakteriyal izolatın arazi şartlarında konağı üzerindeki virulansını belirlemek için insektisidal aktivite testleri yapıldı. İzolatlar 2.3.3.1’de anlatıldığı gibi

hazırlanıp zararlı üzerindeki patojenitesi tespit edildi. Bunun için Trabzon Tonya Damlı mevkiinde ince fiber ipliklerden oluşan telden 75cmx75x100cm boyutlarında kapalı alanlar oluşturuldu. Oluşturulan bu kapalı alanlara hazırlanan izolatlara 2×10^9 , 10^9 , 10^7 ve 10^5 yoğunluklarında hazırlandı.

2.4.2. PSS11 numaralı izolatın Arazi Doz Uygulamaları ile Laboratuvar Doz Uygulamalarının Karşılaştırılması

Poecilimon similis similis'den izole edilen PSS11 numaralı izolatın 10^9 , 10^7 ve 10^5 yoğunluklarında hazırlanan karışımının arazi şartlarında ve laboratuvar şartlarında *Poecilimon similis similis* üzerine etkileri test edildi.

2.5. Enfekte Çekirgelerden Entomopatojenik Fungus İzolasyonu

Yapılan arazi çalışmaları neticesinde fungal enfeksiyon kaynaklı öldüğü görülen bir larva bulundu. Ölü larvanın üzerindeki misellerden, öze yardımı ile PDAY (PDA + %1 yeast ekstrakt) besiyerine inokülasyon yapıldı (Vanninen ve ark., 1989). Bakteri kontaminasyonunu engellemek için besiyerine 50 µg/ml ampicilin, 20 µg/ml oranında geniş spektrumlu bir antibiyotik olan tetrasiklin ve 200 µg/ml oranlarında streptomisin ilave edildi (Ihara vd., 2001).

Bu şekilde elde edilen fungusun saf kültürü oluşturuldu. Bunun için fungusdan 1×10^4 spor/ml oranında süspansiyon hazırlandı ve PDAY (Patates dekstroz agar + % 1 maya ekstraktı) besiyerine yayma ekim yapıldı. Bir günlük inkübasyondan sonra görülen koloniler alınarak saf kültürler elde edildi. Tek spordan üreyen fungus örneklerinden saklama işlemi yapıldı. Saklama için fungus PDA besiyerinde büyütüldükten sonra belirli oranda sporları alındı ve 5:1 oranında gliserol stokları yapıldı. Elde edilen stoklar -80°C 'de muhafaza edildi. Petrilerdeki saf kültürler $+4^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edildi (Sevim, 2010).

2.6. İzole edilen Fungusun Moleküler Karakterizasyonu

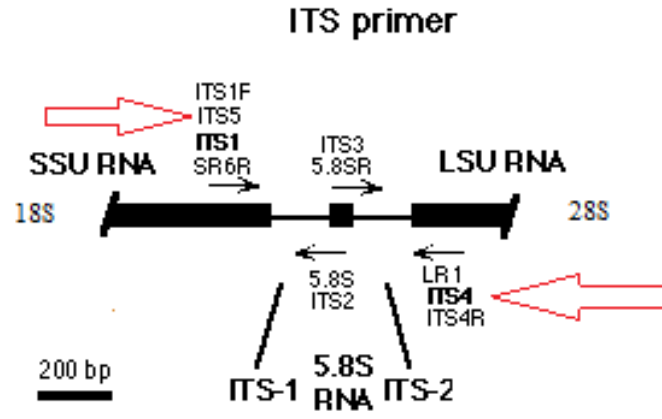
2.6.1. Fungal DNA İzolasyonu

Funguslardan DNA izolasyonu için kültürler ilk olarak PDAY besiyerine ekildi ve 1 ay boyunca 28°C’de inkübasyona bırakıldı. Sonra bu kültürlerden koloniler alınarak 50 ml PDB (Potates dekstroz sıvı) besiyerine inoküle edildi ve 1-2 hafta boyunca 28°C’de ve 250 rpm’de kuru hava sallayıcısında inkübasyona bırakıldı. Büyüyen kültürler steril filtre kağıdıyla süzöldükten sonra sıvı azot içerisinde öğütölerek toz haline getirildi. Daha sonra üretici firmanın önerileri doğrultusunda NucleoSpin Plant Kit (50, Clontech) kitleri kullanılarak DNA izolasyonu gerçekleştirildi. İzole edilen DNA’lar %1’lik etidyum bromür içeren agaroz jelde yürütölerek UV ışığı altında görüntölendi. Elde edilen DNA örnekleri kullanılmaya kadar -20°C’de muhafaza edildi (Sevim, 2010).

2.6.1.2. Fungal rRNA ITS5-ITS4 Bölgelerinin PCR ile Çoğaltılması

Fungusların 18S ve 28S rRNA alt üniteleri arasında kalan ITS5-ITS4 bölgelerinin (Şekil8) PCR ile çoğaltılması için ileri olarak ITS5: 5’-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3’ ve geri olarak ITS4: 5’-TCCTCCGCTTATTGATATCG-3’ primerleri kullanıldı. ITS5-ITS4 bölgelerinin çoğaltılması için hazırlanan PCR reaksiyon karışımı, her bir dNTP’den 200 µM, her bir primerden 50 pmol, 2,5 unite *Taq*-DNA-polimeraz, 5 µl 10X *Taq* DNA polimeraz reaksiyon tamponu, 50 ng genomik DNA içerdi. Son hacim ddH₂O ile 50 µl’ye tamamlandı. PCR koşulları: 95°C’de 5 dakikalık denatürasyondan sonra 95°C’de 1 dak., 50°C’de 45 sn. ve 72°C’de 2 dak. 35 döngü ve son adım olarak 72°C’de 10 dak. şeklinde gerçekleştirildi (Muro vd., 2005). PCR reaksiyonu 0,5 µg/ml etidyum bromür katkılı %1’lik agaroz jelde 90 V’de 45 dakika elektroforez edildi. Qiaquick PCR 50 (Qiagen GmbH, Leusten, the Netherlands) kiti kullanılarak jelden saflaştırıldı ve DNA dizi analizi için MacroGen (Kore) şirketine gönderildi.

Elde edilen yaklaşık 500 bp uzunluğundaki ITS rRNA dizi sonuçları Gen bankasındaki mevcut diziler ile karşılaştırıldı ve aralarındaki benzerlikler belirlendi.



Şekil 8. ITS5-ITS4 bölgesini çoğaltmak için kullanılan primerlerin pozisyonları. (ITS5 forward ve ITS4 revers primer olarak kullanılmıştır) (Duke Üniversitesi Vilgalys laboratuvarı, URL9'dan değiştirilerek).

3. BULGULAR

Çekirgeler ile mikrobiyal mücadelede yeni bir etmen belirlemek amaçlı yapılan çalışmada, Çorum ili, İskilip İlçesi, Elmalı Köyü, Arpaseki mevki'inden toplanan ve tür tayini yapılan zararlının kültüre edilebilir bakteriyal florası belirlendi. Bakteriyal florayı oluşturan izolatların zararlı üzerindeki insektisidal etkileri araştırıldı. Yapılan arazi çalışmaları sırasında bu zararlıda doğal fungus enfeksiyonu gözlemlendi ve bu fungusun moleküler çalışmalar neticesinde türü belirlendi. Yapılan çalışmalardan aşağıdaki sonuçlara ulaşıldı.

3.1 Zararlı Çekirgenin Türünün Belirlenmesi

Tür tayinini yaptırılmak üzere Abant İzzet Baysal Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden Doç. Dr. Mustafa ÜNAL'a gönderilen çekirgelerin *Poecilimon similis similis* (Retowski, 1889) türüne ait oldukları belirlendi.

3.2. *Poecilimon similis similis* (Retowski, 1889) Nimflerinin Bakteriyel Florasının Belirlenmesi

Bakteriyal flora belirlenmesi çalışmaları sonucunda *Poecilimon similis similis* (Retowski, 1889) bireylerinden koloni şekli, rengi ve büyüklüğü gibi farklı morfolojik özelliklerinden yararlanarak 12 tane kültüre edilebilir bakteriyal izolat elde edildi ve bunlar PSS1, PSS2, PSS3, PSS4, PSS5, PSS6, PSS7, PSS8, PSS9, PSS10, PSS11 ve PSS12 olarak kodlandırıldı.

3.3. İzolatların Karakteristik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Tür Tayinlerinin Yapılması

3.3.1. İzolatların Morfolojik Özellikleri

İlk ayrımları mikroskopik olarak yapılan izolatların mikroskopta koloni rengi, yüksekliği, morfolojisi, kolonilerin kenar görünüşü, bakteri şekli, gram boyama, spor boyama sonuçları belirlendi.

Hiçbir izolatın ise spor ihtiva etmediği belirlenmiştir. İzolatların morfolojik özellikleri tablo 5’da verilmiştir.

Tablo 5. İzolatların morfolojik özellikleri

İzolat no	Morfolojik Özellikler								
	Koloni rengi	Koloni yüksekliği	Koloni morfolojisi	Kolonilerin kenar görünüşü	Bakteri şekli	Gram boyama	Spor boyama	kaynak	NB’deki Görünüm
PSS1	yeşil	konveks	yuvarlak	düz	basil	+	-	CL-30°C	B
PSS2	açık turuncu	konveks	yuvarlak	düz	kokobasil	-	-	CL-30°C	B
PSS3	krem	konveks	yuvarlak	düz	kokobasil	-	-	CL-30°C	B
PSS4	sarı	konveks	yuvarlak	düz	basil	+	-	CL-30°C	B
PSS5	krem	konveks	düzensiz	düz	kokobasil	+	-	CL-30°C	B
PSS6	sarı	kalkan yumruksu	yuvarlak	düz	basil	-	-	CL-30°C	B
PSS7	sarı	konveks	yuvarlak	düz	basil	+	-	CL-80°C	B
PSS8	krem	konveks	yuvarlak	düz	kokobasil	+	-	CL-80°C	B
PSS9	turuncu	konveks	yuvarlak	düz	basil	-	-	CL-80°C	B
PSS10	krem	yüksek düz ortası çukur	yuvarlak	düz	Kokus-ovoid	+	-	CL-80°C	B
PSS11	Kırmızı	kalkan yumruksu	flamentli	dalgalı	basil	-	-	CL-80°C	Ç
PSS12	renksiz	düze yakın tümsek	yuvarlak	dalgalı	basil	+	-	CL-80°C	B

Düz.: Düzgün, Yuv: Yuvarlak, Dal: Dalgalı, CL: Canlı larva, ÖL: Ölü larva, B: Bulanık

3.3.2. İzolatların Fizyolojik Özellikleri

İzolatların büyümeleri üzerine NaCl, pH, sıcaklık gibi fiziksel faktörlerin etkilerinin araştırılması amacıyla çeşitli testler yapıldı. Fiziksel özellikleri kapsayan bu testler Tablo 5’de verilmektedir.

İzolatların NaCl’ye olan toleranslarının belirlenmesi amacıyla yapılan testler sonucunda tüm izolatların %3 oranında NaCl içeren besiyerlerinde büyüdüğü görüldü. %15 , %12 ve %10 NaCl’li besiyerinde ise hiçbir izolatın büyümediği tespit edilmiştir. İzolatların pH toleranslarının belirlenmesi amacıyla yapılan testler sonucunda da, pH 7 de tüm izolatların büyüdüğü, pH’ın asidik ya da bazik olması ile izolatların büyümediği belirlendi.

İzolatların sıcaklığa olan toleranslarının belirlenmesi amacıyla yapılan testler sonucunda ise hiçbir izolatın 10°C’de büyümediği 15-37°C arasında tüm izolatların büyüdüğü belirlendi. İzolatların fizyolojik özellikleri tablo 6’de verilmiştir.

Tablo 6. İzolatların fizyolojik özellikleri

İzolat No	pH Testi								NaCl Testi (%)						Sıcaklık Testi (°C)					
	3	4	5	6	7	8	9	10	3	5	7	10	12	15	10	15	30	37	45	50
PSS1	-	-	-	Z +	+	+	Z +	-	Z +	-	-	-	-	-	-	-	+		Z +	-
PSS2	-		+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+		Z +	-
PSS3	-		Z +	+	+	+	+	-	+	Z +	-	-	-	-	-	-	+		-	-
PSS4	-	Z +	+	+	+	+	+	-	+	-	Z +	-	-	-	-	-	+		+	+
PSS5	-	Z +	+	+	+	+	+	Z +	-	-	-	-	-	-	-	--	+	-	-	-
PSS6	-	Z +	+	+	+	+	+	Z +	+	Z +	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
PSS7	-		Z +	Z +	+	Z +	Z +	-	Z +	-	-	-	-	-	-	-	+	Z +	Z +	-
PSS8	-		-	-	Z +	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Z +	Z +	-

Tablo 6'nın Devamı. (Z+: Zayıf büyümüş)

PSS9	-		+	+	+	+	+	Z	+	+	-	-	-	-	-	Z	+	Z	Z	-
PSS10	-	-	Z	Z	Z	+	Z	Z	Z	-	-	-	-	-	-	-	+	Z	Z	-
PSS11	-	Z	+	+	+	+	+	Z	+	+	Z	-	-	-	-	Z	+	Z	Z	-
PSS12	-	-	-	-	+	-	-	-	Z	-	-	-	-	-	-		+	Z	-	-

3.3.3. Bakteriyal İzolatların Biyokimyasal ve Metabolik Özellikleri

Bazı enzimlerin varlığı veya yokluğu, bazı enzimlerin üretilip üretilmediği ve izolatların bazı organik maddeleri fermente edip edemediklerini belirlemek bakteri sistematiği açısından büyük önem taşımaktadır. İzolatların bu özelliklerinin belirlenmesi amacıyla katalaz testi, oksidaz testi, nişasta testi, MCA testi ve laktoz testi yapıldı.

Bu testler ve sonuçları Tablo 7'de verilmektedir.

Tablo 7. İzolatların klasik yöntemlerle belirlenen biyokimyasal özellikleri

İzolatlar	Biyokimyasal Özellikler				
	Katalaz Testi	Oksidaz Testi	Nişasta Testi	MCA	Laktoz tezti
PSS1	-	-	+	-	
PSS2	Z+	-	+	+	G+
PSS3	Z+	+	+	+	-
PSS4	Z+	-	+	+	G+
PSS5	+	-	+	+	Z+
PSS6	Z+	-	+	+	-
PSS7	-	-	-	-	
PSS8	-	-	-	-	
PSS9	Z+	-	+	+	-
PSS10	-	-	+	-	
PSS11	Z+	-	Z+	+	G+
PSS12	-	-	-	-	

G+: Güçlü pozitif, Z+: Zayıf pozitif

3.3.3.1. API 20 E Panel Testi

API 20 E test panellerine yapılan ekimler 1 gece 30°C’de inkübe edildikten sonra bazı test kuyucukları direk, bazıları ise ayıraç ilave edilerek incelendi ve izolatların bazı metabolik ve biyokimyasal özellikleri belirlendi. Büyümesi yavaş olan izolatlar McFarland standardına göre yoğunluğu 2 olacak şekilde, 2 gece inkübe edilerek sonuçlar kaydedildi (Tablo 8).

Tablo 8. İzolatların API 20 E panel test sistemi ile belirlenen özellikleri

Testler	Substrat	Aktivite	PSS2	PSS3	PSS6	PSS9	PSS11
ONPG	ONPG	Beta-galaktosidaz	+	+	+	+	+
ADH	Arginin	Arginin dihidrolaz	+	+	+	+	+
LDC	Lisin	Lisin dekarboksilaz	+	+	+	+	+
ODC	Ornitin	Ornitin dekarboksilaz	+	+	+	+	+
CIT	Sitrat	Sitrat kullanımı	+	+	+	+	+
H₂S	Na thiosulfate	H ₂ S üretimi	-	-	-	-	-
URE	Üre	Üre hidrolizi	-	-	-	+	+
TDA	Triptofan	Deaminaz	-	-	-	-	+
IND	Triptofan	İndol üretimi	-	-	-	-	-
VP	Na piruvat	Aseton üretimi	+	-	+	+	+
GEL	Kömür jelatin	Jelatinaz	-	-	-	+	+
GLU	Glukoz	Fermantasyon / oksidasyon	+	+	+	+	Z+
MAN	Mannitol	Fermantasyon / oksidasyon	+	+	+	+	Z+
INO	İnositol	Fermantasyon / oksidasyon	-	-	-	+	+
SOR	Sorbitol	Fermantasyon / oksidasyon	+	+	-	-	Z+
RHA	Ramnoz	Fermantasyon / oksidasyon	+	+	+	-	-
SAC	Sucrose	Fermantasyon / oksidasyon	+	-	-	+	Z+

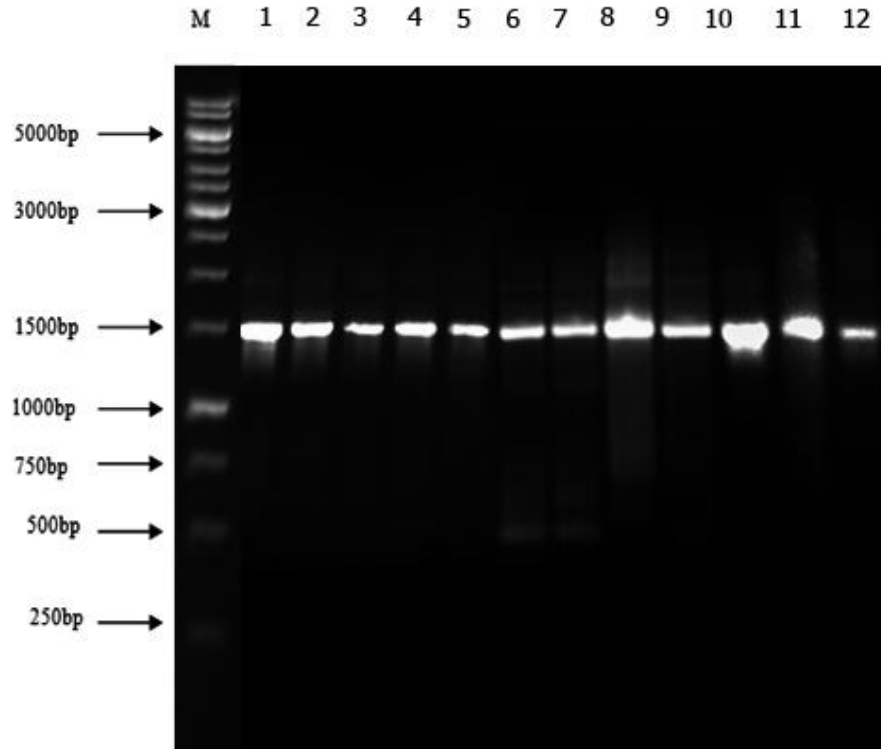
Tablo 9'un Devamı. 24: Deney yapıldıktan 24 saat sonraki sonuçlar. 48: Deney yapıldıktan 24 saat sonraki sonuçlar

SBE	L-sorbose	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
RHA	L-rhamnose	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DUL	dulcitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
INO	inosidol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MAN	D-mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
SOR	D-sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
MDM	methyl- α D-mannopyranoside	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-
MDG	methyl- α D-glucopyranoside	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	Z+	-	-
NAG	N-asetylglucosamine	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	Z+	+	+
AMY	amygdalin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
ARB	arbutin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ESC	esculin-ferric sitrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SAL	salisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CEL	D-celiobiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MAL	D-maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LAC	D-lactose(bovineorgine)	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	Z+
MEL	D-melibiose	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
SAC	D-saccharose(sucrose)	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-
TRE	D-trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
INU	inulin	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
MLZ	D-melezitoz	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
RAF	D-raffinose	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
AMD	amidon(starch)	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-
GLYG	glycogen	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-
XLT	xylitol	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
GEN	gentiobiose	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+
TUR	D-turanose	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-
LYX	D-lyxose	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
TAG	D-tagatose	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
DFUG	D-fucose	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
LFUC	L-fucose	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-
DARL	D-arabitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
LARL	L-arabitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
GNT	potassium gluconate	-	Z+	-	Z+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+
2KG	potassium 2-ketogluconate	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
5KG	potassium 5-ketogluconate	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-

3.3.4. İzolatların Moleküler Karakterizasyonu

3.3.4.1. İzolatların 16S rRNA Gen Sıralarının İncelenmesi

Bakteri sistematigi çalışlarında 16S rRNA genlerinin baz dizilerinin ortaya çıkarılması önemli genetik özelliklerin başında gelir. Bu amaçla ilk olarak tüm bakteri izolatlarından elde edilen genomik DNA'dan PCR yardımıyla 16S rRNA gen bölgesine ait yaklaşık 1400 bp büyüklüğünde ki bir bölge çoğaltıldı (Şekil 9). Bu bölgenin baz diziliminin analizi, Macrogen firmasına gönderilerek yaptırıldı (Ek 3).



Şekil 9. İzolatlara ait 16S rRNA genlerinin PCR sonuçları % 1'lik agaroz jeldeki görüntüleri (M: Marker).

İzolatlara ait elde edilen 16S rRNA gen dizileri, gen bankasında var olan diğer bakteriyal 16S rRNA gen dizileriyle karşılaştırıldı, bu gen dizilerine en fazla benzer olan bakteriyal 16S rRNA genlerine sahip bakteriler belirlendi (Tablo 10).

Tablo10. Belirlenen 16S rRNA dizinlerinin gen bankasındaki ile karşılaştırılmaları

İzolat No	Gen Bankasının 16 S rRNA Dizin Analizine Göre Önerdiği Tür ve Cinsler
PSS1	<i>Lactococcus garvieae</i>
PSS2	<i>Enterobacter sp.</i>
PSS3	<i>Pseudomonas putida</i>
PSS4	<i>Citrobacter freundii</i>
PSS5	Uncultured bakteriyum
PSS6	<i>Hafnia alvei</i>
PSS7	<i>Lactobacillus sp.</i>
PSS8	<i>Lactobacillus graminis</i>
PSS9	<i>Serratia sp.</i>
PSS10	<i>Lactococcus lactis</i>
PSS11	<i>Serratia marcescens</i>
PSS12	<i>Lactobacillus curvatus</i>

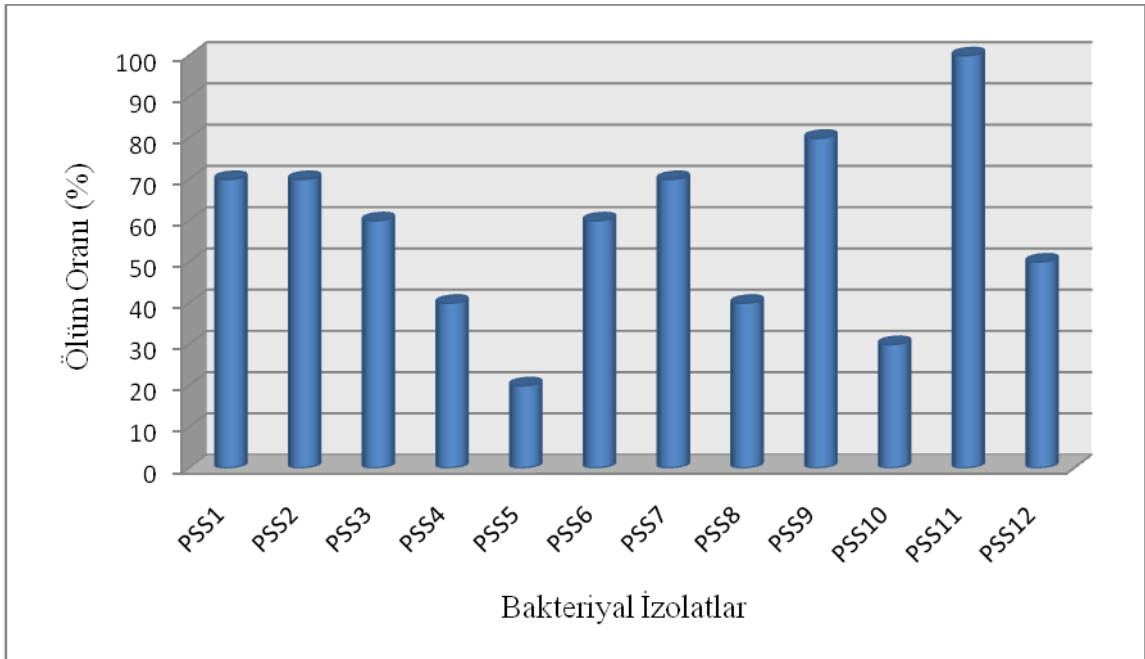
Poecilimon similis similis (Retowski, 1889)'ten izole edilen 12 bakteriyal izolatın morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler özellikleri hep birlikte değerlendirildiğinde ve Bergey's Manual of Determinative Bacteriology kitabından da faydalandığında izolatların benzerlik gösterdiği türler PSS1 *Lactococcus garvieae*, PSS2 *Enterobacter sp.*, PSS3 *Pseudomonas putida*, PSS4 *Citrobacter freundii*, PSS5 *Uncultured bakteriyum*, PSS6 *Hafnia alvei*, PSS7 *Lactobacillus sp.*, PSS8 *Lactobacillus graminis*, PSS9 *Serratia sp.*, PSS10 *Lactococcus lactis*, PSS11 *Serratia marcescens*, PSS12 *Lactobacillus curvatus* olarak belirlenmiştir.

3.4. İnsektisidal Aktivite Çalışmalar

Poecilimon similis similis (Retowski, 1889) nimfleri üzerinde ve laboratuvar koşullarında gerçekleştirildi.

3.4.1. İzolatların *Poecilimon similis similis* (Retowski, 1889) üzerindeki İnsektisidal Etkileri

İlk olarak kültürler hazırlandı ve aynı boyutlarda marul yapraklarına bulaştırıldı. Bu marulları ihtiva eden plastik kutuların her birine 10'ar adet 4. ve 5. evre larvalar bırakıldı. Her bir izolatin insektisidal etkisi 10 gün boyunca araştırıldı ve 10. gün sonunda sonuçlar kaydedildi. Şekil 10'da görüldüğü gibi *Serratia marcescen* (PSS11) izolatu %100 etki ile en yüksek öldürücü sonuç göstermiştir.



Şekil 10. *Poecilimon similis similis*'in kültüre edilebilir bakteriyal flora üyelerinin zararlı üzerindeki insektisidal aktiviteleri X eksen: Yerel izolat numaraları, Y eksen: Ölüm Oranları (%). Testler üçer tekrarlı olup, sonuçlar Abbot

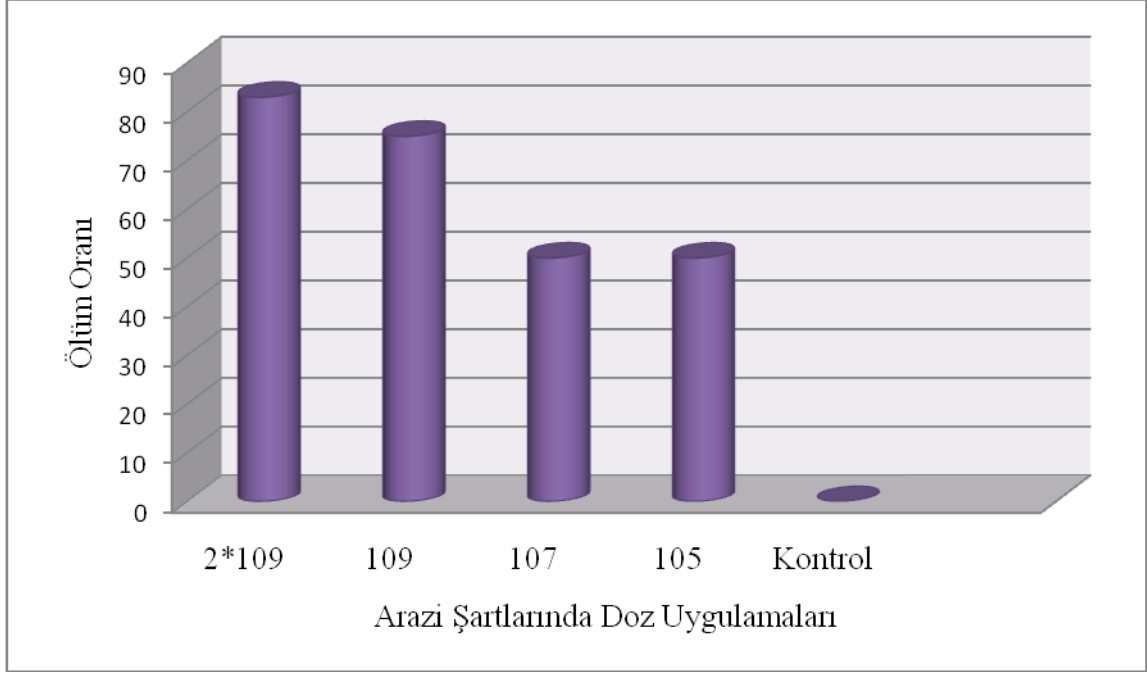
formülüne göre hesaplanmıştır.



Şekil 11. *Poecilimon similis similis*'den izole edilen *Serratia marcescens* izolatının *Poecilimon* sp. üzerine karakteristik enfeksiyon rengi.

3.5. PSS12 Numaralı İzolatın Arazi Şartlarında Doz Uygulamaları

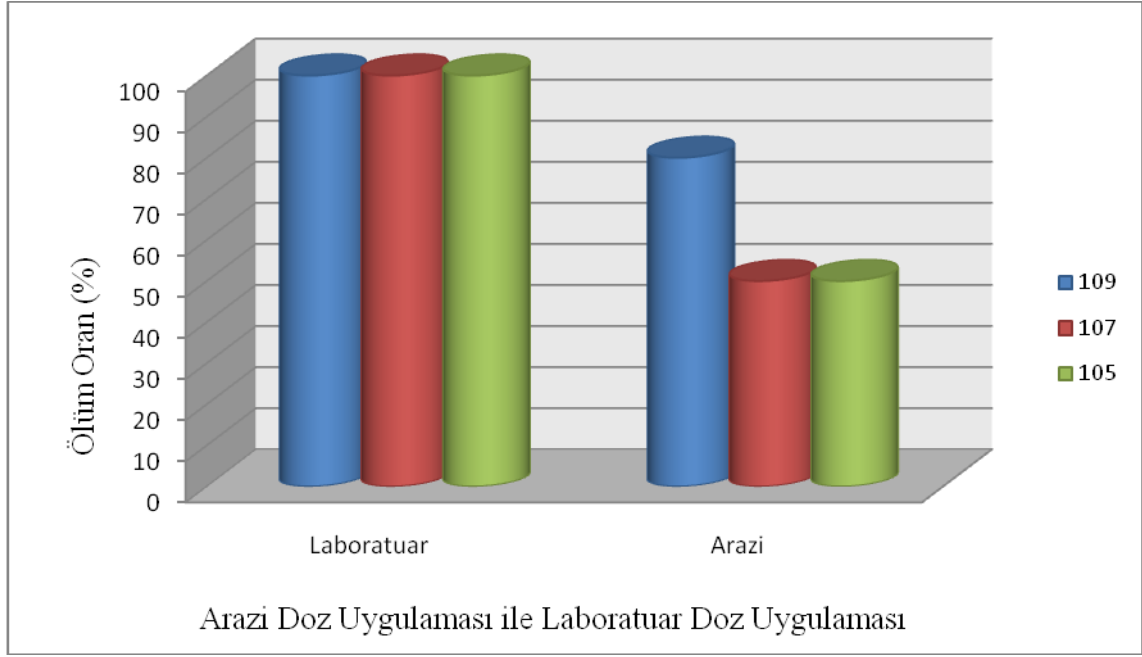
Poecilimon similis similis'den izole edilen *Serratia marcescens* izolatının $2 \cdot 10^9$, 10^9 , 10^7 ve 10^5 yoğunluklarında hazırlanan karışımının arazi şartlarında *Poecilimon similis similis* üzerine etkisi denendi. Bu amaçla yapılan biyoassay denemeleri için çekirgelerin doğal ortamında $75 \cdot 75 \cdot 100$ cm boyutlarında yanmaz ince gözenekli telden kapalı ortam oluşturuldu. Bu ortamların her birine 10'ar adet 4. ve 5. evre larvalar bırakıldı. Her bir konsantrasyonun insektisidal etkisi 10 gün boyunca araştırıldı ve 10. gün sonunda sonuçlar kaydedildi (Şekil12).



Şekil 12. *Poecilimon similis similis*'den izole edilen *Serratia marcescens* izolatının $2 \cdot 10^9$, 10^9 , 10^7 ve 10^5 yoğunluklarında hazırlanan karışımının arazi şartlarında *Poecilimon similis similis* üzerine etkisi. X eksen: Yerel izolatın farklı dozlarının numaraları, Y eksen: Ölüm oranı (%). Testler üçer tekrarlı olup, sonuçlar Abbot formülüne göre hesaplanmıştır.

3.6. PSS12 Numaralı İzolatın Arazi Doz Uygulamaları ile Laboratuvar Doz Uygulamalarının Karşılaştırılması

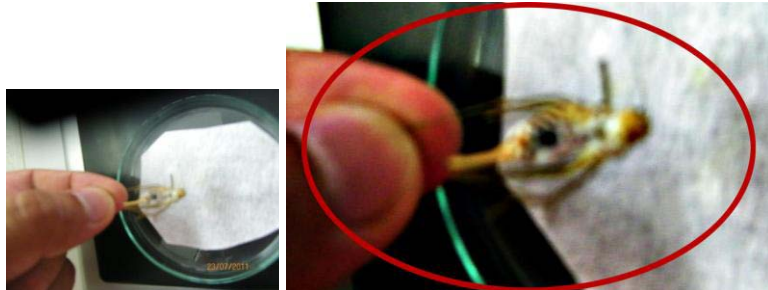
Poecilimon similis similis'den izole edilen *Serratia marcescens* izolatının 10^9 , 10^7 ve 10^5 yoğunluklarında hazırlanan karışımının arazi şartlarında ve laboratuvar *Poecilimon similis similis* üzerine etkileri test edildi. Laboratuvar şartlarında 10^9 , 10^7 ve 10^5 *S. marcescens* konsantrasyonlarında ölüm oranları eşit iken, arazi şartlarında %80 oranla en yoğun ölüm 10^9 konsantrasyonda olmuştur. 10^7 ve 10^5 konsantrasyonlarda ölüm oranı %50'dir (Şekil13).



Şekil 13. *Poecilimon similis similis*'den izole edilen *Serratia marcescens* izolatının 109, 107 ve 105 yoğunluklarında hazırlanan karışımının arazi şartlarında *Poecilimon similis similis* üzerine arazi şartlarında ve laboratuvar şartlarındaki ölüm etkilerinin karşılaştırılması. X eksen: Yerel izolatın farklı dozlarının numaraları, Y eksen: Ölüm oranı (%).Testler üçer tekrarlı olup, sonuçlar Abbot formülüne göre hesaplanmıştır.

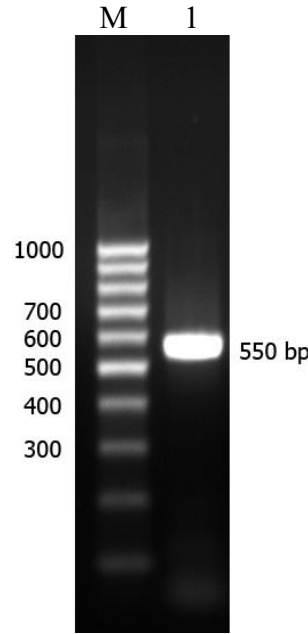
3.7 İzole Edilen Fungusun 18S ITS Gen Dizisinin Aydınlatılması

Arazi çalışması esnasında doğal olarak fungal enfeksiyona yakalanmış *Poecilimon similis similis* nimfi bulundu (Şekil14).



Şekil 14. Arazi Çalışması Esnasında Bulunan Doğal Fungus Enfeksiyonlu *Poecilimon similis similis* 5.evre Nimfi

Bu izolatu uygun şartlarda laboratuara getirilerek moleküler karakterizasyon çalışmalarına başlandı. Fungus sistematığı çalışmalarında 18S rRNA genlerinin ITS bölgelerinin baz dizilerinin ortaya çıkarılması önemli genetiksel özelliklerin başında gelir. Bu amaçla ilk olarak fungal izolattan elde edilen genomik DNA'dan PCR yardımıyla ITS rRNA gen bölgesine ait yaklaşık 550 bp büyüklüğünde ki bir bölge çoğaltıldı (Şekil15). Bu bölgenin baz diziliminin analizi, Macrogen firmasına gönderilerek yapıldı. Elde edilen yaklaşık 550 bp uzunluğundaki ITS5-ITS4 dizi sonuçları Gen bankasındaki mevcut diziler ile karşılaştırıldı ve aralarındaki benzerlikler belirlendi. Buna göre izolatımızın %98 oranında *Beauveria bassiana*'ya benzediği tespit edildi (Ek 5).



Şeki 15. İzole edilen Fungusun 18S ITS (ITS5-ITS4) Gen dizilerinin PCR sonucunun Jel Elektroforezi Görüntüsü (M: Marker, 1: PCR sonucu)

4. TARTIŞMA

Dünyamız nüfusunun sürekli artması sebebi ile tarımsal üretime olan ihtiyaç da giderek artmaktadır. Bilim adamlarımız tarafınca yapılan çaprazlama deneyleri sonucunda verimli ve dayanıklı ırkların üretilmesi ile bu durum dengelenmeye çalışılmaktadır. Fakat bu çalışmalara rağmen, tarımsal zararlı böceklerin verdiği zararlardan ötürü üretim istenildiği kadar artmamaktadır.

Ekonomisi tarıma dayalı olan Türkiye, son yıllarda sanayi toplumu olma yolunda da büyük mesafe almıştır. Ancak yinede tarım, ülke ekonomisinde önemli yer tutmaktadır. Ülkemizde bitkisel üretiminin %17'si tahıllar, %3'ü baklagiller, %27'si endüstri bitkileri, yağlı tohumlar, yumru bitkiler ve diğerleri dahil olmak üzere toplam %47'si tarla ürünleri ile, %29'u meyve, %16'sı sebze, %8'i diğer yan ürünler ve çiçekçilik olmak üzere toplam %53'ü de bahçe bitkileri ürünlerinden oluşmaktadır (URL10).

Son verilere göre, 18,3 milyon hektarlık tarla ürünleri ekim alanı içerisinde en büyük yeri %76'lık ekiliş oranı ile tahıllar almaktadır. Baklagiller toplam ekiliş alanının yaklaşık %8'ini, endüstri bitkileri %7,8'ini, yağlı tohumlar %7,2'sini kapsamakta ve geriye kalan %1'lik alanda yem bitkileri ve diğer tarla ürünleri yetiştirilmektedir (URL10).

Tahıl ekili alanların %67,3'ünü buğday, %26'sını arpa, %3,7'sini mısır, %3'ünü de yulaf, çavdar, kaplıca, darı, pirinç, kuşyemi ve mahlut almaktadır. Tahıllar gibi geleneksel tüketim ürünlerimizden olan mercimek, nohut, kuru fasulye, bakla, bezelye ve börülce ülke düzeyinde yaygın olarak üretilmektedir. Ülkemiz dünya baklagiller üretiminde önemli ülkeler arasında yer almaktadır (URL10).

Ülkemizin ana ekonomisi tarım ve ziraat üzerinedir. Bu nedenden dolayı çekirgeler polifag beslenmesi nedeni ile tüm tarımsal bitkilere zararı dokunan oldukça önemli bir zararlıdır.

Çekirgelerin insan ve bitkilerde yaptıkları zarar tahmin edilmeyecek kadar büyüktür. Kaba bir tahminle dünyadaki mahsulün 1/3 ü bu hayvanlar tarafından yok edilmektedir denilebilir. Örneğin bir çekirge sürüsü 2 milyar bireyden oluşabilir ve 3.000 ton kadar ağırlığa ulaşabilir. Bu rakam bazen 50.000 tona kadar yükselebilir. Korkunç büyüme yetenekleri vardır. Salgın hastalıkların mikroplarını taşıdıkları için bitkilerin yanı

sıra insanları da büyük ölçüde tehdit ederler. Sürünün boyutları tahminin ötesindedir; 5 ila 12 km²'lik bir alanı kaplayan bir sürü yaklaşık 700 milyon-2 milyar hayvan içerir (1.000-3.000 tonluk bir kitle). Bu her hektara 2,5 ton çekirge demektir. Bununla birlikte 250 km²'lik bir alana yayılmış 35 milyar bireyden oluşmuş 50.000 tonluk sürülerde gözlenmiştir (Demirsoy, S-395). Eğer bir larvanın son deri değiştirmesine kadar erginin vücut ağırlığının 10 misli bitkisel besin yediği düşünülürse, orta büyüklükteki bir sürünün sadece gençlik evrelerinde 20.000 ton yediği hemen anlaşılabilir. Ergin evrede de bu miktarın 2 misli kullanılır. Ayrıca hayvanlar bitkiyi ısırarak kopardıklarından, bitkinin büyük bir kısmı da ürün olmadan yere düşerek yitilir (Demirsoy, 1999).

Çekirgeler bitkilerin çoğu ile beslenirler. Birçok kültür bitkisi üzerinde beslenirler, çayır ve meralarda, tarla ve yem bitkilerinde, hububat, ayçiçeği, pamuk ve bağda; çayır ve otlaklarda, bağ ve meyve fidanlarında, yeni gelişen tohumların kök ve sapında, bağlarda körpe filizlerinde, sebzelerde, pancar, pamuk ve tütün fidelerinde beslenir ve zarar yaparlar.

Ülkemizde son 5 yılda Çorum, Ankara, Amasya, Ordu, Karabük, Erzincan, Gümüşhane, Balıkesir, Ağrı, Aydın ve Bingöl'de çekirge istilaları olmuş ve İl Tarım Müdürlüklerince kimyasallar kullanarak mücadele çalışmaları yapılmıştır. Bu çekirgelerin çoğu da *Poecilimon* ve *Isophya* cinslerine ait yeşilçekirgelerdir.

Günümüze kadar kültürel, kimyasal ve biyolojik mücadele yöntemlerine ait çeşitli uygulamalarla zararlıyla mücadele edilmeye çalışılmıştır. Ancak, mücadelede tam bir başarı sağlanamamıştır. Birçok böcek türü bireysel ya da populasyon seviyesinde bakterilerle çok yakından ilişki içindedir (Bour Saux-Eude ve Gross, 2000). Bakterilerin kullanıldığı mücadele bakterilerin ürettiği çeşitli toksin-enzim gibi maddelerin barsak peritrofik matriksini yada epitelyum dokusunu parçalamasıyla başlayan bir süreçtir. Patojenin konak canlıda çoğalması, konakda ciddi enfeksiyonlara neden olabilir. Bunun neticesinde konağın hastalanması ya da ölümüyle sonuçlanır. Zararlı böceklerin biyolojik mücadelesinde bu organizmaların kullanılması birçok bilimsel araştırmaya temel oluşturmuştur (Haiwen vd., 2005).

Simbiyotik bakterilerin önemine binaen bütün bakteriyal floranın tespit edilmesi de oldukça önemlidir. Bu nedenle, *Poecilimon similis similis* (Retowski, 1889)'e karşı bir bakteriyal mücadele etmeni tespit etmek maksadıyla yapılan bu çalışmada, sadece sağlıklı larvalardan elde edilen izolatlarla yetinilmedi, enfeksiyonlu nimflerden elde edilen fungus izolatu da çalışmaya dahil edildi. Bu çalışma sayesinde zararlı böceklerle karşı

kullanılabilecek insektisidal aktivitesi yüksek, güvenilir ve ülkemize ait bir mikrobiyal mücadele etmenlerinin geliştirilmesi yolunda yeni adımlar atılmış oldu.

2010 yılı Mayıs ayında, Çorum İskilip ilçesinin Elmalı ve Çatkara köylerinde çekirge salgını meydana gelmiştir. Bu nedenden ötürü 14/5/2010 tarihinde İskilip İlçe Tarım Müdürlüğü tarafından çekirgelerle mücadele amaçlı 200 dekarlık alanda ilaçlama yapılmıştır. Bu çalışmada çekirgelerin neden olduğu bu soruna çözüm arama kapsamında *Poecilimon similis similis* (Retowski, 1889) (Yeşil Çekirge, Tettigoniidae: Orthoptera) türünün entomopatojenleri araştırılmıştır.

Çalışmada *Poecilimon similis similis* (Retowski, 1889) (Yeşil Çekirge, Tettigoniidae: Orthoptera)'den 12 adet kültüre edilebilir bakteriyal izolat ve 1 adet doğal enfeksiyona neden olmuş fungus izole edildi. İzolatların tür tayininde rutin olarak kullanılan konvansiyonel testlerin (morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal) yanında tür tayinlerinin daha doğru bir şekilde yapılabilmesi için geliştirilmiş 16S rRNA dizi analizi, API 20 E ve API 50 CH identifikasyon sistemleri de kullanıldı. Bakterilerin tür tayinleri için Bergey's Manual of Systematic Bacteriology kaynak kitabından yararlandı. Yapılan tanımlar API 20 E ve API 50 CH sistemleri analiz sonuçlarıyla desteklendi (Halda-Alija, 2004; Lian, 2004). fungal izolat ise sadece 18S rRNA analizine tabi tutuldu.

16S rRNA genleri oldukça iyi korunmuş üniversal sıralara sahiptir (Woese 1990). Bu genler bakteriler arasındaki akrabalıkları belirlemede ve bakterilerin tür veya cins seviyesinde identifikasyonlarının yapılmasında son yıllarda oldukça önemli bir araç haline gelmiştir (Sacchi vd, 2002).

İzolatlara ait tüm sonuçlar birleştirildiğinde ve Bergey's Manual of Determinative Bacteriology kitabından da faydalandığında *Poecilimon similis similis* (Retowski, 1889)'in kültüre edilebilir bakteriyal florasının *Lactococcus garvieae* (PSS1), *Enterobacter* sp. (PSS2), *Pseudomonas putida* (PSS3), *Citrobacter freundii* (PSS4), Tanımlanamayan bakteri (PSS5), *Hafnia alvei* (PSS6), *Lactobacillus* sp. (PSS7), *Lactobacillus graminis* (PSS8), *Serratia* sp. (PSS9), *Lactococcus lactis* (PSS10), *Serratia marcescens* (PSS11), *Lactobacillus curvatus* (PSS12) türlerinden oluştuğu belirlendi.

PSS1 nolu izolatin morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal özellikleri ve metabolik enzim profilleri dikkate alındığında *Lactococcus* cinsine dahil olduğuna karar verildi. Bunun yanında 16S rDNA dizin analizi ve API20E test sistemlerinin sonuçları da izolatin tür seviyesinde karakterizasyonu neticesinde *Lactococcus garvieae* olduğuna karar verildi. *Lactococcus garvieae* (PSS1) ilk olarak böceklerden izole edilmiştir. Bu tür daha önce

Japonya’da Park adlı bilim adamı ve arkadaşları tarafından 1997’de, (Yellowtail=*Seriola quinqueradiata*) ülkemizde de sarıkuyruk-kuzu adı ile bilinen bir balıktan izole edilmiştir. Yine Çağırğan (2004) adlı araştırmacı tarafından yapılan araştırmada alabalıklardan 20 farklı *Lactococcus garvieae* suşu izole edilmiştir. Normalde balıklardan izole edilen bu tür ilk olarak çekirgelerden izole edilmiştir.

PSS2 nolu izolatin morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal özellikleri ve metabolik enzim profilleri dikkate alındığında *Enterobacter* cinsine dahil olduğuna karar verildi. Bunun yanında 16S rDNA dizin analizi ve API20E test sistemlerinin sonuçları da izolatin tür seviyesinde karakterizasyonu da yetersiz kalmıştır. *Enterobacter* genusu içinde yer alan, *E. aerogenes*, *E. agglomerans*, *E. sakazakii* ve *E. gergoviae* türleri daha önce böceklerden izole edilmiş ve patojeniteleri çalışılmıştır (Bucher, 1981; Martinez vd., 1994; Klein ve Kaya, 1995; Demir vd., 2001; Kuzina vd., 2001).

PSS3 nolu izolatin morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal özellikleri ve metabolik enzim profilleri dikkate alındığında *Pseudomonas* cinsine dahil olduğuna karar verildi. Bunun yanında 16S rDNA dizin analizi ve API20E test sistemlerinin sonuçları da izolatin tür seviyesinde karakterizasyonu neticesinde *Pseudomonas putida* olduğuna karar verildi. *Pseudomonas putida* olarak belirlenen PSS3 nolu izolat dünyada toprak ve tatlı su ortamlarında yaşayan çok yaygın bir bakteridir. Değişken metabolik özellikleri olan ve ağır enfeksiyonlara neden olabilen saprofitik bir toprak bakterisidir (Chen vd., 2005). İlk olarak böcek florasında bu çalışmada belirlenmiştir.

PSS4 nolu izolatin morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal özellikleri ve metabolik enzim profilleri dikkate alındığında *Citrobacter* cinsine dahil olduğuna karar verildi. Bunun yanında 16S rDNA dizin analizi ve API20E test sistemlerinin sonuçları da izolatin tür seviyesinde karakterizasyonu neticesinde *Citrobacter freundii* olduğuna karar verildi. Bu bakterinin kirli ortamlarda bakır iyileştirme için kullanılabileceği bildirilmiştir (Sharma ve Fulekar, 2009).

PSS5 nolu izolat için ise yapılan morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal testler, 16S rRNA dizin analizi ve API 20E sistemlerinin analiz sonuçları bu bakteriyi herhangi bir cins içerisine yerleştiremiştir. Bu bakterinin ileride yapılabilecek DNA-DNA hibridizasyon çalışmaları neticesinde yeni bir tür olarak ortaya çıkması muhtemeldir.

PSS6 nolu izolatin morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal özellikleri ve metabolik enzim profillerince yapılan çalışmalar, 16S rRNA dizin analizi ve API 20E sistemlerinin analiz sonuçları neticesinde bu izolat *Hafnia alvei* olarak belirlendi. *Hafnia alvei*

Enterobacteriaceae ailesinin bir üyesidir. Gram olumsuz, katalaz üreten, nişastayı kullanabilen, oksidaz üretmeyen bir bakteridir. İnsan gastrointestinal sisteminde doğal olarak bulunabilmekte fakat patojenite göstermeyebilir. Japonya'da yapılan bir çalışma, normal sağlıklı bireylerin dışkı örneklerinin yaklaşık% 13'ünden *Hafnia alvei* izole edilebileceği bildirilmiş ve bildiğimiz kadarıyla bu ishal etkeni olarak hiç karşılaşılmadığı bildirilmiştir (Laupland, 2006). Fakat Bangladeş'de 1991 yılında sulu ishal olan 9 aylık çocuğun dışkı kültüründe gözlemlenmiştir (Albert, 1991).

PSS7 nolu izolatin morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal özellikleri ve metabolik enzim profillerince yapılan çalışmalar, 16S rRNA dizin analizi ve API 20E sistemlerinin analiz sonuçları neticesinde bu izolat *Enterococcus* sp, *Firmicutes bacterium*, *Lactococcus garviae* ve *Lactobacillus* sp.'e %99 oranında benzemektedir. PSS7 numaralı izolat gram olumsuz olmasından dolayı *Enterococcus* sp. değildir. *Firmicutes bacterium* grubu hem gram olumlu hemde gram olumsuz boyandıkları için sistematüğinde tartışmalar söz konusudur. Önceleri Gram olumsuz grupta yer alırken sonradan gram olumlu bakteri grubunda yer almıştır. Çağırğan 2004 Türkiye'deki *Lactococcus garviae* izotoplarının biyotiplendirilmesi adlı yayında yaptığı Api 20 Test sonuçlarına göre sarı 13 Api 20 test sonuçları karşılaştırıldığında:

Glycerol pozitif, Erythriol pozitif, D-xylose pozitif D-melibiose pozitif, D-raffinose pozitif, amidon(starch) pozitif, glycogen pozitif, xylitol pozitif, L-fucose pozitif, potassium gluconate negatif olduğu görülmüştür. Yani bu sonuçlar Çağırğan'ın sonuçları ile tam tersidir. Dolayısı ile PSS7 *Lactococcus garviae* değildir. Yapılan bu çalışmalar neticesinde PSS7 izolat tür seviyesinde belirlenememiş ve *Lactobacillus* sp. olarak tanımlanmıştır.

PSS8 nolu izolat için ise yapılan morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal testler neticesinde *Lactobacillus* cinsi olduğu belirlenmiştir. Biyokimyasal testlet neticesinde bu izolatin katalaz ve oksidaz üretmediği nişastayı kullanamadığı belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar, 16S rRNA dizin analizi sonuçları bu izolatin *Lactobacillus graminis*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sakei* olduğunu desteklemektedir. *Berthier* ve *Ehrlich* adlı araştırmacıların 1999 da yaptıkları bir çalışmada: *L. sakei*, *L. graminis* ve *L.curvatus* türlerini birbirinden ayırt etmek için kullanılan beş biyokimyasal özellikleri incelendi. Bunlar: düşük glukoz konsantrasyonu varlığında arginin hidrolizi, melibiose ve ksiloz fermentasyonu, haem bağımlı katalaz varlığı ve D-laktat üretimidir. *L.sakei* arginini hidrolize edebilir, melibiose'yi fermente eder ve katalaz aktivetisine sahipken *L.curvatus*'da bu özellikler yoktur. *L.graminis* xylose'i fermente edebilirken *L.sakei* ve

L. curvatus fermente edemez (Berthier ve Ehrlich, 1999). Yapılan çalışmalar, 16S rRNA dizin analizi ve API 20E sistemlerinin analiz sonuçları, bu izolat bizim izole ettiğimiz sarı14 nolu bakteri xylose'u fermente edebildiği için *L. graminis* olarak adlandırılmıştır.

PSS9 nolu izolatin morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal özellikleri ve metabolik enzim profilleri dikkate alındığında *Serratia* cinsine dahil olduğuna karar verildi. Bunun yanında 16S rDNA dizin analizi neticesinde *Serratia* sp., *Serratia grimesii*, *Serratia proteamaculans* ve *Serratia liquefaciens* olduğu belirlendi. API20E test sistemlerinin sonuçları değerlendirildiğinde PSS9 nolu izolatin *Serratia grimesii*, *Serratia proteamaculans* ve *Serratia liquefaciens*'den farklı olduğu belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmalar neticesinde PSS9 nolu izolat tür seviyesinde belirlenememiş ve *Serratia* sp. olarak tanımlanmıştır.

PSS10 nolu izolatin morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal özellikleri ve metabolik enzim profillerince yapılan çalışmalar neticesinde bu izolatin gram olumlu, oksidaz ve katalaz üretmeyen, nişastayı kullanabilen, kokus şekillidir. Yapılan çalışmalar, 16S rRNA dizin analizi sonuçlarına göre bu izolat *Lactococcus garviae*, *Enterococcus seriolicida*, *Enterococcus* sp., *Lactococcus lactis*, *Edwardsiella tarda*'ya benzemektedir. (PSS10) numaralı izolat gram olumlu olmasından dolayı *Edwardsiella tarda* ve *Enterococcus* sp. değildir. Çünkü bunlar gram olumsuzdur. Önceki çalışmalarda *Enterococcus seriolaicida* olarak adlandırılan bakterinin biyokimyasal özellikleri, protein profili, 16S rRNA sıralama ve DNA hibridizasyon çalışmaları *Lactococcus garviae* ve *Enterococcus seriolaicida* aynı tür olduğunu bildirilmiştir (Domenech vd., 1993; Eldar vd., 1996; Teixeira vd., 1996). Çağırğan 2004 Türkiye'deki *Lactococcus garviae* izotoplarının biyotiplendirilmesi adlı yayında yaptığı Api 50 Test sonuçları ile bu çalışmada izole edilen sarı 16 kodlu bakterinin Api 50 test sonuçları karşılaştırıldığında: Bizim izolatomuz Glycerol pozitif, L-arabinose pozitif, D-lactose(bovineorgine negatif, D-melibiose pozitif, D-melezitoz pozitif, D-raffinose pozitif, potassium 5- ketogluconate pozitif olmasından dolayı *Lactococcus garviae*'den farklıdır ve *Lactococcus lactis*'dir. Yapılan çalışmalar, 16S rRNA dizin analizi ve API 20E sistemlerinin analiz sonuçları, bu izolatin *Lactococcus lactis* olduğu belirlenmiştir.

PSS11 nolu izolatin morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal özellikleri ve metabolik enzim profillerince yapılan çalışmalar neticesinde *Pseudomonas* ve *Serratia* cinslerine ait olabilecekleri belirlenmiştir. PSS11 nolu izolatin gram olumsuz, oksidaz üretmediği, katalaz ürettiği ve nişastayı kullandığı, basil formda olduğu ve kırmızı pigment ürettiği

gelirlenmiştir. Yapılan çalışmalar, 16S rRNA dizin analizi sonuçlarına göre bu izolatın *Serratia marcescens*, *Serratia nematodiphila*, *Pseudomonas fluorescens* ile yüksek oranda benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan literatür çalışması neticesinde *Pseudomonas fluorescens* oksidaz pozitif olduğu görülmüştür. PSS11 adlı izolatımız oksidaz negatif olmasından dolayı bu izolat *Pseudomonas fluorescens* değildir. PSS11 kodlu izolatın spor oluşturmayan, katalaz enzimi üreten, gram (-), glikozu fermentlemesiyle *Serratia* cinsine dahil edildi. Kırmızı renkte pigmentlere sahip olması, arginin ve arabinoz negatif, ornitin, glukoz ve VP pozitif olmasıyla diğer *Serratia* türlerinden ayrılan izolatın *Serratia marcescens* olduğuna karar verildi. *Serratia* generu içerisinde yer alan türler böceklerde oldukça yaygındır. Bu cinste yer alan *S. marcescens*, *S. entomophila*, *S. proteamaculans*, *S. liquefaciens*, *S. rubidea* ve *S. fonticola* daha önce yapılan birçok çalışmada böceklerden izole edilmiştir (Lepesme, 1937; Steinhaus, 1951, 1959; Steinhaus ve Marsh, 1962; McLaughlin ve Keller, 1964; Bell, 1969; Lipa ve Wiland, 1972; Sikorowski, 1985; Krieg, 1987; O'Callaghan ve Jackson, 1993; Martinez vd., 1994; Klein ve Kaya, 1995; Sezen ve Demirbağ, 1999; Jackson vd., 2001; Kuzina vd., 2001; Osborn vd., 2002; Jeyaprakash vd., 2003; Sezen vd., 2004, 2005 2007; Bahar vd., 2007; İnce vd., 2008; Sevim vd., 2010, Özkan vd., 2010.

PSS12 nolu izolatın morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal özellikleri ve metabolik enzim profillerince yapılan çalışmalar neticesinde *Lactobacillus* cinsine ait olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar, 16S rRNA dizin analizi sonuçlarına göre bu izolat *Lactobacillus graminis*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sakei*'dir. PSS12 nolu izolat yapılan biyokimyasal testlet neticesinde katalaz ve oksidaz üretmeyen, nişastayı kullanamayan, gram olumlu, basil formdadır. Berthier ve Ehrlich adlı araştırmacıların 1999 da yaptıkları bir çalışmada: *L. sakei*, *L. graminis* ve *L. curvatus* türlerini birbirinden ayırt etmek için kullanılan beş biyokimyasal özellikleri incelendi. Bunlar: düşük glukoz konsantrasyonu varlığında arginin hidrolizi, melibiose ve ksiloz fermantasyonu, haem bağımlı katalaz varlığı ve D-laktat üretimidir. *L. sakei* arginini hidrolize edebilir, melibiose'yi fermente eder ve katalaz aktivitesine sahipken *L. curvatus*'de bu özellikler yoktur. *L. graminis* xylose'i fermente edebilirken *L. sakei* ve *L. curvatus* fermente edemez (Berthier ve Ehrlich, 1999). Bizim izole ettiğimiz sarı12 adlı bakteri arjinini hidrolize edemediği için ve Melibiose negatif olduğu için *L. sakei* değildir. Sarı19 nolu bakteri xylose'u fermente edemediği için *L. graminis* değildir. Melibiose negatif olduğu için *L. sakei*'de değildir. Dolayısı ile Sarı19 nolu izolat *Lactobacillus curvatus*'dur. Yapılan

çalışmalar, 16S rRNA dizin analizi ve API 20E sistemlerinin analiz sonuçları bu izolatın *Lactobacillus curvatus* oluşuna karar verildi. *Lactobacillus sakei* ve *Lactobacillus curvatus* suşlarına çok fazla teknolojik ilgi vardır. Her iki tür gibi önceden hazırlanmış bitmiş hamur ve fermente bitki ve et malzeme gibi farklı yaşam alanlarından izole edilmiştir (Kandler ve Weiss, 1986). Yapılan literatür çalışmaları neticesinde *Lactobacillus curvatus*'un daha önceden farklı alanlardan izole edilmesine rağmen yeşil çekirgelerden ilk defa izole edildiği saptanmıştır.

Bu tez çalışmasında ayrıca ülkemiz açısından oldukça önemli bir polifag tarım zararlısı olan *Poecilimon similis similis* (Retowski, 1889) (Tettigoniidae: Orthoptera)'e karşı mikrobiyal mücadelede kullanılabilecek bir bakteriyal mücadele etmeni tespit etmeye yönelik insektisidal aktivite çalışmaları gerçekleştirildi. Bu çalışmalarda *Poecilimon similis similis*'ten izole edilen 12 adet kültüre edilebilir bakteriyal flora üyesi kullanıldı Tüm izolatların *Poecilimon similis similis* (Retowski, 1889) üzerinde farklı derecelerde insektisidal etkiye sahip oldukları belirlendi.

Çalışma sonucunda, böcek orjinli yerel bir izolat olan *Serratia marcescens*'in önemli bir Orthoptera zararlısı olan *Poecilimon similis similis* (Retowski, 1889)'in üzerinde oldukça etkili olduğu tespit edildi.

Yapılan arazi çalışmaları neticesinde doğal fungal enfeksiyonlu larvadan elde edilen izolatın moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. Yapılan 18S rRNA'nın ITS bölge analizleri neticesinde izolatın *Beauveria bassiana* olduğu belirlenmiştir. Literatürde çekirgelerden *Beauveria bassiana* ve *Beauveria brongniartii* izolasyonu Trabut (1891) ve Brady (1979) tarafından izole bildirilmiştir.

Çekirgelerden *S. marcescens* izolasyonu ilk olarak Stevenson (1959) adlı araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Çekirge bakterileri hakkında genel bilgiler Bucher ve Stephens (1959, a, b), Hunt ve Charnley (1981), Bucher (1959, b) ve Sezginman (1973) tarafından literatürde bildirilmiştir.

Bu çalışmada *Poecilimon similis similis*'in kültüre edilebilir bakteriyal flora üyelerinin zararlı üzerindeki insektisidal aktiviteleri belirlenmiştir. *Serratia marcescens* olarak belirlenen PSS11 kodlu izolat 10 günlük inkübasyon neticesinde zararlı üzerinde %100'lük ölüm oranına sahip olmuştur. Yapılan literatür çalışmaları neticesinde daha önceki çalışmalarda *Serratia marcescens*'in çekirgeler üzerinde patojen olduğu tespit edilmiş ve çalışmalar bu bakteri üzerinde yoğunlaşmıştır (Kleespies vd., 2000).

PSS11 numaralı izolatın (*Serratia marcescens*) arazi şartlarında doz uygulamaları gerçekleştirilmiştir. *Poecilimon similis similis*'den izole edilen *Serratia marcescens* izolatının 2×10^9 , 10^9 , 10^7 ve 10^5 yoğunluklarında hazırlanan karışımının arazi şartlarında *Poecilimon similis similis* üzerine etkisi belirlenmiştir. 2×10^9 konsantrasyonda %90 ile en büyük ölüm oranı gözlemlenmiştir. 10^9 konsantrasyonda %80 oranında ölüm gözlenirken, 10^7 ve 10^5 konsantrasyonda ise %50 oranında ölüm gözlemlenmiştir.

PSS11 numaralı izolatın (*Serratia marcescens*) arazi doz uygulamaları ile laboratuvar doz uygulamalarının karşılaştırılması: Laboratuvar doz uygulamalarında 10^9 , 10^7 ve 10^5 konsantrasyonlarda 10 gün sonunda zararlının %100'ü ölürken, arazi doz uygulamalarında ise 10^9 konsantrasyonda zararlının %80'i ölürken, 10^7 ve 10^5 konsantrasyonlarda ölüm oranı %50 de kalmıştır.

Çalışma sonucunda, *Poecilimon similis similis* (Retowski, 1889) (Yeşil Çekirge, Tettigoniidae: Orthoptera) orjinli yerel bir izolat olan *Serratia marcescens*'in önemli bir Orthoptera zararlısı olan *Poecilimon similis similis* üzerinde oldukça etkili olduğu tespit edildi. Sonraki çalışmalarda bu etmenin başta *Poecilimon similis similis* olmak üzere Yeşil Çekirge (Tettigoniidae) zararlılarına karşı bir mikrobiyal mücadele etmenine dönüştürme çalışmaları yapılacaktır.

5. SONUÇLAR

Bu çalışma sonucunda, dünyada ve ülkemizde başta kültür bitkileri olmak üzere birçok tarımsal alanda ciddi zararlara yol açan *Poecilimon similis similis*'in (Retowski, 1889) (Yeşil Çekirge, Tettigoniidae: Orthoptera) kültüre edilebilir bakteriyal florası belirlendi 12 bakteri türü ile bir fungus izolasyonu yapıldı. Bakteriyal flora üyeleriNİN zararlı üzerindeki insektisidal etkileri belirlendi. Çalışmada ulaşılan sonuçlar aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- 1) *Poecilimon similis similis*'in (Retowski, 1889) (Yeşil Çekirge, Tettigoniidae: Orthoptera) nimflerinden 12 farklı bakteriyal izolat elde edildi. Bunların morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler özelliklerine göre karakterizasyonları yapıldı ve tanımlanmaları gerçekleştirildi.
- 2) Yapılan karakterizasyon çalışmaları sonucu, izole edilen bakterilerin 12'si tür ve 1'i de cins seviyesinde tanımlandı. Böylece, *S. littoralis*'in kültüre edilebilir bakteriyal florası: *Lactococcus garvieae* (PSS1), *Enterobacter sp* (PSS2), *Pseudomonas putida* (PSS3), *Citrobacter freundii* (PSS4), *Lactobacillus graminis* (PSS6), *Lactobacillus sp.* (PSS7), *Lactobacillus graminis* (PSS8), *Serratia sp.* (PSS9), *Lactococcus lactis* (PSS10), *Serratia marcescens* (PSS11), *Lactobacillus curvatus* (PSS12) olarak belirlendi.
- 3) Bakteriyal flora üyelerinden PSS11 nolu izolat %100 oranında zararlı üzerinde en yüksek ölüm etkisine sahip oldukları belirlendi.
- 4) Yapılan karakterizasyon çalışmaları sonucu, izole edilen 1 adet fungus *Beauveria bassiana* olduğu belirlendi.
- 5) PSS11 numaralı izolatın (*Serratia marcescens*) arazi şartlarında doz uygulamaları gerçekleştirilmiştir. *Poecilimon similis similis*'den izole edilen *Serratia marcescens* izolatının 2×10^9 , 10^9 , 10^7 ve 10^5 yoğunluklarında hazırlanan karışımının arazi şartlarında *Poecilimon similis similis* üzerine etkisi belirlenmiştir. 2×10^9 konsantrasyonda %90 ile en büyük ölüm oranı gözlemlenmiştir. 10^9 konsantrasyonda %80 oranında ölüm gözlenirken, 10^7 ve 10^5 %50 oranında ölüm gözlemlenmiştir.
- 6) PSS11 numaralı izolatın (*Serratia marcescens*) arazi doz uygulamaları ile laboratuvar doz uygulamalarının karşılaştırılmış. Laboratuvar doz uygulamalarında

10^9 , 10^7 ve 10^5 konsantrasyonlarda 10 gün sonunda zararlının %100' ölürken, arazi doz uygulamalarında ise 10^9 konsantrasyonda zararlının %80'i ölmüş, 10^7 ve 10^5 konsantrasyonlarda ise ölüm oranı %50 de kalmıştır.

6. ÖNERİLER

Bu çalışmada, *Poecilimon similis similis*'ten (Retowski, 1889) (Yeşil Çekirge, Tettigoniidae: Orthoptera) 12 farklı kültüre edilebilir bakteri izole edildi ve bunların zararlı üzerindeki insektisidal etkileri araştırıldı. Çalışmada ulaşılan sonuçlardan hareketle, gelecek çalışmalara yönelik olarak aşağıdaki hususlar belirlenmiştir.

- 1) Elde edilen izolatların, benzer ortam ve tarım ürünlerini kullanan başka zararlılar üzerindeki insektisidal etkileri araştırılabilir.
- 2) İnksektisidal aktivite testleri yapılırken zararlı böcek larvalarına sadece tek bir izolat uygulandı. Birden fazla izolatin etkisi aynı anda denenebilir.
- 3) Yüksek öldürücü etkiye sahip olan izolatların kararlılıkları artırılabilir.
- 4) Labaratuar koşullarında sağlanan yüksek öldürme oranı, alan uygulamalarıyla tarla koşullarında denenebilir.
- 5) Yüksek öldürücü etkiye sahip olan izolatların mikrobiyal mücadele preparatına dönüştürme çalışmaları başlatılabilir.
- 6) Farklı özelliklerdeki mikrobiyal etmenlerin (virüs, fungus, protozoa ve nematod gibi) zararlı üzerindeki etkileri belirlenebilir.
- 7) Yüksek öldürücü etkiye sahip olan bakterilerin bu aktiviteyi sağlayan özellikleri moleküler yollarla saflaştırılıp, araştırılabilir.
- 8) Öldürücü aktivitesi yüksek izolatin virülansını etkileyen biyolojik faktörler araştırılabilir.

7. KAYNAKLAR

- Abbott, W. S., 1925. A Method of Computing of Effectiveness of on Insecticide, J.Econ.Entomol., 18, 265–267.
- Agnihothrudu, V. 1988. Pyrethroids: their future and toxicity. In: PK Gupta and V. Raġivarkash (eds). Advances in toxicology and environmental health. Proc. of the VI Annual Conf. of the society of toxicology, Guwahati,65-69.
- Ainsworth, G. C., Sparrow, F. K., Sussman, A. S. (1973). The Fungi. Vol. IV A.: A taxonomic review with keys: Ascomycetes and Fungi imperfecti. Vol. IV B.: Basidiomycetes and Lower Fungi. Academic Press, New York, London.
- Albert, M. John, Khorshed Alam, Moyenul Islam, Jacqueline Montanaro, A. S. M. Hamidur Rahman, Khaleda Haider, M. Anowar Hossain, A. K. M. G. Kıbrıya, And Saul Tzipori, Hafnia Alvei, A Probable Cause Of Diarrhea İn Humans, Infection And Immunity, Apr. 1991, P. 1507-1513.
- Ali-Shtayeh, M. S., Abdel-Basit, M. ve Jamous, R., 2002. Distribution, Occurrence and Characterization of Entomopathogenic Fungi in Agricultural Soil in the Palestinian Area, Mycopathologia, 156, 235-244.
- Ando, Y., 1991. Photoperiodic control of adult diapause in a subtropical katydid, *Euconocephalus pallidus* Redtenbacher (Orthoptera: Tettigoniidae). Appl. Entomol. Zool. 26: 347-355.
- Baġcı, F., T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Kahramanmaraş Tarım İl Müdürlüğü Bitki Koruma Şubesi, 2007 , www.kahramanmarastarim.gov.tr.
- Bahar, A. A. ve Demirbag, Z., 2007. Isolation of pathogenic bacteria from *Oberea linearis* (Coleoptera: Cerambycidae). Biologia, Bratislava, 62,1, 13-18.
- Balamir, S., 1956. Zararlı çekirgeler ve mücadele metotları, Ziraat Vek. Zir. Müc. Enst. Müd. sayı 10, 50 s. Ankara.
- Bell, J. V., 1969. *Serratia marcescens* Found in Eggs of *Heliothis zea*: Tests Against *Trichoplusia ni.*, J. Invertebr. Pathol., 13, 151-152.
- Benois, K. A. (1929). Fungal diseases of locusts. (Summary of literature and Report) (Mycol. and Phytopath. Lab. A. A. Jaczewsky) Leningrad, 49 pp. 18 figs. (1928) (Orig. russ.). Ref.:RAM 8, 379-380.
- Berthier., F., and Ehrlich D. S., Genetic diversity within *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus curvatus* and design of PCR primers for its detection using randomly amplified polymorphic DNA, International Journal of Systematic Bacteriology 49, 997-1 007, 1999.

- Bodine, J. H., Physiology Of The Orthoptera. Hydrogen Ion Concentration of the Blood and Alimentary Tract of Certain Orthoptera (Grasshoppers). Zoological Laboratory, University of Pennsylvania, Biological Bulletin, Vol. XLVIII. No.2, 1925.
- Bomar, C. R.; Lockwood, J. A.; Nunamaker, R. A., Grasshopper (Orthoptera: Acrididae) Midgut pH in Relation to Development, Starvation, and Species: Implications of a New, Fast-Freezing Methodology, Annals of the Entomological Society of America, Volume 84, Number 6, November 1991 , pp. 596-600(5)
- Boursaux-Eude, C., ve Gross, R., 2000. New insights into symbiotic associations between ants and bacteria, Res. Microbiol., 151, 513–519.
- Bradbury, S., P. Goel, R. Coats, and I. M. McKim. 1985. Differential toxicity and uptake of 2-fenvalerate for mutation in fathead minnows (*Pimephales promelas*). Environ. Toxicol. Chem. 4: 533-542.
- Brady, B. L. K. (1979). *Beauveria brongniartii*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, No. 603.
- Bruner, L. (1902). Killing destructive locusts with fungus diseases. U.S. Dept. Agr. Bur. Entomol. Bull. 38, 50-61.
- Bucher, G. E. & Stephens, J. M. (1959 b). Bacteria of grasshoppers of Western Canada: II. The Pseudomonadaceae, Achromobacteriaceae, Micrococcaceae, Brevibacteriaceae, Lactobacillaceae and less important families. J. Inv. Path. 1, 374-390.
- Bucher, G. E. (1959 a). The bacterium *Coccobacillus acridiorum* d'Herelle: its taxonomic position and status as a pathogen of locusts and grasshoppers. J. Inv. Path. 1, 331-346.
- Bucher, G. E. (1959 b). Bacteria of grasshoppers of Western Canada: III. Frequency of occurrence, pathogenicity. J. Inv. Path. 1, 391-405.
- Bucher, G. E., 1981. Identification of Bacteria Found in Insects, In: "Microbial Control of Pests and Plant Diseases, 1970-1980" (Burgess H. D., Ed.), Academic Press, New York, 7-33.
- Canning, E. U. (1953). A new microsporidian, *Nosema locustae* n. sp., from the fat body of the African migratory locust *Locusta migratoria migratorioides* R. and F. Parasitology 43, 287-290.
- Cappuccino, J. G. ve Sherran, N., 1992. Microbiology, a Laboratory Manual, Third Edition, Rockland Community College, Suffern, New York.
- Chapman, R. F.; Page, W. W. & McCaffery, A. R. (1986). Bionomics of the variegated grasshopper (*Zonocerus variegatus*) in West and Central Africa. Ann. Rev. Entomol. 31, 479-505.

- Chen CH, Hsiu RH, Liu CE, Young TG. *Pseudomonas putida* bacteremia due to soft tissue infection contracted in a flooded area of central Taiwan: a case report. J Microbiol Immunol Infect 2005;38:293-5.
- Chen CH, Hsiu RH, Liu CE, Young TG. *Pseudomonas putida* bacteremia due to soft tissue infection contracted in a flooded area of central Taiwan: a case report. J Microbiol Immunol Infect 2005;38:293-5.
- Colgan, D. J. (1986). Studies of the mortality of *Locusta migratoria* (L.) treated with a polyhedrosis virus from the grasshopper *Caledia captiva* (F.) (Orthoptera: Acrididae). Bull. Entomol. Res. 76, 539-544.
- Çağırğan, H., 2004. Biotyping of *Lactococcus garvieae* Isolated from Turkey, E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences, Cilt/Volume 21, Sayı/Issue (3-4): 267–269.
- Çanakçıoğlu, H., 1993. Böceklerin Toplanma-Preparasyon Muhafaza ve Teshisi. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları. İ.Ü. Yayın No: 3768, Or. Fak. Yayın No: 422. İstanbul. 616 s.
- Çıplak, B., Demirsoy, A., 1996. Caelifera (Orthoptera, Insecta) Alttakımının Türkiye' deki Endemizm Durumu. Turkish Journal of Zoology, Vol. 20, No. 3. 241-246.
- Çıplak, B., Demirsoy, A., Bozcuk, A., N., 1996. Malatya (Türkiye) Ensifera (Orthoptera, Insecta) Faunası. Turkish Journal of Zoology, Vol. 20, No. 3. 247-254.
- Çıplak, B., 2003. Distribution of Tettigoniinae (Orthoptera, Tettigoniidae) bush-crickets in Turkey: the importance of the Anatolian Taurus Mountains in biodiversity and implications for conservation. Biodiversity and Conservation 12: 47–64.
- David, B. V., and L. Somasundaram. 1985. Synthetic pyrethroids – an evaluation of their potential effects on non-target organisms. Pesticides, 19:9-12.
- Demir, İ., Sezen, K., Beldüz, A. O. ve Demirbağ, Z., 2001. Current Study on the Bacterial Isolates of Two Hazelnut Pests, Proceedings of the 1st Eurasian Congress on Molecular Biotechnology, Ocak, Trabzon, 117-121.
- Demirbağ, Z., Nalçacıoğlu, R., Katı, H., Demir, İ., Sezen, K., Ertürk, Ö., Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele, Trabzon, 2008.
- Demirsoy, A., 1975. Erzurum Bölgesi Orthoptera (Insecta) Faunasının Tesbiti ve Taksonomik İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi Yayınları No. 347, Fen Fakültesi Yayınları No. 39, Arastırma Serisi No. 35. 122 s.
- Demirsoy, A., 1992. Yaşamın Temel Kuralları: Omurgasızlar/Böcekler, Entomolji. Cilt II/Kısım II 3. Baskı. Meteksan A.S. Maltepe, Ankara.
- Demirsoy, A., 1999. Yaşamın Temel Kuralları: Entomoloji. Cilt-II/Kısım-II. Meteksan A.S. Maltepe, Ankara.

- Deniz, İ. 1993, <http://www.sizinti.com.tr/konular/ayrinti/cekirge-acilik-ve-ekolojik-denge-arasinda-insan.html>.
- Domenech, A. J. Prieta, J. F. Ferná'ndez-Garayza'bal, M. D. Collins, D. Jones, L. Domý'nguez. 1993. Phenotypic and phylogenetic evidence for a close relationship between *Lactococcus garvieae* and *Enterococcus seriolicida*. *Microbiologia* 9: 63–68.
- Eades, D. C. and Otte, D. Orthoptera Species File Online. Version 2.0/3.4. Available from: <http://Orthoptera.SpeciesFile.org> (August, 2008).
- Ecevit, O., Genel ve Tarla Zararlıları, 2007, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı No:59.
- Eldar, A., M. Gloria, C. Ghittino, A. Zlotkin, H. Bercovier. 1999. Biodiversity of *Lactococcus garvieae* strains isolated from fish in Europe, Asia, and Australia. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 1005–1008.
- Farrow, R. A. (1989). Prospects for biological control of Desert Locust, *Schistocerca gregaria*. CSIRO Div. Entomol, Canberra, Australia, pp. 6.
- Farrow, R. A. (1990). Methods for assessment of environmental impacts of alternative control agents. Workshop on Health and Environmental Impact of Alternative Control Agents for Desert Locust Control. Oslo, Norway. 14.-17. January, pp. 55-65.
- Fresenius, G. (1856). Notiz, Insekten-Pilze betreffend. *Bot. Zeitung Berlin* 14, 882-883.
- Ghosh, T. K., and S. K. Chatterjee. 1987. Toxic effects of fenvelerate on *Anabus testudineus* biochemical study. *Adv. Bios.*, 7 : 203–208.
- Greathead, D. J. & Prior, C. (1990). The regulations of pathogens for biological control with special reference to locust control. Workshop on Health and Environmental Impact of Alternative Control Agents for Desert Locust control. Oslo, Norway. 14.-17. January, pp. 67-80.
- Gümüssuyu, __, 1981. Orta Anadolu Bölgesinde Bulunan Gryllidae (Orthoptera) Türlerinin Biyolojik Gözlemleri ve Habitat Özellikleri Üzerinde Arastirmalar. *Bitki Koruma Bülteni*. Cilt:21, No:1. 18-39.
- Gwynne, D. T., 2001. *Katydid and Bush-Crickets: Reproductive behaviour and evolution of the Tettigoniidae*. Comstock Publishing Associates. Cornell University Press, Ithaca and London. pp. 317.
- Haiwen, Li., Freder, M., S., Bradleigh, V. ve Craig, J., 2005. Coates Isolation, characterization, and molecular identification of bacteria from the red imported fire ant (*Solenopsis invicta*) midgut, *Journal of Invertebrate Pathology.*, 89, 203-209.

- Heller, K.-G., 1995. Acoustic signaling in paleotropical bush-crickets (Orthoptera: Tettigoniidae, Pseudophyllidae): Does predation pressure by eavesdropping enemies differ in the paleotropics and neotropics? *J. Zool.* 237: 469-485.
- Henry, J. E. & Jutila, J. W. (1966). The isolation of polyhedrosis virus from a grasshopper. *J. Inv. Path.* 8, 417-418.
- Henry, J. E. (1977). Development of microbial agents for the control of Acrididae. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 36, 125-134.
- Howard, L. O. (1901). Experimental work with fungus diseases of grasshoppers. U.S. Dept. Agr. Yearbook pp. 459-470.
- Huang, H., Zhu, E.L., 2001. Population dynamic and control of locusts and grasshoppers in China. *China Nat.* 5, 29-30.
- Hunt, J. & Charnley, A. K. (1981). Abundance and distribution of the gut flora of the desert locust *Schistocerca gregaria*. *J. Inv. Path.* 38(3), 378-385.
- Ihara, F., Yaginuma, K., Kobayashi, N., Mishiro, K. ve Sato, T., 2001. Screening of Entomopathogenic Fungi against the Brown-Winged Green Bug, *Plautia stali* Scott (Hemiptera: Pentatomidae), *Appl. Entomol. Zool.*, 36, 4, 495-500.
- Ince, I. A., Katı, H., Yılmaz, H., Demir, İ. ve Demirbağ, Z., 2008. Isolation and identification of bacteria from *Thaumetopoea pityocampa* Den. and Schiff. (Lep., Thaumetopoeidae) and determination of their biocontrol potential. *World J Microbiol Biotechnol.*, 24, 3005-13015.
- Ingrish, S., 1984. The influence of environmental factors on dormancy and duration of egg development in *Metrioptera roeseli* (Orthoptera: Tettigoniidae). *Oecologia* 61: 254-258.
- Jackson, T. A., Boucias, D. G. ve Thaler, J. O., 2001. Pathobiology of Amber Disease, Caused by *Serratia spp.*, in the New Zealand Grass Grub, *Costelytra zealandica*, *J. Invertebr. Pathol.*, 78, 232-243.
- Jago, N.D. 1997. Crop-centred integrated pest management in grasshoppers and other Orthoptera. In *The Bionomics of Grasshoppers, Katydid and their Kin*, ed. by S. K. Gangwere, M. C. Mulalirangen and M. Muralirangen, Oxford, CAB International. Pp. 443-480.
- Jeyaprakash, A., Hoy, M. A. ve Allsopp, M. H., 2003. Bacterial Diversity in Worker Adults of *Apis mellifera capensis* and *Apis mellifera scutellata* (Insecta: Hymenoptera) Assessed Using 16S rRNA Sequences, *J. Invert. Pathol.*, 84, 96-103.
- Jutila, J. W.; Henry, J. E.; Anacker, R. L. & Browne W. R. (1970). Some properties of a crystalline-array virus (CAV) isolated from the grasshopper *Melanoplus bivittatus* (Say) (Orthoptera: Acrididae). *J. Inv. Path.* 15, 225-231.

- Kandler, O. & Weiss, N. (1986). Regular, nonsporing grampositive rods. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 2, pp. 1208-1234. Edited by J. G. Holt & P. H. A. Sneath. Baltimore : Williams & Wilkins.
- Karabag, T., Balamir, S., Gümüssuyu, İ., Tutkun, E., 1971. Türkiye Orthoptera Faunasının Tesbiti Üzerinde Arastirmalar . Bitki Koruma Bülteni. Cilt:11, No:2. 73-100.
- Karabag, T., Balamir, S., Gümüssuyu, İ., Tutkun, E., 1974. Türkiye Orthoptera Faunasının Tesbiti Üzerinde Arastirmalar (II). Bitki Koruma Bülteni. Cilt:14, No:1. 3-18.
- Karabag, T., Gümüssuyu, İ., Tutkun, E., 1980. Türkiye Orthoptera Faunasının Tesbiti Üzerinde Arastirmalar (III). Bitki Koruma Bülteni. Cilt:20, No:1-4. 1-25.
- Kleespies, R. G.; Tidona, C. A., Darai, G. (1999). Characterization of a new iridovirus isolated from crickets and investigations on the host range. J. Inv. Path. 73, 84-90.
- Kleespies, R.G., Huger, A.M., Stephan, D., (2000). Diagnosis and pathology of diseases from locusts and other orthopterans. GTZ (Eschborn, Germany) and BBA (Darmstadt, Germany), 43 pp.
- Klein, M. G. ve Kaya H. K., 1995. *Bacillus* and *Serretia* Species for Scarab control, Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 90, 87-95.
- Kovancı, B., Gencer, N., S., Kovancı, O., B., Akgül, H., C., 2003. Bursa İli Çilek Alanlarında Bulunan Orthoptera Türleri. Uludag Üniv. Zir. Fak. Derg., 17(2): 91-102
- Krieg, A., 1987. Diseases Caused by Bacteria and Other Prokaryotes, In "Epizootiology of Insect Diseases" (Fuxa, J. R. ve Tanada, Y., Eds.), 323-355, J. Wiley, New York.
- Kuzina, L. V., Peloquin, J. J., Vacek, D. C. ve Miller, T. A., 2001. Isolation and Identification of Bacteria Associated with Adult Laboratory Mexican Fruit Flies, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae), Curr. Microbiol., 42, 290-294.
- Kuzina, L. V., Peloquin, J. J., Vacek, D. C. ve Miller, T. A., 2001. Isolation and Identification of Bacteria Associated with Adult Laboratory Mexican Fruit Flies, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae), Curr. Microbiol., 42, 290-294.
- Latchininsky, A., 2001. Problems and progress emerge from the acridid outbreak in Kazakhstan. Adv. Appl. Acrid., 15-16.
- Laupland, B.,K., Church L., D., Ross T., and Pitout DD., J., Population-based laboratory surveillance of *Hafnia alvei* isolates in a large Canadian health region, *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 5:12, 2006.
- Lepesme, P., 1937. Sur la Presence du *Bacillus prodigious* chez le Criquet Pelerin (*Schistocerca gregaria* Forsk), Bul. Soc. Hist. Aft. N., 28, 406-411.

- Lipa, J. J. ve Wiland, E., 1972. Bacteria Isolated from Cutworms and their Infectivity to *Agrotis sp.*, *Acta Microbiologica, Polonica, Series B* 4, 127-140.
- Lodos, N. 1983. Türkiye'nin Entomolojisi I (Genel Uygulamalı ve Faunistik). E.Ü.Zir.Fak.Yayınları No. 282, İzmir, 364 s.
- Martinez, A. J., Robacker, D. C., Garcia, J. A. ve Esau, K. L., 1994. Laboratory and Field Olfactory Attraction of the Mexican Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) to Metabolites of Bacterial Species, *Florida Entomologist*, 77, 1, 117-126.
- Martinez, A. J., Robacker, D. C., Garcia, J. A. ve Esau, K. L., 1994. Laboratory and Field Olfactory Attraction of the Mexican Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) to Metabolites of Bacterial Species, *Florida Entomologist*, 77, 1, 117-126.
- Mbata, K. J., 1992. The biology and host plant specificity of *Acanthoplus speiseri* Brancsik (Orthoptera: Tettigoniidae, Hetrodinae), a pest of grain crops. *J. Entomol. Soc. S. Afr.* 55: 99-106.
- McLaughlin, R. E. ve Keller, J. C., 1964. Antibiotic Control of an Epizootic Caused by *Serratia marcescens* Bizio in the Boll Weevil, *Anthonomus grandis* Boheman, *J. Insect Pathol.*, 6, 481-185.
- Mert, Ş., Fırtına Vadisi'ndeki *Poecilimon similis* Retowski, 1889 (Orthoptera: Tettigoniidae)'in Yerel Populasyonları Üzerinde Moleküler Ekolojik Araştırmalar, Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 2008.
- Meynadier, G.; Amargier, A.; Gierardie, J. & Vago, C. (1992). Une entomopoxvirose chez l'orthoptère *Anacridium aegyptium*. *Entomophaga* 37, 453-464.
- Milner, R. J. (1978). On the occurrence of *Entomophaga grylli*, a fungal pathogen of grasshoppers in Australia. *J. Austral. Entomol. Soc.* 17, 293-296.
- Nickle, D. A. and Castner, J. L., 1995. strategies utilized by katydids (Orthoptera: Tettigoniidae) against diurnal predators in rainforests of northeast Peru. *J. Orthop. Res.* 4: 75-88.
- O'Callaghan, M. ve Jackson, T. A., 1993. Isolation and Enumeration of *Serratia entomophila*, a Bacterial Pathogen of the New Zealand Grass Grub, *Costelytra zealandica*, *J. Appl. Bacteriol.*, 75, 307-314.
- Oğurlu, İ., 2000. Biyolojik Mücadele, Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları, No:8 (1. Baskı) Isparta, 98-101s.
- Osborn F, Berlioz L, Vitelli-Flores J, Monsalve W, Dorta B, Lemoine VR (2002) Pathogenic effects of bacteria isolated from larvae of *Hylesia metabus* Crammer (Lepidoptera: Saturniidae). *J Invertebr Pathol* 80:7-12. Doi:10.1016/S0022-2011(02) 00037-X

- Otte, D., 1997. Orthoptera species file. 7. Tettigoniidae. Academy of Natural Science, Philadelphia.
- Özbek, H. 1989. Böceklerde göç ve Çölçekirgesi, Hasad, 4(46): 7-12.
- Özbek, H., Yıldırım, E., 1994. Şenkaya (Erzurum) Yaylasında Salgın Yapan Çayır Çekirgeleri (Tettioniidaerorthoptera), Ekoloji Dergisi, Sayı: 11.
- Özkan, F., Spodoptera Littoralis'in Kültüre Edilebilir Bakteriyal Florasının Belirlenmesi ve Bakteriyal Mücadele Etmeninin Araştırılması, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 2011.
- Park, K., Matsuoka S., Nakail, T., Muroga, K., A virulent bacteriophage of *Lactococcus garvieae* (formerly *Enterococcus seriolicida*) isolated from yellowtail *Seriola*
- Purrini, K.; Kohring, G. W. & Seguni, Z. (1988). Studies on a new disease in a natural population of migratory locusts, *Locusta migratoria*, caused by an entomopox virus. J. Inv. Path. 51, 284-286.
- Quesada-Moraga, E. ve Vey, A., 2003. Intra-specific Variation in Virulence and In Vitro Production of Macromolecular Toxins Active Against Locust among *Beauveria bassiana* Strains and Effects of In Vivo and In Vitro Passage on These Factors, Biocont. Sci. Technol., 13, 323-340.
- Reinhold, K., 1998. Light effects on larval hatching in the bush-cricket species *Poecilimon veluchianus* (Orthoptera: Phaneropterinae). Entomol. Gener. 22: 205-209.
- Roffey, J. (1968). The occurrence of the fungus *Entomophthora grylli* Fresenius on locusts and grasshoppers in Thailand. J. Inv. Path. 11, 237-241.
- Sacchi, C. T., Whitney, A.M., Mayer, L. W., Morey, R., Steigerwalt, A., Boras, A., Weyant, R.S. ve Popovic, T., 2002. Sequencing of 16S rRNA gene: a rapid tool for identification of *Bacillus anthracis*, Emerg. Infect. Dis., 8, 1117-1123.
- Sağlam, K., İ., *Isophya rizeensis* Sevgili, (Orthoptera: Tettigoniidae)'de Yüksekliğe Bağlı Ekolojik Yayılış ve Renk Polimorfizmi Üzerinde Araştırmalar, Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Anabilimdalı Bilim Uzmanlığı Tezi, 2004.
- Salman, S., 1978. Ağrı Kars ve Artvin illerinin Orthoptera (Insecta) faunası üzerine taksonomik araştırmalar. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi Basımevi-Erzurum, 184s.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F. ve Maniatis, T., 1989. Molecular Cloning - A Laboratory Manual, Baskı: 2, Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York.
- Scanlan, J.C., Grant, W.E., Hunter, D.M., Milner, R.J., 2001. Habitat and environmental factors influencing the control of migratory locusts (*Locusta migratoria*) with an entomopathogenic fungus (*Metarhizium anisopliae*). Ecol. Model 136, 223-236.

- Sevim, A., Doğu Karadeniz Bölgesi'nden Entomopatojenik Fungusların İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Virülanslarının Belirlenmesi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2010.
- Sezen, K. ve Demirbağ, Z., 1999. Isolation and Insecticidal Activity of Some Bacteria from the Hazelnut Beetle (*Balaninus nucum* L.), Appl. Entomol. Zool., 34, 85-89.
- Sezen, K., Demir, İ. ve Demirbağ, Z., 2004. Studies of the bacterial flora as a biological control agent of the Agelastica alni L. (Coleoptera: Chrysomelidae), Biologia, 2004, 59, 3, 327-331.
- Sezen, K., Demir, İ. ve Demirbağ, Z., 2007. Identification and pathogenicity of entomopathogenic bacteria from common cockchafer, *Melolontha melolontha* L. (Col., Scarabaeidae), New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 35, 79-85.
- Sezen, K., Demir, İ., Katı, H. and Demirbağ, Z., 2005. Investigations on bacteria as a potential biological control agent of summer chafer, *Amphimallon solstitiale* L. (Coleoptera: Scarabaeidae), Journal of Microbiology, 43, 5, 463-468.
- Sezginman, N. (1973). Researches on the identification of the intestinal bacterial flora of *Locusta migratoria migratorioides* R. and F. (Orthoptera: Acrididae) and the pathogenicity of some of these Bacteria for this species. Commun. Fac. Sci. Univ. Ankara. Sér. C. 16, 55-98.
- Sharma, J., and Fulekar, MH., Potential of *Citrobacter freundii* for bioaccumulation of heavy metal – copper, Biology and Medicine, Vol 1 (3): 7-14, 2009.
- Showler, A.T., 1995. Locust (Orthoptera: Acrididae) outbreaks in Africa and Asia, 1992–1994: on the overview. Am. Entomol. 41, 179–185.
- ShuJuan, H., Ming, C., ZhongMing, M., ShiGui, W., XiaoMei, M., Effects of pH on the digestive protease activity in the midgut of locust *Catantops pinguis* (Stål) (Orthoptera: Catantopidae), Acta Entomologica Sinica 2009 Vol. 52 No. 3 pp. 254-260
- Sikorowski, P. P., Nebeker, T. E., Lawrence, A. M. ve Price, T. S., 1985. Virus and Virus-Like Particle Found in Southern Pine Beetle Adults in Mississippi and Georgia, Eastern Forests USDA Miscellaneous, 675, Entomol. Soc., 15, 235-241.
- Sneath, A. P., 1968. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2, Sneath, A. P., Mair, N. S., Sharge, M. S. ve Holt, J. G., Williams and Wilkins, Baltimore.
- Soper, R. S.; May, B. & Martinell, B. (1983). Entomophaga grylli enzyme polymorphism as a technique for pathotype identification. Environ. Entomol. 12, 720-723.
- Steinhaus, E. A. (1949). Principles of insect pathology. New York: McGraw Hill, 757 pp.

- Steinhaus, E. A. ve Marsh, G. A., 1962. Report of Diagnosis of Diseased Insects, 1951-1961, Hilgardia, 33, 349.
- Steinhaus, E. A., 1951. Possible Use of *Bacillus thuringiensis* Berliner as an aid in the Biological Control of the Alfalfa Caterpillar, Hilgardia, 20, 359.
- Steinhaus, E. A., 1959. *Serratia marcescens* Bizio as an Insect Pathogen, Hilgardia, 28, 351-380.
- Stevenson, J. P. (1954). An epizootic among laboratory stocks of the desert locust, *Schistocerca gregaria*. Nature 174, 222.
- Stevenson, J. P. (1959). Epizootiology of a disease of the desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forskål) caused by a non-chromogenic strain of *Serratia marcescens* Bizio. J. Inv. Path. 1, 232-244.
- Streett, D. A. & Henry, J. E. (1990). Microbial control of locusts and grasshoppers in the semiarid tropics. Bol. San. Veg. Plagas (Fuera De Serie) 20, 21-27.
- Streett, D. A. & McGuire, M. R. (1990). Pathogenic diseases of grasshoppers. In Biology of Grasshoppers (ed. Chapman, R. F. & Joern, A.). New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore: John Wiley & Sons, pp. 483-516.
- Streett, D. A. (1986). Future prospects for microbial control of grasshoppers. In Integrated Pest Management on Rangeland: A Shortgrass Prairie Perspective (ed. Capinera, J. L.). Boulder, Colorado: Westview Press, pp. 205-218.
- Teixeira, L. M., V. L. C. Merquior, M. C. E. Vianni, M. G. S. Carvalho, S. E. L. Fracalanza, A. G. Steigerwalt, D. J. Brenner, R. R. Facklam, 1996. Phenotypic and genotypic characterization of atypical *Lactococcus garvieae* strains isolated from water buffalos with subclinical mastitis and confirmation of *L. garvieae* as a senior subjective synonym of *Enterococcus seriolicida*. Int. J. Syst. Bacteriol. 46: 664-668.
- Trabut, L. (1891). Les champignons parasites du criquet pèlerin. *Rev. Gen. Bot.* 3, 401-405.
- Treherne, R. C. & Buckell, E. R. (1949). Grasshoppers of British Columbia. Bull. Domest. Canad. Dept. Agric. 39, 1-47.
- URL-1, <http://www.odu.edu.tr/Gorevli/tr/index.php?id=OA234>

URL-2,

http://www.google.com.tr/imgres?imgurl=http://www.karmabilgi.net/images/baskal asim-cekirge.jpg&imgrefurl=http://www.karmabilgi.net/hayvanlarda-ureme buyume-ve-gelisme/&usg=y0PwkY2wpK0Wxmg0U33FO1aGDOo=&h=259&w=400&sz=44&hl=tr&start=713&zoom=1&tbnid=SwR4RJsfkTk4ZM:&tbnh=80&tbnw=124&ei=508ITuziBI6p8AOhl8XFDQ&prev=/search%3Fq%3D%25C3%25A7ekirge%26start%3D240%26hl%3Dtr%26sa%3DN%26biw%3D1366%26bih%3D665%26output%3Dimages_json%26tbn%3Disch&chk=sbg&itbs=1&biw=1366&bih=665.

URL3, http://www.google.com.tr/imgres?imgurl=http://rydberg.biology.colostate.edu/Dissections/Grasshopper/GHint2.jpg&imgrefurl=http://rydberg.biology.colostate.edu/Dissections/grassint2.htm&usg=__D95zYsYc96BD0kHDayAqDTod34I=&h=633&w=845&sz=49&hl=tr&start=293&tbnid=o0M1b5JRwGHFHM:&tbnh=131&tbnw=162&prev=/images%3Fq%3Dbiology%2Bof%2Bgrasshoppers%26um%3D1%26hl%3Dtr%26sa%3DN%26biw%3D1419%26bih%3D735%26tbs%3Disch:10%2C6367&um=1&itbs=1&iact=hc&vpx=467&vpy=380&dur=254&hovh=194&hovw=259&tx=142&ty=117&ei=6nheTOmOpC6OILbsL0J&oei=JXZeTJamM9OSjAfq8KnxAw&esq=5&page=11&ndsp=30&ved=1t:429,r:25,s:293&biw=1419&bih=735

URL4, http://www.google.com.tr/imgres?imgurl=http://www.vtaide.com/png/images/grasshopper.jpg&imgrefurl=http://www.vtaide.com/png/grasshopper.htm&usg=__EDX2n6kCyAzKvB0ODSuPBh02y0s=&h=405&w=553&sz=36&hl=tr&start=16&zoom=1&tbnid=kn62AUMOeMVSM:&tbnh=97&tbnw=133&ei=hVkiITsqQLcTws gaihcjSDA&prev=/search%3Fq%3D%25C3%25A7ekirge%26um%3D1%26hl%3Dtr%26client%3Dfirefox%26rls%3Dorg.mozilla:tr:official%26channel%3Dnp%26biw%3D1366%26bih%3D665%26tbn%3Disch&um=1&itbs=1&biw=1366&bih=665.

URL-5, <http://esask.uregina.ca/entry/grasshoppers.html>.

URL-6, <http://blog.mycology.cornell.edu/?p=110>.

URL-7, <http://www.odu.edu.tr/Gorevli/tr/index.php?id=OA234>.

URL-8, <http://www.biolib.cz/cz/taxon/id106>.

URL-9, <http://www.biology.duke.edu/fungi/mycolab/primers.htm>

URL-10, <http://www.orkoop.org.tr/uploads/files/TÜRKİYEDE TARIM SEKTÖRÜ.doc>

URL-11, www.zmmae.gov.tr/rehber/yesil_cekirgeler.pdf

Uvarov, B. P. (1966). Grasshoppers and Locusts: A Handbook of General Acridology, Vol. 1, Cambridge: University Press.

- Uvarov, B.P., 1932. Ecological studies on the marrocan logust in Western Anatolia. Bull. Ent. Res., 23: 273-287.
- Uvarov, B. P. (1977). Grasshoppers and Locusts: A Handbook of General Acridology, Vol. 2. London: Centre for Overseas Pest Research.
- Ünal, M. 2003. Checklist of the Turkish Orthoptera. <http://www.members.tripod.com/Cesa88/orthtr.htm>
- Vanninen, I. ve Husberg, G., B., 1989. Occurence of Entomopathogenic Fungi and Entomoparasitic Nematodes in Cultivated Soils in Finland, Entomologica Fennica, 53, 65-71.
- Wright, D.E., 1986. Economic assessment of actual and potential damage to crops caused by the 1984 locust plague in south-eastern Australia. J. Environ. Manage 23, 293–308.
- Yılmaz, I., *Poecilimon cervus* Karabag, 1950 (orthoptera: Tettigoniidae) Yumurta yapısı ve Ultrastrüktürel özellikleri, Gazi Üniversitesi, Biyoloji Anabilimdalı Yüksek Lisans Tezi, 2010.
- Zelazny, B.; Zimmermann, G.; Kleespies, R.; Huger, A. M. & Keller, B. (1990). Biologische Heuschreckenbekämpfung. BBA-Jahresber. p. 73.
- Zelazny, B.; Kleespies, R.; Zimmermann, G.; Welling, M.; Keller, B. & Huger, A. M. (1991). Suche nach geeigneten Krankheitserregern zur biologischen Heuschreckenbekämpfung. BBA-Jahresber. p. 92.
- Zelazny, B., Goettel, M. S. & Keller, B. (1997). The potential of bacteria for microbial control of grasshoppers and locusts In Microbial Control of Grasshoppers and Locusts (ed. Goettel, M. S. & Johnson, D. J.). Memoirs of the Entomological Society of Canada 171, 147-156.
- Zimmermann, G., 2007a. Review on Safety of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*, Biocont. Sci. Technol., 17, 553-596.

8. EKLER

Ek 1. Besiyeri, Ayıraç ve Boyaların Hazırlanışı

Ek 1. 1. Besiyerlerinin Hazırlanışı

Nişasta Agar: 1g patates nişastası 10 ml soğuk ddH₂O'da çözülüp 100 ml nütrient agarla karıştırıldı ve otoklavlanarak steril edildi.

Nütrient Agar (NA): 5 g pepton, 3 g beef extract, 15 g agar 1000 ml ddH₂O'da çözüldü; otoklavlanarak steril edildi. Çalışmada ayrıca ticari olarak satılan nütrient agar da kullanıldı.

Nütrient Broth (NB): 5 g pepton, 3 g beef extract, 1 g potasyum nitrat 1000 ml ddH₂O'da çözüldü; pH'ı 7,0'a ayarlanarak otoklavda steril edildi.

Sabouraud Dextroz Agar: 10 g pepton, 40 g dextroz, 15 g agar 1000 ml ddH₂O'da

Tryptic Soy Agar (TSA): 40 g hazır besiyer 1000 ml ddH₂O'da çözüldü; otoklavlanarak steril edildi.

Ek 1. 2. Ayıraçlar ve Boyaların Hazırlanışı

Aseton Alkol: 250 ml % 95'lik etanol ve 250 ml saf aseton karıştırılarak hazırlandı.

Bakır Sülfat (CuSO₄) Solüsyonu: 20 g bakır sülfat (CuSO₄.5H₂O) 80 ml suda çözümlenerek hazırlandı.

Dimetil- α -Naftilamin: 5 g α -naftilamin 1000 ml ve 5 N'lik asetik asitte çözümlenerek hazırlandı.

Gram İyodu: 1 g iyot ve 2 g potasyum iyodür (KI) 5 ml ddH₂O'da çözüldü; üzerine 250 ml ddH₂O ve 60 ml % 5'lik sodyum bikarbonat (NaHCO₃) ilave edildi.

Katalaz Ayıracı: Ayıraç olarak % 10'luk hidrojen peroksit (H₂O₂) çözeltisi kullanıldı.

Kovak Kimyasalı: 5 g p-dimetilaminobenzaldehid 75 ml amilalkolde çözüldü ve 25 ml HCl ilave edildi.

Kristal Viyole Boyası: Bu boya iki ayrı solüsyon olarak hazırlanıp ardından ikisi birbirine karıştırıldı: 1) 1 g kristal viyole, 10 ml etanol, 90 ml distile su ile karıştırıldı. 2) 4 g amonyum oksalat ve 400 ml ddH₂O karıştırıldı. Bu iki solüsyon daha sonra birbirine karıştırılarak kullanıldı.

Malaşit Yeşili: 5 g malaşit yeşili 100 ml ddH₂O'da çözüldü; süzgeç kağıdı yardımıyla süzülerek kullanıldı.

Oksidaz Ayıracı: 6% tetrametilfenilendiamin hidroklorit, dimetil sulfoksit çözeltilisinde hazırlanır.

Safranin: 2,5 g safranin O, 100 ml %95'lik etanol ve 500 ml ddH₂O karıştırılarak hazırlandı.

Sülfanilik Asit: 8 g sülfalilik asit 1000 ml ve 5 N'lik asetik asit (1 kısım asetik asit: 2,5 kısım distil su) içinde çözümlenerek hazırlandı.

Vogus-Proskauer-I Ayıracı: 5 g α -naftol 100 ml'den az absolute alkolde çözüldü ve 100 ml'ye tamamlanıp 5 °C'de muhafaza edildi.

Vogus-Proskauer-II Ayıracı: 40 g KOH hızlı bir şekilde 100 ml'den az ddH₂O'da çözüldü; soğutuldu ve ddH₂O ile 100 ml'ye tamamlandı; hazırlandıktan 7-8 saat sonra kullanıldı.

Ek 2. Mc FARLAND Standart Solusyonları

Mc Farland Standardları bakterilerin özelliklerini tespit etmek amacıyla panel test sistemlerine yapılacak olan ekimlerde bir birim olarak kullanılır. Mililitredeki koloni oluşturabilecek bakteri sayısını verir. (CFU: Koloni oluşturabilen birim)

0,5 Mc Farland Standardı içeriği yaklaşık olarak 1×10^7 ila 1×10^8 CFU/ml dir.

Barium Chloride, 0,048M solution	0,5 ml
Sulfuric Acid, 0,18M solution	99,5 ml
O.D at 625nm	0,08-0,1

1,0 Mc Farland Standardı içeriği

Barium Chloride, 0,048M solution	1,0 ml
Sulfuric Acid, 0,18M solution	99,0 ml

O.D. at 625nm 0,16-0,2

2,0 Mc Farland Standardı içeriği

Barium Chloride, 0,048M solution 2,0 ml
Sulfuric Acid, 0,18M solution 98,0 ml
O.D. at 625 nm 0,32-0,4

3,0 Mc Farland Standardı içeriği

Barium Chloride, 0,048M solution 3,0 ml
Sulfuric Acid, 0,18M solution 97,0 ml
O.D. at 625 nm 0,48-0,6

4,0 Mc Farland Standardı içeriği

Barium Chloride, 0,048M solution 4,0 ml
Sulfuric Acid, 0,18M solution 96,0 ml
O.D. at 625 nm 0,64-0,8

5,0 Mc Farland Standardı içeriği

Barium Chloride, 0,048M solution 5,0 ml
Sulfuric Acid, 0,18M solution 95,0 ml
O.D. at 625 nm 0,8-1,0

Ek 3. Elde Edilen İzolatların 16S rRNA Gen Sıraları

1 Numaralı İzolattan Elde Edilen 16S rRNA Geninin Baz Sırası;

TACGTATTCACCGACGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACT
TCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAACTGAGAATGGTTTTAAGAGAT
TAGCGCACCCCTCGCGGGTTGGCGACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTG
TAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGG
TTTATCACCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAGTAAT
AAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGAC
GACAACCATGCACCACCTGTATCCCGTGTCCCGAAGGAACTCCTTATCTCTAA

GGATAGCACGAGTATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATT
AAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAA
CCTTGCGGTCGTACTIONCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCGCTACAG
AGAACTTATAGCTCCCTACAGCTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCA
GGGTATCTAATCCTGTTTGTCTCCCCACGCTTTCGAGCCTCAGTGTGAGTTACAG
GCCAGAGAGCCGCTTTCGCCTCCGGTGTTCCTCCATATATCTACGCATTTACC
GCTACACATGGAATTCACCTCTCCTCTCCTGCACTCAAGTCTCCCAGTTTCAA
TGCACACAATGGTTGAGCCACTGCCTTTTACATCAGACTTAAGAAACCACCTG
CGCTCGCTTTACGCCAATAAATCCGGACAACGCTTGGGACCTACGTATTACC
GCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTCCCTTTCTGGTTAGATACCGTCACTTAA
GTAATTTTCCACTCTACTTAACGTTCTTCTCTAACAACAGAGTTTTACGATCCG
AAAACCTTCTTCACTCACGCGGGCTTGTCTCGGTCAGGGTTGCCCCCATGCCGA
AGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTG
TGGCCGATCACCTCTCAGGTCCGCTATGTATCATCGCCTTGGTAGTCCTTTAC
ACTACCAACTAGCTAATAACAACGCGGGATCATCAAGTAGTGAAGCAATTGCTT
CTTTCAAATAAGAATCATGCGATTCTCATTGTTATGCGGTATTAGCGTTTCGTTT
CCAAACGTTGTCCCCCGCTACTCGGCAGATTTCCACGCGTTACTCACCCGTTT
GCCGCTCTTCATAAAAATAGCAAGCTATCTTTAATCATCGCTCGACTGCATAAT
CCACGCCGTCG

2 Numaralı İzolattan Elde Edilen 16S rRNA Geninin Baz Sırası;

TGATCACGTATTCACCGATAGCATTCTGATCTACGATTACTAGCGATTCC
GACTTCACGGAGTCGAGTTGCAGACTCCGATCCGGACTACGACATACTTTATG
AGGTCCGCTTGTCTCGCGAGGTCGCTTCTCTTTGTATATGCCATTGTAGCACG
TGTGTAGCCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCTT
CCAGTTTATCACTGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGGCCGAACCGCTGGCAACAA
AGGATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTACAAACACGAG
CTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTCTCACGGTCCCGAAGGCACTAAAGCAT
CTCTGCTAAATTCTCTGGATGTCAAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCG
AATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCATTTGAGTT
TTAACCTTGCGGCCGTACTIONCCCCAGGCGGTCGACTTAACGCGTTAGCTCCGGA
AGCCACTCCTCAAGGGAACAACCTCCAAGTCGACATCGTTTACGGCGTGGACT

ACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTC
 TTTGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCGGTATTCCCTCCAGATCTCTACGCATTT
 CACCGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACAAGACTCTAGCCTGCCAGTTT
 CGAATGCAGTTCCCAGGTTGAGCCCGGGGATTTACATCCGACTTGACAGACC
 GCCTGCGTGCGCTTTACGCCAGTAATTCCGATTAACGCTTGCACCCTCCGTAT
 TACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGGTGCTTCTTCTGCGAGTAACGTCA
 ATCGCTGCGGGTTATTAACCACAACGCCYTYCYCYTCGCTGAAAGTACTTTAC
 AACCCGAAGGCCTTCTTCATACACGCGGCATGGCTGCATCAGGCTTGCGCCCA
 TTGTGCAATATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGT
 TCCAGTGTGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGCTAGGGATCGTCGCCTAGGTGA
 GCCATTACCCACCTACTAGCTAATCCCATCTGGGCACATCCGATGGTGTGAG
 GCCCGAAGGTCCCCACTTTGGTCTTGCGACGTTATGCGGTATTAGCTACCGTT
 TCCAGTAGTTATCCCCCTCCATCGGGCAGTTTCCCAGACATTACTACCCGTCC
 GCCACTCGTCACCCAAGAGCAAGCTCTCTGTGCTACCGTTCGACTGCATGTGG
 AGCTGCCGAAGCT

3 Numaralı İzolattan Elde Edilen 16S rRNA Geninin Baz Sırası;

CCGGTAAGTATTACCGCGACATTCTGATTCGCGATTACTAGCGATTCCGA
 ACTTCACGCAGTCGAAGTTGCAGACTGCGATCCGGACTACGATCGGTTTTGTG
 AGATTAGCTCCACCTCGCGGCTTGGCGACCCTCTGTACCGACCATTGTAGCAC
 GTGTGTAGCCCAGGCCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTC
 CTCCGGTTTTGTCACCGGCAGTCTCCTTAGAGTGCCACCATTACGTGCTGGTAA
 CTAAGGACAAGGGTTGCGCTCGTTACGGGACTTAACCCAACATCTCACGACAC
 GAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTGTCAGAGTTCCCGAAGGCACCAATC
 CATCTCTGGAAAGTTCTCTGCATGTCAAGGCCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCT
 TCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGA
 GTTTTAACCTTGCGGCCGTACTCCCCAGGCGGTCAACTTAATGCGTTAGCTGCG
 CCACTAAAATCTCAAGGATTCCAACGGCTAGTTGACATCGTTTACGGCGTGGA
 CTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCACCTCAGTGTGAG
 TATCAGTCCAGGTGGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTTCCTATATCTACGCAT
 TTCACCGCTACACAGGAAATTCCACCACCCTCTACTGTACTCTAGCTTGCCAGT
 TTTGGGATGCAGTTCCCAGGTTGAGCCCGGGGCTTTCACATTCAACTTAACAAA

CCACCTACGCGCGCTTTACGCCAGTAATTCCGATTAACGCTTGCACCCTCTGT
ATTACCGCGGCTGCTGGCACAGAGTTAGCCCGGTGCTTATTCTGTCCGGTAACGT
CAAAACAGTAAGGTATTCGCTCACTGCCCTTCCTCCCAACTTAAAGTGCTTTAC
AATCCGAAGACCTTCTTCACACACGCGGCATGGCTGGATCAGGCTTTCGCCCA
TTGTCCAATATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGT
TCCAGTGTGACTGATCATCCTCTCAGACCAGTTACGGATCGTCGCCTTGGTGAG
CCATTACCTCACCAACTAGCTAATCCGACCTAGGCTCATCTGATAGCGCAAGG
CCCGAAGGTCCCCTGCTTTCTCCCGTAGGACGTATGCGGTATTAGCGTTCCTTT
CGAAACGTTGTCCCCACTACCAGGCAGATTCTAGGCATTACTACCCGTCC
GCCGCTGAATCGGAAGGAGCAAGCTTCTTCTCATCCGCTCGACTGCATGTGTA
GGCTGCCGCAG

4 Numaralı İzolattan Elde Edilen 16S rRNA Geninin Baz Sırası;

CGGCACGTATTCACCGTAGCATTCTGATCTACGATTACTAGCGATTCCGA
CTTCATGGAGTCGAGTTGCAGACTCCAATCCGGACTACGACATACTTTATGAG
GTCCGCTTGCTCTCGCGAGGTCGCTTCTCTTTGTATATGCCATTGTAGCACGTG
TGTAGCCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCC
AGTTTATCACTGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGGCCGAACCGCTGGCAACAAA
GGATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTACAACACGAGC
TGACGACAGCCATGCAGCACCTGTCTCACGGTTCCCGAAGGCACTAAGGCATC
TCTGCCAAATTCCGTGGATGTCAAGAGTAGGTAAGGTYCTTCGCGTTGCATCG
AATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAGTT
TTAACCTTGCGGCCGTACTCCCCAGGCGGTGCGACTTAACGCGTTAGCTCCGGA
AGCCACGCCTCAAGGGCACAACCTCCAAGTCGACATCGTTTACAGCGTGGACT
ACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTC
TTCGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCGGTATTCTCCAGATCTCTACGCATTT
CACCGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACGAGACTCAAGCCTGCCAGTT
TCAAATGCAGTTCCCAGGTTGAGCCCGGGATTTCACATCTGACTTAACAGAC
CGCCTGCGTGCGCTTTACGCCAGTAATTCCGATTAACGCTTGCACCCTCCGTA
TTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCCGGTGCTTCTTCTGCGAGTAACGTCA
ATTGCTGCGGTTATTAACCACAGCACCTTCCTCCTCGCTGAAAGTACTTTACAA
CCCGAAGGCCTTCTTCATACACGCGGCATGGCTGCATCAGGCTTGCGCCCATT

GTGCAATATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTC
 CAGTGTGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGCTAGGGATCGTCGCCTAGGTGAGC
 CGTTACCCACCTACTAGCTAATCCCATCTGGGCACATCCGATGGCAAGAGGC
 CCGAAGGTCCCCCTCTTTGGTCTTGCGACGTTATGCGGTATTAGCTACCGTTTC
 CAGTAGTTATCCCCCTCCATCGGGCAGTTTCCCAGACATTACTACCCGTCCGC
 CACTCGTCAGCAAAGCAGCAAGCTGCTTTCTGTTACCGTTCGACTGCATGTGTA
 GCCTGCCG

5 Numaralı İzolattan Elde Edilen 16S rRNA Geninin Baz Sırası;

GGGTCACGTATTCACATACGGCATTCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCC
 GACTTCATGGAGTCGAGTTGCAGACTCCAATCCGGACTACGATCGGCTTTTTGA
 GATTAGCATCCTATCGCTAGGTAGCAACCCTTTGTACCGACCATTGTAGCACGT
 GTGTAGCCCTGGTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCGTCCCCGCCTTCCTC
 CAGTTTGTCACTGGCAGTATCCTTAAAGTTCCCACCCGAAGTGCTGGCAAATA
 AGGAAAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAG
 CTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTATGTAAGTTCCCGAAGGCACCAATCCAT
 CTCTGGAAAGTTCTTACTATGTCAAGACCAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCG
 AATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAGTT
 TTAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGTCTACTTATCGCGTTAGCTGCGCCA
 CTAAAGCCTCAAAGGCCCAACGGCTAGTAGACATCGTTTACGGCATGGACTA
 CCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCATGCTTTCGTACCTCAGCGTCAGTAT
 TAGGCCAGATGGCTGCCTTCGCCATCGGTATTCCTCCAGATCTCTACGCATTTCC
 ACCGCTACACCTGGAATTCTACCATCCTCTCCCATACTCTAGCTTCCCAGTATC
 GAATGCAATTCCCAAGTTAAGCTCGGGGATTTACATCCGACTTAAAAAGCCG
 CCTACGCACGCTTTACGCCAGTAAATCCGATTAACGCTCGCACCCCTCTGTATT
 ACCGCGGCTGCTGGCACAGAGTTAGCCGGTGCTTATTCTGCGAGTAACGTCCA
 CTCATCTTGGGTATTAACCAAGAGAGCCTCCTCCTCGCTTAAAGTGCTTTACAA
 CCATAAGGCCTTCTTCACACACGCGGCATGGCTGGATCAGGGTTCCCCCATT
 GTCCAATATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCC
 CAGTGTGGCGGATCATCCTCTCAGACCCGCTACAGATCGTCGCCTTGGTAGGC
 CTTTACCCACCAACTAGCTAATCCGACTTAGGCTCATCTATTAACGCAAGGTC
 ACAAGTGATCCCCTGCTTTCCCCCGTAGGGCGTATGCGGTATTAGCATCCCTTT

CGAGATGTTGTCCCCATTAATAGGCAGATTCCTAAGTATTACTCACCCGTCCG
 CCGCTAGGTCAATTACCGAAGCAATCTCCCCGCTCGACTTGCATGTGTAAGC
 CTGCCGCC

6 Numaralı İzolattan Elde Edilen 16S rRNA Geninin Baz Sırası;

CCCGGTACCGTATTACCGATAGCATTCTGATCCTACGATTACTAGCGATT
 CCGACTTCATGGAGTCGAGTTGCAGACTCCAATCCGGACTACGACATACTTTAT
 GAGGTCCGCTTGCTCTCGCGAGTTCGTTCTCTTTGTATATGCCATTGTAGCAC
 GTGTGTAGCCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCC
 TCCGTTTATCACCGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGCCATTACGCGCTGGCAAC
 AAAGGATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTACAACACG
 AGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTCTCAGAGTTCCCGAAGGCACTAAAGC
 ATCTCTGCTAAATTCTCTGGATGTCAAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCAT
 CGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAG
 TTTTAACCTTGCGGGCCGTACTCCCCAGGCGGTCGACTTAACGCGTTAGCTCCGG
 AAGCCACGCCTCAAAGGGCACAACCTCCAAGTCGACATCGTTTACAGCGTGGA
 CTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCACCTGAGCGTCAG
 TCTTTGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCGGTATTCCTCCAGATCTCTACGCAT
 TTCACCGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACAAGACTCTAGCTGACCAGT
 TTCAAATGCAGTTCCCAAGTTAAGCTCGGGGATTTACATCTGACTTAATCAAC
 CGCCTGCGTGCGCTTTACGCCAGTAATTCCGATTAACGCTTGCACCCTCCGTA
 TTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGGTGCTTCTTCTGCGAGTAACGTCA
 ATCACTGTGGTTATTAACCACAATGCCTTCCTCCTCGCTGAAAGTACTTTACAA
 CCCGAAGGCCTTCTTCATACACGCGGCATGGCTGCATCAGGCTTGCGCCCATT
 GTGCAATATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTC
 CAGTGTGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGCTAGAGATCGTCGCTAGGTGAGC
 CATTACCCACCTACTAGCTAATCCCATCTGGGCACATCTGATGGCGTGAGGC
 CCGAAGGTCCCCACTTTGGTCCGAAGACGTCATGCGGTATTAGCTACCGTTTC
 CAGTAGTTATCCCCCTCCATCAGGCAGTTTCCCAGACATTACTACCCGTCCGC
 CGCTCGTCACCCAGAGAGCAAGCTCTCTTGTGCTACCGCTCGACTGCATGTGTA
 GCTGCCGCAG

7 Numaralı İzolattan Elde Edilen 16S rRNA Geninin Baz Sırası;

CCCGGATACAGTATTACATACGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATT
 CCGACTTCATGCAGGCGAAGTTGCAGCCTGCAATCCGAACTGAGAATGGTTTT
 AAGAGATTAGCGCACCCCTCGCGGGTTGGCGACTCGTTGTACCATCCATTGTAG
 CACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACC
 TTCTCCGGTTTATCACCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCA
 ACTAGTAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACA
 CGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTATCCCGTGTCCCGAAGGAACCTCT
 TATCTCTAAGGATAGCACGAGTATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGC
 TTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTG
 AGTTTCAACCTTGCGGTGCTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGC
 GCTACAGAGAACTTATAGCTCCCTACAGCTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGG
 ACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGAGCCTCAGTGTC
 GTTACAGGCCAGAGAGCCGCTTTCGCCTCCGGTGTTCCCTCCATATATCTACGCA
 TTTACCGCTACACATGGAATTCCACTCTCCTCTCCTGCACTCAAGTCTCCCAG
 TTTCCAATGCACACAATGGTTGAGCCACTGCCTTTTACATCAGACTTAAGAAAC
 CACCTGCGCTCGCTTTACGCCAATAAATCCGGACAACGCTTGGGACCTACGT
 ATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTCCCTTTCTGGTTAGATACCGTC
 ACTTAAGTAATTTTCCACTCTACTTAACGTTCTTCTCTAACAACAGAGTTTTAC
 GATCCGAAAACCTTCTTCACTCACGCGGCGTTGCTCGGTCAGGGTTGCCCCCAT
 TGCCGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTC
 CCAGTGTGGCCGATCACCTCTCAGGTGCGCTATGTATCATCGCCTTGGTAGTC
 CTTTACACTACCAACTAGCTAATACAACGCGGGATCATCAAGTAGTGAAGCAA
 TTGCTTCTTTCAAATAAGAATCATGCGATTCTCATTGTTATGCGGTATTAGCGT
 TCGTTTCCAAACGTTGTCCCCCGCTACTCGGCAGATTTCCCACGCGTTACTCAC
 CCGTTCGCCGCTTACTTCATAAAAATAGCAAGCTATCTTTAATCATCGCTCGAC
 TTGTCATGAATGAGGCACGTCCGACCG

8 Numaralı İzolattan Elde Edilen 16S rRNA Geninin Baz Sırası;

GGATAAGTATTCACATAAGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCG
 GCTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACTGAGAATGGTTTTAAGA

GATTAGCTAAACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGT
 GTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCGTCCCCACCTTCCTC
 CGGTTTGTACCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAG
 TAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGC
 TGACGACAACCATGCACCACCTGTCACCTTTGTCCCCGAAGGGAAAGCTCTATC
 TCTAGAGTGGTCAAAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCG
 AATTAACACCATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCCTTTGAGTT
 TCAACCTTGCGGTTCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCGGC
 ACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAACACCTAGCACTCATCGTTTACGGCATGGAC
 TACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTACCCATGCTTTCGAGCCTCAGCGTCAGT
 TACAGACCAGACAGCCGCCTTCGCCACTGGTGTCTTCCATATATCTACGCATT
 TCACCGCTACACATGGAGTTCCTACTGTCCTCTTCTGCACTCAAGTTTCCCAGT
 TTCCGATGCACTTCTTCGGTTGAGCCGAAGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAC
 CGCCTGCGCTCGCTTTACGCCAATAAATCCGGACAACGCTTGCCACCTACGT
 ATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTGGATACCGTC
 ACTACCTGATCAGTTACTATCAAATACATTCTTCTCCAACAACAGAGTTTTACG
 ATCCGAAAACCTTCTTCACTCACGCGGCGTTGCTCCATCAGACTTTCGTCCATT
 GTGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCC
 CAGTGTGGCCGATTACCCTCTCAGGTCGGCTATGCATCACGGTCTTGGTGAGCC
 TTTACCTACCAACTAACTAATGCACCGCGGGTCCATCCTAAAGTGATAGCCG
 AAACCATCTTTCAACCTTGCACCATGCGGTGCTAGGTTTTATGCGGTATTAGCA
 TCTGTTTCCAAATGTTATCCCCACTTTAGGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCA
 CCCGTCCGCACTCACTCAAATGTTATCAATCAGAAGCAAGCTTCTTCAATCTA
 ACGAGAGTGCGTTCGACTTGCAGAAGGAGCACGTCCGANAGTT

9 Numaralı İzolattan Elde Edilen 16S rRNA Geninin Baz Sırası;

CCGGTAAGTATTCACCGATAGCATTCTGATCTACGATTACTAGCGATTC
 CGACTTCACGGAGTCGAGTTGCAGACTCCGATCCGGACTACGACGTACTTTAT
 GAGGTCCGCTTGCTCTCGCGAGTTCGCTTCTCTTTGTATACGCCATTGTAGCAC
 GTGTGTAGCCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCC
 TCCGTTTATCACCGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCACCATTACGTGCTGGCAAC
 AAAGGATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTCAACAACAG

AGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTCTCAGAGTTCCTCCGAAGGCACTAAGCT
 ATCTCTAGCGAATTCTCTGGATGTCAAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCAT
 CGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAG
 TTTTAACTTGTGCGCCGTA TCTCCCCGCAGGCGGTCGACTTAACGCGTTAGCTCC
 GGAAGCCACGCCTCAAGGGCACAACCTCCAAGTCGACATCGTTTACAGCGTGG
 ACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCACGTGAGCGTCA
 GTCTTTGTCCAGGGGGGCGCCTTCGCCACCGGTATTCCTCCAGATCTCTACGC
 ATTTACCGCTACACCTAGAATTCTACCCCCCTCTACAAGACTCTAGCTTGCCA
 GTTTCAAATGCAGTTCCCACGTTAAGCGCGGGGATTTACATCTGACTTAACAA
 ACCGCCTGCGTGCGCTTTACGCCAGTAATTCCGATTAACGCTTGCACCCTCCG
 TATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGGTGCTTCTTCTGCGAGTAACGT
 CAATGCACAGTGCTATTCACTGAACCCTTCCTCCTCGCTGAAAGTGCTTTACAA
 CCCGAAGGCCTTCTTCACACACGCGGCATGGCTGCATCAGGCTTGCGCCATT
 GTGCAATATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTC
 CAGTGTGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGCTAGGGATCGTCGCCTAGGTGAGC
 CATTACCCACCTACTAGCTAATCCCATCTGGGCACATCTGATGGCATGAGGC
 CCGAAGGTCCCCACTTTGGTCCGTAGACGTTATGCGGTATTAGCTACCGTTTC
 CAGTAGTTATCCCCCTCCATCAGGCAGTTTCCCAGACATTACTACCCGTCCGC
 CGCTCGTCACCCAGGAGCAAGCTCCCTGTGCTACCGCTCGACTTGCATGTGTTA
 GGCCGCCG

10 Numaralı İzolattan Elde Edilen 16S rRNA Geninin Baz Sırası;

CGGGNACGTATTCACCGACGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCC
 GACTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAACTGAGAATGGTTTTAAG
 AGATTAGCGCACCCCTCGCGGGTTGGCGACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCAC
 GTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCC
 TCCGGTTTATCACCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTA
 GTAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAG
 CTGACGACAACCATGCACCACCTGTATCCCGTGTCCCGAAGGAACTCCTTATCT
 CTAAGGATAGCACGAGTATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCG
 AATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTT
 TCAACCTTGTGCGTCTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCGCTA

CAGAGAACTTATAGCTCCCTACAGCTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTA
 CCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGAGCCTCAGTGTCAGTTA
 CAGGCCAGAGAGCCGCTTTCGCCTCCGGTGTTCTCCATATATCTACGCATTTC
 ACCGCTACACATGGAATTCCA CTCTCCTCTCCTGCACTCAAGTCTCCCAGTTTC
 CAATGCACACAATGGTTGAGCCACTGCCTTTTACATCAGACTTAAGAAACCAC
 CTGCGCTCGCTTTACGCCAATAAATCCGGACAACGCTTGGGACCTACGTATTA
 CCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTCCCTTTCTGGTTAGATACCGTCACTT
 AAGTAATTTTCCA CTCTACTTAAACGTTCTTCTCTAACAACAGAGTTTTACGATC
 CGAAAACCTTCTTCACTCACGCGGCGTTGCTCGGTCAGGGTTGCCCCATTGCC
 GAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAG
 TGTGGCCGATCACCTCTCAGGTCGGCTATGTATCATCGCCTTGGTAGTCCTTT
 ACACTACCAACTAGCTAATAACAACGCGGGATCATCAAGTAGTGAAGCAATTGC
 TTCTTTCAAATAAGAATCATGCGATTCTCATTGTTATGCGGTATTAGCGTTCGT
 TTCAAACGTTGTCCCCGCTACTCGGCAGATTTCCCACGCGTTACTCACCCGT
 TCGCCGCTCTTCATAAAAATAGCAAGCTATCTTTAATCATCGCTCGACTTGCGT
 GTATTAGCACGCCGCCCG

11 Numaralı İzolattan Elde Edilen 16S rRNA Geninin Baz Sırası;

GTTAACGTATTCACCGTNATGCATTCTGATCTACGATTACTAGCGATTCCC
 GACTTACATGGAGTCGAAGTTGCAGACTCCAATCCGGACTACGACGTACTTTA
 TGAGGTCCGCTTGCTCTCGCGAGGTCGCTTCTCTTTGTATACGCCATTGTAGCA
 CGTGTGTAGCCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTC
 CTCCAGTTTATCACTGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGGCCGAACCGCTGGCAAC
 AAAGGATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTACAACACG
 AGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTCTCAGAGTTCCCGAAGGCACCAATCC
 ATCTCTGGAAAGTTCTCTGGATGTCAAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCAT
 CGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAG
 TTTTAAACCTTGCGGCCGTACTCCCCAGGCGGTCGATTTAACGCGTTAGCTCCGG
 AAGCCACGCCTCAAGGGCACAACTCCAAATCGACATCGTTTACAGCGTGGAC
 TACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCACCTGAGCGTCAGT
 CTTTCGTCCAGGGGGCCGCTTCGCCACCGGTATTCCTCCAGATCTCTACGCATT
 TCACCGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACGAGACTCTAGCTTGCCAGTT

TCAAATGCAGTTCCCAGGTTGAGCCCAGGGATTTCACATCTGACTTAACAAAC
 CGCCTGCGTGCGCTTTACGCCAGTAATTCCGATTAACGCTTGACCCCTCCGTA
 TTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGGTGCTTCTTCTGCGAGTAACGTCA
 ATTGATGAACGTATTAAGCTCACACCTTCCTCCTCGCTGAAAGTGCTTTACAA
 CCCGAAGGCCTTCTTCACACACGCGGCATGGCTGCATCAGGCTTGCGCCATT
 GTGCAATATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTC
 CAGTGTGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGCTAGGGATCGTCGCCTAGGTGAGC
 CATTACCCACCTACTAGCTAATCCCATCTGGGCACATCTGATGGCAAGAGGC
 CCGAAGGTCCCCCTCTTTGGTCTTGCGACGTTATGCGGTATTAGCTACCGTTTC
 CAGTAGTTATCCCCCTCCATCAGGCAGTTTCCCAGACATTACTCACCCGTCCGC
 CGCTCGTCACCCTCNGCAAGCTTCCCCGTGCTGCCGCTTGTACTTGCATGTGNA
 GC

12 Numaralı İzolattan Elde Edilen 16S rRNA Geninin Baz Sırası;

TGGATAAGTCTTAGCATAACGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCC
 GGCTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAAGTGAAGAATGGTTTTAAG
 AGATTAGCTAAACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACG
 TGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCGTCCCCACCTTCTT
 CCGGTTTGTACCCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTA
 GTAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAG
 CTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTTTGTCCCCGAAGGGAAAGCTCTAT
 CTCTAGAGTGGTCAAAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCG
 AATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTT
 TCAACCTTGCGGTCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCGGC
 ACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAACACCTAGCACTCATCGTTTACGGCATGGAC
 TACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTACCCATGCTTTCGAGCCTCAGCGTCAGT
 TACAGACCAGACAGCCGCCTTCGCCACTGGTGTCTTCCATATATCTACGCATT
 TCACCGCTACACATGGAGTTCCACTGTCTTCTTCTGCACTCAAGTTCCCCAGTT
 TCCGATGCACTTCTTCGGTTGAGCCGAAGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACC
 GCCTGCGCTCGCTTTACGCCAATAAATCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTAT
 TACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTGGATACCGTCAC
 TACCTGATCAGTTACTATCAAATACATTCTTCTCCAACAACAGAGTTTTACGAT

CCGAAAACCTTCTTCACTCACGCGGGCGTTGCTCCATCAGACTTTCGTCCATTGT
 GGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCA
 GTGTGGCCGATTACCCTCTCAGGTCGGCTATGCATCACGGTCTTGGTGAGCCTT
 TACCTCACCAACTAACTAATGCACCGCGGGTCCATCCTAAAGTGATAGCCGAA
 ACCATCTTTCAACCTTGCACCATGCGGTGCTAGGTTTTATGCGGTATTAGCATC
 TGTTTCCAAATGTTATCCCCACTTTAGGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACC
 CGTCCGCCACTCACTCAAATGTTATCAATCAGAAGCAAGCTTCTTCAATCTAAC
 GAGAGTGCGTTCGACTGCAGATGGAGCACGTCTGACCCG

Ek 4.1. API 20 E panel sisteminin içerdiği testler

Testler	Substrat	Belirlenen Reaksiyon	Negatif Sonuçlar	Pozitif Sonuçlar
ONPG	ONPG	Beta-galaktosidaz	Renksiz	Sarı
ADH	Arginin	Arginin dihidrolaz	Sarı	Kırmızı / Turuncu
LDC	Lisin	Lisin dekarboksilaz	Sarı	Kırmızı / Turuncu
ODC	Ornitin	Ornitin dekarboksilaz	Sarı	Kırmızı / Turuncu
CIT	Sitrat	Sitrat kullanımı	Açık yeşil / Sarı	Mavi-Yeşil / Mavi
H₂S	Na thiosulfate	H ₂ S üretimi	Renksiz / Gri	Siyah tortu
URE	Üre	Üre hidrolizi	Sarı	Kırmızı / Turuncu
TDA	Triptofan	Deaminaz	Sarı	Kahverengi / Kırmızı
IND	Triptofan	İndol üretimi	Sarı	Kırmızı (2 dk.)
VP	Na piruvat	Aseton üretimi	Renksiz	Pembe / Kırmızı (10 dk)
GEL	Kömür jelatin	Jelatinaz	Siyah tabaka dağılmamış	Siyah tabaka dağılmış
GLU	Glukoz	Ferm. / oks.	Mavi / Mavi-Yeşil	Sarı
MAN	Mannitol	Ferm. / oks.	Mavi / Mavi	Sarı
INO	İnositol	Ferm. / oks.	Mavi / Mavi	Sarı

Ek 4.1. Devamı

SOR	Sorbitol	Ferm. / oks.	Mavi / Mavi	Sarı
RHA	Ramnoz	Ferm. / oks.	Mavi / Mavi	Sarı
SAC	Sucrose	Ferm. / oks.	Mavi / Mavi	Sarı
MEL	Melibiose	Ferm. / oks.	Mavi / Mavi	Sarı
AMY	Amigdalin	Ferm. / oks.	Mavi / Mavi	Sarı
ARA	Arabinoz	Ferm. / oks.	Mavi / Mavi	Sarı

Ek 4.2. API 50 CH panel sisteminin içerdği testler

Test	Adı	Test	Adı
GLY	Glycerol	NAG	N-asetylglucosamine
ERY	Erythriol	AMY	Amygdalin
DARA	D-arabinose	ARB	Arbutin
LARA	L-arabinose	ESC	Esculin-ferric sitrate
RIB	D-ribose	SAL	Salisin
DXYL	D-xylose	CEL	D-celiobiose
LXYL	L-xylose	MAL	D-maltose
ADO	D-adonitol	LAC	D-lactose(bovineorgine)
MDX	Methyl- β D-xylopyranoside	MEL	D-melibiose
GAL	D-galactose	SAC	D-saccharose(sucrose)
GLU	D-glucose	TRE	D-trehalose
FRU	D-fructose	INU	İnulin
MNE	D-mannose	MLZ	D-melezitoz
SBE	L-sorbose	RAF	D-raffinose
RHA	L-rhamnose	AMD	Amidon(starch)
DUL	Dulcitol	GLYG	Glycogen
INO	İnosidol	XLT	Xylitol
MAN	D-mannitol	GEN	Gentiobiose
SOR	D-sorbitol	TUR	D-turanose
MDM	Methyl- α D-mannopyranoside	LYX	D-lyxose
MDG	Methyl- α D-glucopyranoside	TAG	D-tagatose

Ek 5.1**Fungus ITS Sekansi**

CCCCTTCNTCGGAGGAAAAGAAACCAACAAGGATTCCCCTAGTAACGGCGAAT
CCAGCAGGAAGAGCTCATATTTGTNGGTCAACACGTGGAGGGATCATTACCGA
GTWTWCAACTCCMCAACCMTTCTGTRAACCTACCYATCGTTGCTTCGGCGGAC
TCGCCCCAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCTCAAAC
CCTGTATTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAAACAAATGAATCAA
AACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAA
TGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACG
CACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAA
CCCTCGACCTCCCCTTGGGGAGGTTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCG
GCCCTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGYGGYGACCTSTGCGTAGTAATGCAG
CTCGCACCGGAACCCYGACGCGGCCACGCCTGTAAAACACCCAACCTTCTGAAY
STTGACCTCRAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAATTAANAACATATCNNGCTG
CTTCACGCTACACTCGCCGGGGAATCGGGAATCCTTGTTAGTTTCTTTTCCTCC
GAAA

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Çorum ili İskilip ilçesinde doğdu. İlkokulu İskilip Azm-i Milli İlköğretim Okulu'nda, Ortaokulu İskilip Lisesi Orta kısmında, liseyi, İskilip Lisesi'nde okudu ve 2000 yılında mezun oldu.

2004 yılında Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Biyoloji Bölümüne başladı ve 2008 yılında Biyolog Ünvanı ile mezun oldu. Aynı yıl Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. 2008-2009 arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi yabancı diller okulunda 1 yıl İngilizce hazırlık eğitimini aldı.

Yüksek Lisans Eğitimi esnasında Merkezi Finans İhale Birimi'nin Türkiye Cumhuriyeti ve AB tarafından desteklenen "Aktif İstihdam Tedbirleri" başlıklı bir projesinde "Dış Ticaret ve Proje Uzmanlığı" adlı 6 aylık eğitim aldı. KOSGEB tarafından destekli iki yıllık bir projede proje yöneticisi olarak bulunmaktadır. Bu proje kapsamında Trabzon Teknoloji Geliştirme Merkezi'nde (TEKNOKENT) kurulan Kar-Biyosit Biyoteknoloji Ar-Ge Danışmanlık Şirketinin Müdürü olarak görev yapmaktadır. Ayrıca Kayseri Melikşah Üniversitesi Proje Yönetim Ofisi Koordinatörü olarak çalışmaktadır.

Yabancı Dili İngilizcedir.