



GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Xylosandrus germanus* (Blandford) (Coleoptera:
Curculionidae)'dan İzole Edilen Bakterilerin Tanımlanması,
İnsektisidal ve Antibakteriyel Özelliklerinin Belirlenmesi**

Ahmet KATI

HAZİRAN 2011

GİRESUN

GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Xylosandrus germanus* (Blandford) (Coleoptera:
Curculionidae)'dan İzole Edilen Bakterilerin Tanımlanması,
İnsektisidal ve Antibakteriyel Özelliklerinin Belirlenmesi**

Ahmet KATI

HAZİRAN 2011

GİRESUN

Fen Bilimleri Enstitü Müdürü'nün onayı.

..../..../....

Doç. Dr. Serkan SOYLU

Enstitü Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak Biyoloji Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

..../..../....

Prof. Dr. İhsan AKYURT

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve Yüksek Lisans tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarım.

Doç. Dr. Hatice KATI

Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Hatice KATI

Doç. Dr. Halil İbrahim UĞRAŞ

Yrd. Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

ÖNSÖZ

“*Xylosandrus germanus*’dan izole edilen bakterilerin fenotipik ve moleküler olarak tanımlandığı, insektisidal ve antibakteriyel aktivitelerinin araştırıldığı bu çalışmanın bir bölümü TÜBİTAK-109T568 nolu projeden sağlanan destek ile Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda “Yüksek Lisans Tezi” olarak hazırlanmıştır.

Bu çalışmada 2008 yılında Giresun ili, Yağlıdere ilçesinden toplanan *Xylosandrus germanus* (Blandford) zararlısından izole edilen bakteriler fenotipik ve moleküler testler kullanılarak tanımlanmıştır. Fenotipik çalışmalar içerisinde “Vitek 2 ve Microbial Identification System” kullanıldı. Ayrıca bu bakterilerin bazı bitki patojeni bakteriler üzerindeki antimikrobiyal aktivite özellikleri ve bazı tarım zararlısı böceklerle karşı insektisidal aktiviteleri araştırılmıştır.

Ahmet KATI

Haziran 2011

Giresun

ÖZET

Xylosandrus germanus (Blandford) (Coleoptera: Curculionidae)'dan İzole Edilen Bakterilerin Tanımlanması, İnsektisidal ve Antibakteriyel Özelliklerinin Belirlenmesi

KATI, Ahmet

Giresun Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman : Doç. Dr. Hatice KATI

Haziran 2011, 106 sayfa

Zararlı böceklerle mücadele de yaygın olarak kullanılan kimyasal insektisitler çevreye yapmış oldukları olumsuz etkilerden kurtulmak ve geleceğimizi güvence altına almak için biyolojik mücadele çalışmaları kaçınılmaz olmuştur. Biyolojik mücadelede kullanılan ajanlardan bakteriler zararlıların doğal düşmanları olup çoğunlukla sadece o zararlı üzerinde etkiye sahiptirler. Entomopatojen bakterilerin izole edilip geliştirilerek fındık zararlısı böcekler ile mücadelede kullanılması, sürdürülebilir fındık üretiminde kimyasalların kullanımını büyük ölçüde sınırlayabilecektir.

Fındık, Karadeniz Bölgesi için üretim ve ihracat bakımından en önemli ürünlerden biridir. Fındık bahçelerinde pek çok zararlı bulunmaktadır. Bu zararları oluşturan böceklerin çoğu Lepidoptera ve Coleoptera takımlarına aittirler. Son yıllarda yapılan çalışmalar ve gözlemlere göre yazıcıböcekler (Col.: Curculionidae)'in fındık bahçelerindeki zararı gittikçe artmaktadır. Yazıcıböceklerden biri olan *Xylosandrus germanus*'un sağlıklı ve kuru dallara zarar verdiği tespit edilmiştir.

Bu çalışmada; *Xylosandrus germanus*'dan izole edilen 16 bakteri morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler testler kullanılarak tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda izolatlar; 2 tane *Acinetobacter psychrotolerans*, *Stenotrophomonas maltophilia*, 2 tane *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus warneri*, 2 tane *Pantoea agglomerans*, *Staphylococcus hominis*, 2 tane *Erwinia billingiae*, *Brevibacterium linens*, *Advenella* sp., *Pantoea cedenensis* ve *Brevibacterium permense* olarak tanımlandılar. Ayrıca bu bakterilerin insektisidal ve antibakteriyel aktiviteleri araştırıldı.

Anahtar Kelimeler: Curculionidae, Fındık, *Xylosandrus germanus*, , 16S rDNA

ABSTRACT

Identification of Bacteria Isolated From *Xylosandrus germanus* (Blandford) (Col: Curculionidae) and Determination of Insecticidal and Antibacterial Activities

KATI, Ahmet

Giresun University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M. Sc. Thesis

Supervisor : Assoc.Prof.Dr. Hatice KATI

June 2011, 106 pages.

Biological control has become necessary to preserve our environment and future as a result of harmful effects of insecticide which are used for fighting against harmful insects. Bacteria are used as an agent against harmful insects as they are the natural enemies of these insects. These bacteria don't give any kind of harm to products but only to these insects. If entomopathogen bacteria are isolated, developed and used for the control of hazelnut pests, This will limit the use of the chemicals on the hazelnut industry.

Hazelnut is one of the most important products for Black Sea Region in terms of production and exportation. There are quite a few pests at hazelnut fields. Most of these pests belong to the Lepidoptera and Coleoptera orders. According to the recent studies and observations, the damage of bark beetles (Col.: Curculionidae) on hazelnut pests are gradually increasing. It is determined that *Xylosandrus germanus*, one of the bark beetles, gives damage to the healthy and dried branches of trees.

Based on morphological, physiological, biochemical and molecular tests, 16 bacteria isolated from *Xylosandrus germanus* were investigated in this study. As a result of studies; isolates were identified as 2 *Acinetobacter psychrotolerans*, *Stenotrophomonas maltophilia*, 2 *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus hominis* subsp. *novobiosepticus*, *Staphylococcus warneri*, 2 *Pantoea agglomerans*, *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis*, 2 *Erwinia billingiae*, *Brevibacterium linens*, *Advenella* sp., *Pantoea cedenensis* and *Brevibacterium permense*. Also insecticidal and antibacterial activities of these bacteria were investigated.

Keywords: Curculionidae, Hazelnut, *Xylosandrus germanus*, 16S rDNA

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin hazırlanıp yürütülmesinde, deneylerimin yapımı ve tezimin yazımı sırasında her türlü desteği sağlayan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Hatice KATI'ya; teknik ve idari bakımdan her türlü desteği sağlayan Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. İhsan AKYURT'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmalarım sırasında benden yardımlarını ve bilgilerini esirgemeyen ikinci danışman hocam Prof. Dr. Fikretin ŞAHİN'e (Yeditepe Üniversitesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölüm Başkanı); tezin değerlendirilmesi ve geliştirilmesinde yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. İkbâl Ağâh İNCE'ye; arazi çalışması ve böceklerin toplanmasında gösterdikleri yardımlardan dolayı Sayın Dr. Kibar AK'a (Karadeniz Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü) ve Sayın Öğr. Gör. Fikret USTAOĞLU'na; laboratuvar çalışmalarında yardım ve desteklerini esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Hüseyin YILMAZ ve Arş. Gör. Serpil UĞRAŞ'a; Vitek 2 cihazı ile ilgili çalışmaların yürütülmesinde gerekli kolaylığı sağlayan Giresun İl Kontrol Laboratuvar'ı idari personeline ve Mikrobiyoloji Birim Sorumlusu Sayın Canan TÜRKER'e, Yeditepe Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü'nde yağ asiti çalışmalarında yardımcı olan Sayın İsmail DEMİR'e ve bilgi birikimleri ile bana destek sağlayan tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmalarım müddetince beni maddi açıdan destekleyen ve tezimin bir bölümünün 109T568 no'lu proje kapsamında yürütülmesine imkân sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Ayrıca bu tezin hazırlaması sırasında yardımcı olan ve maddi-manevi desteğini esirgemeyen sevgili Serap BÜYÜKAY'a, vefakâr aileme içten ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	I
ÖZET.....	II
ABSTRACT.....	IV
TEŞEKKÜR.....	VI
İÇİNDEKİLER	VII
TABLolar DİZİNİ	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XII
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	XIII
1. GİRİŞ	1
1.1 <i>Xylosandrus germanus</i> 'un Hakkında Genel Bilgiler	2
1.1.1 <i>Xylosandrus germanus</i> 'un Morfolojisi	4
1.1.2 <i>Xylosandrus germanus</i> 'un Biyolojisi ve Zararı	4
1.1.3 Yayılışı	6
1.2 Zararlı Böcekler	6
1.3 Zararlı Böcekler İle Mücadele Yöntemleri	8
1.3.1 Kimyasal Mücadele.....	9
1.3.1.1 İnektisidlerin Yan Etkileri	9
1.3.1.1.1 İnektisidler ve Böcekler.....	9
1.3.1.1.2 İnektisidler ve Çevre.....	10
1.3.1.1.3 İnektisidler ve İnsan.....	11
1.3.2 Biyolojik Mücadele	11
1.3.2.1 Biyolojik Mücadelenin Amacı ve Önemi	11
1.3.2.2 Biyolojik Mücadele Materyalleri	12
1.3.2.2.1 Bakteriler ve Biyolojik Mücadele	13
1.4 Bitki Patojeni Bakteriler.....	14
1.5 Zararlı Böceklerdeki Patojen Mikroorganizmaların Belirlenmesi	17
1.5.1 Makroskobik İnceleme.....	17

1.5.2	Mikroskopik İnceleme	19
1.6	Bakterilerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler	20
1.6.1	Nümerik Taksonomi	20
1.6.2	Yağ Asit Profillerine Göre Bakterilerin Tanımlanması	22
1.6.3	Metabolik Enzim Profilleri ve Biyokimyasal Özelliklerine Göre Bakterilerin Tanımlanması	23
1.6.4	Moleküler Yöntemler	24
1.7	Bakterilerin İnsektisidal Özelliklerinin ve Bitki Patojeni Bakteriler Üzerinde Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması	28
1.7.1	Mikroorganizmaların İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi	28
1.7.2	Mikroorganizmaların Bitki Patojeni Bakteriler Üzerinde Antibakteriyel Etkileri	29
1.8	Tezin Amacı	30
2.	MATERYAL VE METOT	31
2.1	Böceklerin Toplanması	31
2.2	<i>Xylosandrus germanus</i> ' dan İzole Edilen Bakterilerin Belirlenmesi	31
2.2.1	Bakteri İzolasyonu	31
2.2.2	Saf Kültürlerin Hazırlanması ve Stoklanması	32
2.3	Bakteriyal İzolatların Morfolojik Özellikleri Belirlenmesi	32
2.3.1	Basit Boyama	32
2.3.2	Gram Boyama	32
2.3.3	Endospor Boyama	33
2.3.4	Hareketlilik Testi	33
2.4	Bakteriyal İzolatların Fizyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi	33
2.4.1	Büyüme Sıcaklıklarının Belirlenmesi	33
2.4.2	pH Özelliklerinin Belirlenmesi	34
2.4.3	NaCl Özelliklerinin Belirlenmesi	34
2.5	Bakteriyal İzolatların Biyokimyasal Özelliklerinin VITEK 2 Sistemiyle Belirlenmesi	34

2.6	Bakteriyal İzolatların Yağ Asidi Profillerinin Mikrobiyal İdentifikasyon Sistemi (MIS) Kullanılarak Belirlenmesi	35
2.6.1	Yağ Asiti Metil Esterlerinin Saflaştırılması	35
2.7	Bakteriyal İzolatların Moleküler Özelliklerinin Belirlenmesi	37
2.7.1	İzolatların Genomik DNA İzolasyonu	37
2.7.2	İzolatların 16S rDNA Primerlerinin Dizaynı ve Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması	38
2.7.3	İzolatların 16S rDNA Gen Bölgelerinin pGEMT Vektöre Klonlanması	38
2.7.4	<i>Escherichia coli</i> JM101 Hücrelerin Hazırlanması	39
2.7.5	İzolatların 16S rDNA Gen Bölgelerinin <i>Escherichia coli</i> JM101'e Transformasyonu	40
2.7.6	Transfer Edilen Rekombinant Plazmitlerin <i>Escherichia coli</i> JM101'den İzole Edilmesi ve Kontrolü	40
2.7.7	İzole Edilen Plazmitlerin 16S rDNA Gen Bölgelerinin Dizi Analizi	41
2.7.8	Elde Edilen DNA Baz Dizilimlerinin İncelenmesi	41
2.8	İzolatların İnsektisidal ve Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi	41
2.8.1	İzolatların İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi	41
2.8.2	İzolatların Bazı Bitki Patojeni Bakteriler Üzerinde Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması	42
3.	ARAŞTIRMA BULGULARI	44
3.1	<i>Xylosandrus germanus</i> 'dan İzole edilen Bakteriler	44
3.2	İzolatların Karakteristik Özelliklerinin Belirlenmesi	44
3.2.1	İzolatların Morfolojik Özellikleri	44
3.2.2	İzolatların Fizyolojik Özellikleri	45
3.2.3	İzolatların Toplam Hücresel Yağ Asiti Profilleri	48
3.2.4	İzolatların Biyokimyasal Özellikleri	56
3.2.5	İzolatların 16S rDNA Analiz Sonuçları	62
3.3	İzolatların İnsektisidal Etkileri	65
3.4	İzolatların Bitki Patojeni Bakteriler Üzerindeki Antimikrobiyal Etkileri	65

4.	TARTIŞMA VE SONUÇ	66
	KAYNAKLAR	76
	EKLER.....	90
	ÖZGEÇMİŞ	106

TABLÖLAR DİZİNİ

2.1.	Antimikrobiyal Etkinin Araştırılması için Kullanılan Bitki Patojeni Bakteriler	43
3.1.	İzolatların Morfolojik Özellikleri.....	46
3.2.	İzolatların Fizyolojik Özellikleri.....	47
3.3.	İzolatların Toplam Yağ Asit Oranları	52
3.4.	<i>Xylosandrus germanus</i> 'dan İzole Edilen İzolatların Yağ Asit İçeriklerine Göre Benzediği Bakteriler ve Oranları.....	56
3.5.	<i>Xylosandrus germanus</i> 'dan İzole Edilen Gram Negatif İzolatların Biyokimyasal Özellikleri.....	57
3.6.	<i>Xylosandrus germanus</i> 'dan İzole Edilen Gram Pozitif İzolatların Biyokimyasal Özellikleri.....	59
3.7.	<i>Xylosandrus germanus</i> 'dan İzole Edilen İzolatların Vitek 2 Sonuçlarına Göre Benzediği Bakteriler ve Oranları.....	61
3.8.	İzolatların 16S rDNA Dizilerine Göre Tür Tayinleri.....	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

1.1.	Kırmızı kanatlı böcek tuzağı	3
1.2.	<i>Xylosandrus germanus</i> ergin (a,b), larva (c).....	4
1.3.	<i>Xylosandrus germanus</i> zararı.....	5
1.4.	<i>Xylosandrus germanus</i> dal içerisinde açtıkları galeria	5
1.5.	Prokaryot ve ökaryot ribozom yapısı	25
1.6.	<i>Escherichia coli</i> 'nin 16S rRNA geni	27
2.1.	Alkol Feromon Tuzağı (a) ve Kırmızı Kanatlı Tuzak (b).....	31
2.2.	pGEM-T Easy vektörünün çoklu klonlama bölgesini, replikasyon orijinini, <i>LacZ</i> genini ve ampisilin direnç genini gösteren harita	39
3.1.	<i>Xylosandrus germanus</i> 'dan izole edilen izolatların 16S rDNA PCR ürünleri.....	63

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

bç	Baz çifti
CaCl ₂	Kalsiyum Klorür
dH ₂ O	Distile su
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	Deoksinükleotidtrifosfat
<i>E.coli</i> JM101	Escherichia coli JM101
EDTA	Etilen Diamintetraasetik Asit
FAME	Yağ Asit Metil Ester (Fatty acid methyl esters)
HCl	Hidroklorik asit
IPTG	Isopropyl-beta-D-Thiogalactopyranoside
LB	Lurian Bertani besiyeri
mg	Miligram
MIS	Mikrobiyal İdentifikasyon Sistemi
ml	Mililitre
mM	Milimolar
NaCl	Sodyum Klorür
NaOH	Sodyum Hidroksit
nm	Nanometre
O.D	Optik dansite
pGEM-T	Klonlama Vektörü
rDNA	Rekombinant Deoksiribonükleik Asit
RNA	Ribonükleik Asit
rpm	Revolutions per minute
rRNA	Ribozomal Ribonükleik Asit
S	Sverback Sabiti
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SIM	Sulfate, Indole, Motility Medium

T _m	Primerlerin Erime Sıcaklığı
TSA	Tryptic Soy Agar
X-gal	Bromo-Chloro-Indolyl-Galactopyranoside
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre

1. GİRİŞ

Yıllardır insanlar tarım zararlılar ve bitki hastalıklarıyla mücadele edebilmek için çeşitli mücadele yöntemlerine başvurmuşlardır. Hastalık ve zararlılarla mücadelede yaygın olarak kullanılan yöntemler arasında; kültürel önlemler ve kimyasal mücadele gelmekte, bunların da birçok dezavantajı bulunmaktadır. Bu nedenle günümüzde mevcut kontrol stratejilerinden daha ucuz, daha etkili ve hem insan sağlığına hem de çevreye daha az zararlı olan biyolojik kontrol uygulamalarına ağırlık verilmeye başlanmıştır (Kotan ve ark., 2002).

Ülkemizde fındık ihraç ürünlerinin en önemlilerinden biri haline gelmiş olup, ülkemize her yıl 600-900 milyon dolar döviz girdisi sağlamaktadır. Fındık hem önemli bir tarım ürünü hem de tarıma dayalı sanayinin önemli bir ham maddesidir. Özellikle Doğu Karadeniz’de istihdamı sağlayarak sosyal bir işleve katkıda bulunmakta ve ayrıca bölgenin yüksek eğimli arazilerinde toprak işlemeye dayalı tarımsal uygulamaların aksine toprakları da erozyondan koruyarak çevresel katkı sağlamaktadır (Yaşaroğlu, 2000).

Fındık üreten ülkeler arasında ithalat ve ihracat bakımından ilk sırada yer almamıza rağmen, birim alandan alınan ürün miktarına göre diğer üretici ülkelerin gerisinde bulunmaktayız (Kılıç, 1994). Ülkemizde verimin düşük olmasının başlıca nedenlerinden biri fındık zararlısı böceklerle mücadelenin tam ve etkili bir şekilde yapılamamasıdır. Her yıl fındık üretiminde %30-40 kayıp oluşturan bu zararlılar ile mücadele büyük oranda kimyasallar ile yapılmaktadır. Bununla beraber kimyasal insektisitler sadece zararlı böceklere değil aynı zamanda zararsız ve hatta faydalı böcekler ile diğer organizmalara da zarar vermektedir. Buna rağmen kimyasal insektisitler, ucuz ve çok sayıda böcek için kullanılabilirdiklerinden diğer alternatiflerine oranla daha çok tercih edilmektedirler. Bununla beraber, şu anda tüm dünyada kimyasal ilaçların yerine gelecekte biyolojik mücadele olarak bilinen bir yöntemin alacağı tartışılmaktadır (Türker, 1994).

Biyolojik mücadele; böceklerin yapmış olduğu zararları en aza indirmek için bu böceklerin doğal düşmanlarını kullanma olarak tanımlanabilir. Doğal düşman terimi parazitler ve predatörlerle birlikte hastalık oluşturan organizmaları da kapsar. Ancak hastalık yapan mikroorganizmaların kullanımı, genellikle “mikrobiyal mücadele” olarak adlandırılır (Peter, 1984).

Biyolojik mücadelenin büyük bir avantajı kimyasal mücadele yöntemleriyle bağlantılı birçok problemi ortadan kaldırmasıdır. Bu nedenle biyolojik mücadele ile karşılaştırıldığında ekolojik dengeyi bozmayan alternatif bir mücadele yöntemidir.

Kimyasal pestisitlerin olumsuz etkileri, predatör ve parazitoidler ile mikrobiyal insektisitler gibi biyolojik olarak güvenilir alternatiflerin araştırılmasına sebep olmuştur. Ziraî mücadele zararlı böceklere karşı kullanılan predatör ve parazitoidlerin yanında mikrobiyal insektisitlerin pek çoğu bakteriler, virüsler, mantarlar, nemotodlar ve protozoa gruplarına ait organizmalardır. Bu gruplar içerisinde bulunan bazı organizma veya biyolojik mücadele ajanları, zararlı böceklerin çoğalmalarını engelleyebildiklerinden ziraî mücadelede bunlardan istifade edilmektedir. Bunlar arasında virüsler en çok gelecek vadeden biyolojik mücadele ajanlarıdır (Cunningham, 1988).

Zararlı böceklerle mücadele de yaygın olarak kullanılan kimyasal insektisitler çevreye yapmış oldukları kötü etkilerden kurtulmak ve geleceğimizi güvence altına almak için biyolojik mücadele çalışmaları kaçınılmaz olmuştur. Biyolojik mücadelede kullanılan ajanlardan bakteriler zararlıların doğal düşmanları olup çoğunlukla sadece o zararlı üzerinde etkiye sahiptirler. Entomopatojen bakterilerin izole edilip geliştirilerek fındık zararlısı böcekler ile mücadelede kullanılması, sürdürülebilir fındık üretiminde kimyasalların kullanımını büyük ölçüde sınırlayabilecektir.

1.1 *Xylosandrus germanus*'un Hakkında Genel Bilgiler

Dr. Kibar AK ve ark. yaptıkları yeni araştırmalara göre *Xyleborus xylographus* (Kuzey Amerika'ya ait bir tür) ve *Lymantor coryli* adlı böcekleri sırasıyla *Xylosandrus germanus* ve *Xyleborinus saxeseii* olarak yeniden tanımlamışlardır (Yayın aşamasında, 2011).

Türkiye'de fındık bahçelerinde verimi düşüren birçok faktör vardır. Bu faktörlerden biri de fındık bahçelerinde bulunan zararlılardır. Fındık zararlıları kalite ve verime doğrudan veya dolaylı etki yapmaktadır. Birçok araştırmaya göre Türkiye'de fındığın en önemli zararlısının Fındık kurdu (*Curculio nucum* L.) olduğu bildirilmektedir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar ve gözlemlere göre ürün veren kaynağı kurutarak verimi azaltan ve fındık bahçelerinde yüksek populasyon oluşturan yazıcıböceklerde (Col: Curculionidae) önemli bir zararlı grubunu

oluşturmaktadır (Kurt, 1982; Işık, 1984; Ak, 2004a; Ak, 2004b). Giresun, Samsun ve Ordu illerinde yapılan bir çalışmada fındıklarda zararlı 4 tür [*Xyleborus dispar* (Fabricius), *Lymantor coryli* (Perris), *Xyleborus xylographus* (Blandford) ve *Hypothenemus eruditus* (Weastwood)] belirlenmiştir. Ancak en yaygın görülen türler *X. dispar* ve *L.coryli*'dir (Ak, 2004b).

Yazıcıböcekler sert ve yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarının ve çalı formundaki süs bitkilerinin polifag zararlısıdır. Ancak son yıllarda Orta ve Doğu Karadeniz bölgesinde fındık bahçelerinde özellikle sahil ve orta kuşakta popülasyonları hızla artarak fındık bahçelerinin elden çıkmasına neden olmaktadır. Önceleri Çarşamba ovasında taban suyu yüksek olan taban arazide zararlı olan yazıcıböcekler zamanla fındık üretiminin yoğun olarak yapıldığı Doğu Karadenize doğru yayılmıştır. Bu alanlarda fındığın en önemli ekonomik girdiyi oluşturması ve fındık dışında bölge için alternatif ürün olarak yerleştirilmeye çalışılan kivi ve Trabzon hurması ağaçlarına da saldırması bu zararlı grubunun önemini daha da artırmaktadır (Ak, 2004a).

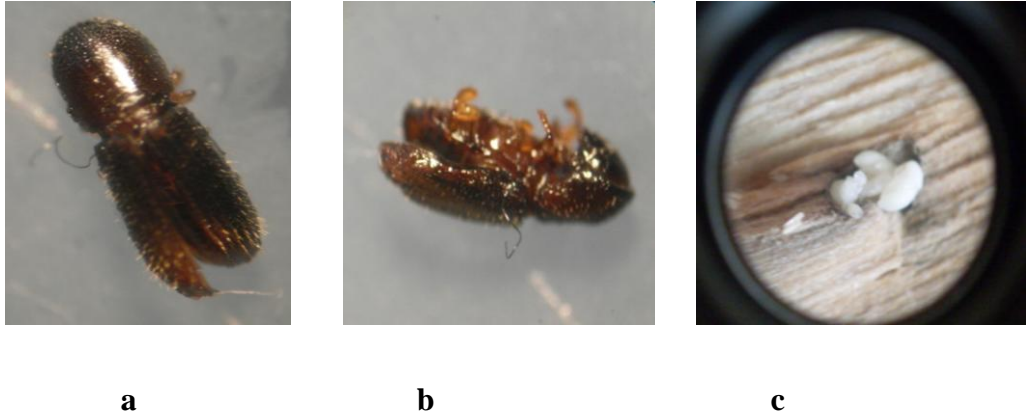
Xyleborus dispar, *Xylosandrus germanus* ve *Lymantor coryli*'nin biyolojilerinden ve ergin çıkış zamanlarının tam olarak belirlenememesinden kaynaklanan nedenlerden dolayı mücadelesinde istenen başarı sağlanamamaktadır. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda etkinliği ortaya konan ve Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı tarafından ruhsatlandırılan kırmızı kanatlı yapışkan tuzaklar kullanılmaktadır (Şekil 1.1) (Ak, 2004b).



Şekil 1.1. Kırmızı Kanatlı Böcek Tuzağı

1.1.1 *Xylosandrus germanus*'un Morfolojisi

Boyu 2.15-2.31 mm, eni 0.95-1.01 mm'dir. Boyu eninin iki katından biraz fazladır (2.3 katı). Pronotum siyah renkte, arka kısmı düz ve yarıdan itibaren düz olarak sonlanır. Pronotum'un ön yarısı granüllü (çukıntılı) arka tarafı pürüzsüz ve nokta şeklinde çukurcuklu. Elytra (kitinleşmiş kanat yapısı) koyu kahverengi, üzeri boyuna paralel nokta şeklinde çukurcuklardan oluşan şeritlidir (Şekil 1.2). Elytranın uç kısmı dik, dairemsi ve çizgi şeklinde çukurludur. Anten topuzlu, anten ve bacaklar açık kahverengindedir (Ak, 2004b).



Şekil 1.2. *Xylosandrus germanus* ergini (a,b), larvası (c)

1.1.2 *Xylosandrus germanus*'un Biyolojisi ve Zararı

Zararlı kışı galeriler içinde ergin olarak geçirmekte ve Mart ayından itibaren hava sıcaklıkları günlük ortalama 18-20 °C ye ulaşınca bu galerileri terk ederek dışarı çıkmakta ve yakınında bulunan uygun konukçuya (findık dallarına) geçmektedir.

İlkbahar döneminde (Mart-Nisan-Mayıs) meydana gelen çıkışlar sürekli olmamakta, sıcaklığa bağlı olarak ani çıkışlar şeklinde olmaktadır. Yaz dönemindeki çıkışlar (Hazirandan sonraki) ise Temmuz başından Ağustos ortasına veya Eylül ortasına kadar devam etmektedir (Ak, 2004b).

Uygun konukçuya geçen dişiler sürgün diplerinden girerek galeri açmaya başlamakta ve konukçudaki giriş deliğinden bitki özsuyunun akmasına neden olmaktadır. Fındık ağaçlarında bu akıntılar kolayca görülebilmektedir. Konukçuda iletim demetlerinin zarar görmesi ve özsu akıntısı nedeniyle bitki zayıf düşmekte ve zamanla kurumaktadır (Ak, 2004a).

Xylosandrus germanus sağlıklı ve kurumuş dallara saldırır, dalın gövdesinin herhangi bir yerinden girebilir, bulaşık dallarda saçma ile delinmiş gibi bir izlenim verir. Giriş yerlerinden çıkardıkları talaşların *X. dispar* ve *L.coryli* türlerinde olduğu gibi giriş kenarlarında birikmedikleri, talaşlarını kalıp şeklinde dışarı doğru çıkardıkları bildirilmektedir (Şekil 1.3). Dal içine giren erginin dairesi kısa bir galeri açmakta ve galerinin sonunda larva ve pupa dönemlerini geçirmek için küçük bir odacık meydana getirmektedir (Ak, 2004a).



Şekil 1.3. *Xylosandrus germanus* zararı.

Bu türde de ergin dişiler konukçuyu delerek odun dokusunda galeri açarak zararlı olur. Açılan galerilerden bitki özsu akması ve iletim demetlerinin tahrip edilmesi ile konukçunun kurumasına veya kolayca kırılmasına neden olur. Bu türün *X. dispar* dan farkı konukçusunda daha fazla giriş deliği açmakta ve belirgin bir şekilde özsu akıntısı meydana gelmeden bitkiyi kurutmaktadır (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. *Xylosandrus germanus* dal içerisinde açtıkları galerialar.

1.1.3 Yayılışı

Türkiye’de Karadeniz, Marmara, Ege ve İç Anadolu bölgelerinde, Rize, Trabzon, Giresun (Merkez, Bulancak ve Piraziz), Ordu (Merkez, Ünye ve Fatsa), Samsun (Terme, Salıpazarı ve Çarşamba), Gümüşhane, Kızılcahamam, Bolu, Ankara, Niğde, Muğla, Adapazarı, Sapanca-Gökdağı, İstanbul-Alemdağ, İstanbul-Belgrat Ormanı, Hassa-Kapuluyayla, Denizli-Gerzile, Kastamonu, Zonguldak, Çorum, Artvin, Ereğli, Bartın, Alaplı’da bulunmuştur (Işık 1984; Çanakçıolu ve Mol 1998; Semli 1998, Selmi 2003 ve Ak ve ark., 2004). Ayrıca bu çalışmada kullanılan zararlı böcekler Giresun-Yağlıdere (Umutbükü Köyü)’de tespit edilmiştir.

Dünyada Avrupa, Anadolu, Sibiryaya kadar Doğu Rusya, Kanada, ABD, İsviçre, Yunanistan, Hırvatistan, Bulgaristan, Almanya ve Güney İskandinavya’da bulunduğu saptanmıştır (Grüne, 1979; Işık, 1984; Kovach, 1986; Mani, 1986; Mani, 1992; Mani, 1990a).

1.2 Zararlı Böcekler

Tarım ve ormancılıkta en zararlı hayvanlar böceklerdir. Bu küçük canlılar insan ve hayvan sağlığı için de çok tehlikeli olmaktadır. Bu nedenle, insanların ulaşmak istedikleri amaca engel olan ve sağlıkları için tehlike yaratan böceklere zararlı böcekler denir.

Yeryüzündeki tür sayısı 1.250.000’nin üzerinde olan böcekler tüm hayvansal canlıların da %75’ini oluşturmaktadır. Bu kadar zengin türe sahip olan böceklerin hepsi zararlı değildir. Yaklaşık üçte biri zararlı, üçte biri yararlı, üçte biri de nötrdür. İnsanlara, hayvanlara hastalık taşıyarak sağlığı tehdit edenler, kültür bitkilerinde ürün kayıplarına neden olanlar, orman ve süs bitkilerine zarar verenler ile kentsel yaşamda sorun oluşturanlar zararlı kabul edilmektedir. Böceklerin yaptıkları zararlara, onlarla mücadele için harcanan para ve iş gücü ile kurulan tesislere yatırılan miktarları da eklemek gerekir.

Zararlı böcekler başta orman arazileri olmak üzere, tarlalarda, seralarda, süs bitkilerinde, koruma altına alınmış bölgelerde yetişen bitki türleri üzerinde, depolanmış ürünlerde ve daha birçok alanda büyük zararlara yol açarlar.

Böceklerin neden oldukları korkunç denebilecek derecedeki zarara büyük bir örnek olarak, birçok yıllar Avrupa, Asya ve Afrika’da zarar yapan çekirgelerden

Dociostaurus maroccanus (Thunb.) (Fas çekirgesi), *Calliptamus italicus* (L.) (İtalyan çekirgesi ve *Schistocerca gregaria* (Forsk.) (Sudan çekirgesi) gösterebilir. Bu çekirgeler bir kilometre kareye ortalama 120 000 000 adet (200 ton) rastlayabilecek miktarlarda büyük kitleler halinde çıkmış ve yüzlerce kilometre kare büyüklüğündeki alanları kaplayacak göç yolları üzerindeki vejetasyon örtüsünü büyük ölçüde zarara uğratmıştır (Demirbağ ve ark., 2008).

Çekirgeler zaman zaman Türkiye'de de büyük ekonomik kayıplara neden olmuşlardır. Örneğin, 1916 yılında çekirgelerin ve özellikle Fas çekirgelerinin Batı Anadolu'da yaptığı zarar sonucu 200.000 ton hububat ve 15.000 ton bakliyat mahvolmuştur. Ayrıca aynı çekirge, miktarı saptanamayan meyve ve sebze bahçeleriyle bağlarda da büyük zararlar meydana getirmiştir. Bu zararların, özellikle Birinci Dünya Savaşı'na da rastlaması, etki bakımından Türkiye için çok yıkıcı olmuştur.

Bir çöl çekirgesi sürüsü bir günde 80.000 ton bitki yiyebilir ki bu 200 milyon insanı doyurabilecek bir miktardır. 1954 yılında Kenya'da 200 km²'lik alanı kaplayıp tamamen kurutmuşlardır.

Kabuk böceklerinden *Ips sexdentatus* (Börner), 1938 yılında Trabzon ilindeki Santa, Meryemana ve Hamsiköy ormanlarında takriben 2350 hektar doğu ladini (*Picea orientalis*) ormanında zarar yapmış ve ortalama olarak 900 000 m³ tutarındaki ağacı yok etmiştir.

Son yıllarda Erzurum-Kars bölümünde bulunan Posof ormanlarında görülen *Dendroctonus micans* (Kug.) kabuk böceği, 1435 hektarlık doğu ladini - sarıçam ormanında %60 - 70 ladinlerde, %1 - 2 de çamlarda zarar yapmıştır. Tespitlere göre, bu zarar ladinlerde 95.608 m³ tutmaktadır.

İkinci Dünya Savaşı öncesi istatistiklerine göre, Almanya'da böcekler tarafından bir yılda yapılan zarar, 400–500 milyon marka ulaşmıştır. İngiltere'de ise böcekler yalnız tarımda her yıl 180 milyon Sterlin zarar yapmaktadırlar. 1957 yılı istatistiklerine göre Amerika Birleşik Devletleri'nde tarım, hayvancılık ve ormancılıkta böceklerin yaptığı zarar, yılda 4 milyar doları bulmaktadır. (Oğurlu, 2000).

1.3 Zararlı Böcekler ile Mücadele Yöntemleri

Bazı böcek türleri bitkiler üzerinde ciddi zararlara neden olmaktadır. Özellikle tarım ve orman ürünleri üzerinde bu böcek türlerinin her yıl tekrarlayan zararları milyarlarca lirayı bulan ürün ve iş gücünün boşa gitmesine yol açmaktadır. Bu zararlıların, bitkilerde yaptıkları çeşitli zararlarının, gerek doğal kuvvetler (doğal mücadele) gerekse insan yardımıyla (uygulamalı mücadele) önlenmesine veya hiç olmazsa azaltılmasına yönelik yöntem ve harcanan çabalara zararlılarla mücadele denir. Bu mücadele yöntemlerini çeşitli gruplara ayırmak mümkündür.

Doğal mücadele; insanın herhangi bir yardımı olmadan doğal kuvvetlerle böcek popülasyonlarının kontrol altına alınmasıdır. Çevre direncinin bir sonucu olarak böceklerin önemli bir kısmı ya çoğalmadan ya da çoğaldıktan sonra ölürlür. Böylece, zarar oluşturan böceğin ortamdaki sayısı ve oluşturduğu zarar düşük seviyede kalmış olur.

Yasal mücadele; yasal yollardan yararlanılarak zararlıların yayılmasını önlemektir. Karantina, ambargo, muayene veya sertifika uygulamak bunların başında gelmektedir. Bu tür uygulamalar bazen kıtalar ve ülkeler arasında olurken, bazen de ülkenin içerisinde bir bölgeye özgü uygulanabilir.

Mekanik mücadele; böcekleri çeşitli yöntemlerle toplamak, pusuya düşürmek, yem tuzakları kurmak, feromonlar kullanmak, tuzak odunları, hazırlamak veya gıda değişimi yapmak suretiyle gerçekleştirilen mücadele şeklidir.

Fiziksel mücadele; sıcak ve nemden yararlanılarak böceklerin öldürülmesi, elektrik veya radyoaktivite kullanarak böceklerin kısırlaştırılması işlemlerini içeren mücadele yöntemidir. Daha çok tarım alanlarında uygulanan bir mücadele yöntemidir.

Kültürel mücadele; bu zararlıların zarar yaptığı ağaçların karışıklığını ve kapalılığını düzenlemek, yetiştirme ve kesim tekniğine uymak, toprak bakımı yapmak, dayanıklı türler yetiştirmek.

Biyoteknolojik mücadele; biyoteknolojik yöntemlerle modifiye edilmiş organizmaların zararlılara karşı kullanılmasıdır. Örneğin, genetik olarak dayanıklı bitkiler.

1.3.1 Kimyasal Mücadele

Kimyasal maddeler (tarımsal ilaçlar) kullanılarak zararlıların etkinliklerinin azaltılması veya yok edilmesidir. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de zararlı böceklerin kontrolünde çeşitli kimyasal insektisitler yani kimyasal mücadele kullanılmaktadır. Fakat kullanılan bu kimyasal insektisitler doğal çevre ve hedeflenmemiş organizmalar üzerinde olumsuz etkilere sahiptir.

1.3.1.1 İsektisidlerin Yan Etkileri

Günümüzde tarım ve orman zararlısı böceklere karşı sıklıkla kullanılan insektisitler bitkilerde ve uygulanan alanda bulunan diğer canlılar üzerinde olumsuz etkilere sahiptir. İsektisidlerin zararlarını böcekler, insanlar ve çevre olmak üzere başlıca 3 başlık altında toplarır.

1.3.1.1.1 İsektisidler ve Böcekler

İsektisidler böcekler üzerinde iki önemli olumsuz etkiye neden olur. Bunlar zararlı böceklerin kimyasala karşı dirençlilik kazanması ve kimyasalların faydalı böcekler üzerinde neden olduğu olumsuz etkilerdir.

1. Kimyasala Karşı Dirençlilik

a. Davranışsal dayanıklılık: Bir kimyasalın uygulanması sonucu böceklerin normal davranışlarında bir farklılaşma olur, böcek ilaçlı kısımlardan kaçma ya da ilaçlı kısımlardan beslenmeme gibi eğilimler gösterebilir.

b. Yapısal dayanıklılık: Zararlının vücut özelliğinden kaynaklanan dayanıklılıktır. Vücudunun tüylü olması, kutikulasının kalın olması veya toplam lipid miktarının fazla olması kontak etkili ilaçlarda dayanıklı olmasını sağlar.

c. Fizyolojik dayanıklılık: Sentetik kimyasalların kullanımı sonucu böcek vücudunda ve kalıtsal yapılarında meydana gelen farklılaşmalar sonucu ortaya çıkmıştır.

d. Çapraz dayanıklılık: Bir böceğin bir insektisite karşı dayanıklılık kazandıktan sonra etki mekanizması birbirine yakın olan ilaçlara karşıda dayanıklılık göstermesi durumudur.

2. Faydalı Böceklere Etkileri

İnsektisidlerin etki mekanizması yönünden zararlı ve faydalı böcekler arasında bir farklılık yoktur. Ancak böceklerin etkilenme oranları bakımından farklılık vardır. Faydalı böcekler olarak kabul edilen predatör ve parazitler insektisidlerden daha fazla etkilenmektedirler. Ne yazık ki, parazit ve predatörlerdeki dayanıklılığın oluşumu, zararlı böceklerdeki kadar çabuk olmamaktadır. Bunun sonucu olarak, zararlı popülasyonları üzerinde dengeleyici olan predatörler ve parazitler ortadan kalkmakta ve zararlılar daha çabuk yayılmaktadır. Polinatör canlılar olan bal arıları ve yüksek yerlerde yürütülen arıcılık sektörü ciddi şekilde etkilenmektedir. Bölgemiz için bu duruma en iyi örnek arıcılığa olumsuz etkileridir. Bölgede yürütülen arıcılık çalışmaları için yüksek yerler tercih edilmekte ve bu bölgeler orman alanlarının yayılışı ile kesişmektedir.

1.3.1.1.2 İnsektisidler ve Çevre

İnsektisidler kullanıldıkları bölgede toprak ve su içerisinde kalıntılar bırakarak bu ekosistemlerde yaşayan canlıları doğrudan veya dolaylı olarak etkilemektedir.

Toprak mikroorganizmalarının toprak verimliliğinde etkileri çok büyüktür. Bitkilerin tek başına alamayacakları bazı maddeleri bu canlılar tarafından ekstrakte edilmektedir. İnsektisitlerin toprakta birikmesi sonucu solucanların, toprak kenelerinin ve sineklerin popülasyonunda azalmalar meydana gelmekte ve toprak canlıları için ana besin maddesi oluşturan toprak mikroorganizmalarının spektrumu da değişmektedir.

Toprak, hava, su üçlüsünden herhangi birinde olan bir bulaşma diğer ikisini de etkiler. İçme suyu ihtiyacının kuyulardan sağlandığı yerlerde ilaçlama artıklarının değişik yollarla ve yağmurlarla yıkanarak kuyulara ulaşması kirlenmeye neden olur. Kent sularının çıktığı kaynaklar, baraj gölleri ve göletler, bu ilaçların ulaşması sonucu kirlenmektedir. Bir kentin suyunu sağlayan baraj gölleri bazen birçok akarsu

tarafından beslenir. Bu akarsuların çevresindeki tarımsal alanların ilaçlanması sonucunda akarsular ve dolayısıyla barajlar kirlenmiş olur.

1.3.1.1.3 İsektisitler ve İnsan

İsektisitler doğrudan ya da dolaylı olarak insan sağlığını etkilemektedir. Bu etkiler akut ve kronik toksisite olarak iki grup altında toplanabilir. Bir kimyasalın bir kez veya kısa bir zaman diliminde birkaç kez alınması sonucunda vücutta oluşan hasar akut toksisite olarak tanımlanır.

Kronik toksisite ise bir kimyasalın akut toksisiteye neden olmayacak kadar düşük dozlarda uzun süre alınması halinde, bunun sıcakkanlılarda meydana getirdiği fizyolojik düzensizlik olarak tanımlanır (Demirbağ ve ark., 2008).

1.3.2 Biyolojik Mücadele

Zararlı, hastalık ve yabancı otların başka canlılar yardımıyla ekonomik zarar seviyesinin altında tutulmasıdır. Yani doğada zararlı olan canlıları tamamen yok etmeden, doğal dengeyi koruyucu, onarıcı ve destekleyici önlemler almaktır.

Bilindiği gibi bitkiler başta olmak üzere hayvanlar ve insanlara değişik yollarla zarar veren organizmalara karşı kullanılan ilaçlar, insan ve hayvan sağlığının tehdit edilmesi, gıda maddelerindeki ilaç kalıntıları, doğal düşmanların ve yaban hayatın öldürülmesi sonucu doğal dengenin bozulması, ana zararlı olmayan bazı potansiyel zararlıların ana zararlı durumuna geçmesi, kültür bitkilerinde fitotoksiteye neden olması, sık ve gereksiz ilaçlamalarla mücadele masrafının artması, hava–su–toprak kirlenmesi vb. birçok olumsuzlukları ortaya çıkarmaktadır. Bu olumsuzlukları gidermek veya en aza indirmek için de kimyasal mücadeleye alternatif çağdaş, çevre dostu yöntemlere geçilmekte ve bunların da en başında “Biyolojik Mücadele” gelmektedir.

1.3.2.1 Biyolojik Mücadelenin Amacı ve Önemi

Tarımsal üretim sırasında ürünü hastalık ve zararlılara karşı korumak amacıyla çeşitli mücadele yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden biri olan kimyasal mücadele son zamanlarda; çevre kirliliği, hedef alınmayan organizmaların

zararlı duruma geçmesi, hedef alınan zararlılarda dayanıklılık oluşumu, doğal düşmanların yok edilmesi gibi insan ve çevre sağlığı ile ilgili bir takım olumsuzluklara neden olmaktadır. Bu nedenle kimyasal mücadele yerine alternatif yeni teknikler araştırılmaktadır. Biyolojik mücadele alternatif mücadele yöntemlerinin başında gelmektedir.

Biyolojik mücadeleyi asıl önemli kılan, ekosistem dengelerini koruması ve zararlı türler üzerinde kalıcı ve dinamik bir etki meydana getirmesidir. Bu iki özellik diğer mücadele yöntemlerinde bulunmaz (URL-1).

1.3.2.2 Biyolojik Mücadele Materyalleri

Günümüzde zararlı böceklerin zararlarını doğal ekosistemi fazla değiştirmeksizin en aza indirmek amacıyla çeşitli organizma veya bu organizmalara ait ürünler biyolojik mücadele amacıyla kullanılmaktadır.

Parazitoid ve predatörler ile biyolojik mücadele de; parazit, bir canlının üzerinde veya içerisinde yaşantısını devam ettiren ve üzerinde yaşadığı konakçının gelişmesini engelleyen organizmalardır. Eğer konağa zarar veren organizma konağı ölmesine neden oluyorsa bu parazitoid olarak adlandırılır. Ayrıca, doğal düşman kuş, karınca vs. gibi bir hareketli organizma ise predatör adını alır. Parazitoid ve predatörler zararlı böceklerin kontrolünde yüzyıllardan beri kullanılmaktadır. Özellikle son yüzyılda bunların etkili ve güvenli bir şekilde kullanılabilmesi konusunda önemli araştırmalar yapılmıştır.

Virüsler ile biyolojik mücadele de; böcek virüslerinin Lepidoptera, Orthoptera, Coleoptera, ve Diptera gibi dünyanın en önemli tarımsal zararlılarını içeren takımlarından hastalık etmeni olarak izole edilmeleri, bu virüsleri çok önemli kılmaktadır. Virüsler böceklerin tabiattaki doğal düşmanları olup, özellikle bakülovirüsler sadece böceklerde hastalık oluşturdıklarından güvenli biyolojik mücadele materyali olarak kullanılmaktadır. Şimdiye kadar bakülovirüslere karşı herhangi bir dirençliliğe rastlanmamıştır ve bu virüslerin moleküler biyolojileri detaylı bir şekilde çalışılmıştır.

Virüslerin biyolojik mücadele olarak kullanılmasının pek çok sebebi vardır. Bunların başında dar konak spektrumuna sahip olmaları yani doğrudan hedefledikleri organizmalar üzerinde etkili olmaları insanlarda hastalık oluşturmamaları ve kolayca degradasyona uğrayabilmeleri gelmektedir. Bu avantajlarının yanında bazı

dezavantajlarından dolayı viral insektisitlerin geliştirilmesi ve kullanımı sınırlanmıştır. Virüslerin bakteriler gibi besiyerlerin içerisinde üretilmemesinden dolayı canlı böceğe veya hücre kültürlerine ihtiyaç vardır. Bu nedenle üretim hem pahalı hem de zaman alıcıdır (Demirbağ, 1997).

Funguslar ile biyolojik mücadele de; böceklerin mücadelesi konusunda fungusların kullanımı oldukça yenidir. Çok sayıda fungus böceklerle düzenli olarak birlikte yaşamaktadır. Bunların bazıları böceklerde ciddi hastalıklara sebep olur. Henüz pek azı mücadele etmeni olarak ticari preparatlar şeklinde kullanılmaktadır. Bunların daha ileri düzeyde kullanılmaları konusunda bazı şüpheler vardır. Bu şüphelerden biri enfeksiyonun sindirim sisteminden ziyade ilk olarak böcek kutikulasında meydana gelmesidir. Yenilerek alınan bakteri ve virüslerin aksine fungusların toksitesisi fungal sporların konak kutikulası ile temasa girmesiyle olur.

Nematodlar ile biyolojik mücadele de; böceklerde parazit olarak yaşayan ve bazı durumlarda ölümlerine yol açan birçok nematod türü bulunmaktadır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda 302'den fazla nematod familyasına ait türlerin böcekler ve diğer omurgasız hayvanlarla ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Tüm nematodlar içinde böceklerin biyolojik mücadeleleri için çalışılan nematodlar Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarına aittir ve özellikle son yıllarda bu familyalara olan ilgi artmıştır (Gaugler vd., 1997).

Protozoalar ile biyolojik mücadele de; hem omurgalılarda hem de omurgasız hayvanlarda enfeksiyon oluşturabilirler. Protozoa gruplarından bazıları biyolojik mücadelede kullanıma açısından gelecek vadede birçok türü barındırır.

Entomopatojenik protozoonlar kommensalden patojeniye varan geniş bir ekolojik ilişki gösterirler. Böcek popülasyonlarındaki doğal biyolojik ilişkiler bakımından önemli olmalarına rağmen mikrobiyal insektisitler olarak kullanılmaları bakımından fazla etkili olamamaktadırlar.

1.3.2.2.1 Bakteriler ve Biyolojik Mücadele

Entomopatojenik bakteriler, böceklerde kitle halinde ölümlere neden olurlar (Çanakçıoğlu, 1998). Böceklerde patojen olan bakterileri spor oluşturanlar ve spor oluşturmayanlar olmak üzere iki kısma ayırmak mümkündür. Spor oluşturma böcek patojeni bakteriler, Enterobacteriaceae, Pseudomonaceae ve Micrococcaceae familyalarına dâhildir. Özellikle son 50 yılda yapılan çalışmalarda, bu familyalara ait

birçok bakteri türü böceklerden izole edilmiş ve bazılarının izole edildikleri böcekler üzerinde hastalık etmeni olduğu belirlenmiştir. Bu bakterilerden en önemlisi ise *Bacillus thuringiensis*'tir.

Son yıllarda patojenik potansiyeli bir hayli yüksek bir bakteri olan *Bacillus thuringiensis* üzerinde durulmaktadır. Bu bakterilerin biyolojik mücadelede diğer bakterilere nazaran daha ümit verici olduğu ifade edilmektedir. *B. thuringiensis*'in çok sayıda varyetesi vardır. Bunlar başta Lepidoptera olmak üzere Diptera ve Coleoptera türlerine karşı da kullanılmaktadır. Bu bakterilerin spor ve kristal preparatları kullanılmaktadır. *B.thrugiensis*'ten hazırlanan karışımların uygulandığı böcekler bunların ihtiva ettiği toksinler sebebiyle ölürler (Kati ve ark., 2005). Cry adı verilen proteinler sayesinde birçok zararlı böceğe karşı etkin bir şekil kullanılmaktadırlar. Bu proteinlere ise genel anlamda mikrobiyal insektisit denilmektedir (Sezen ve Demirbağ, 1999; Yaman ve Demirbağ 2000a, 2000b; Demir vd., 1992).

Mikrobiyal insektisit, bir organizmanın ürettiği, belirli bir böcek türünü öldüren bir toksin olabileceği gibi, belirli bir böceği ölümcül olarak enfekte etme kabiliyetine sahip olan bir organizma da olabilir. En çok çalışılan, en etkili ve en sık yararlanılan mikrobiyal insektisitler *B. thuringiensis* türleri tarafından üretilen kristal (Cry) proteinleridir (Ananda,1996). Bu bakteri, her biri belli bir böceği öldürebilen farklı bir toksini üreten birçok suş ve alttürü bulunmaktadır. Örneğin *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*, Lepidoptera grubu larvaları (güve, kelebek, lahana kurtları, ladin tomurcuk kurtları için öldürücü etkiye sahiptir (Held, 1982). *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* ise Diptera'lar yani sivrinsek ve karasinekler üzerinde etkilidir (Liu, 1993).

1.4 Bitki Patojeni Bakteriler

Dünyadaki insan nüfusunun hızla artması, beraberinde beslenme sorununu da ortaya çıkarmıştır. Ülkeler gıda ihtiyaçlarını temin etmek için tarıma dayalı ham maddeleri satın almak zorunda kalmışlardır. Bu da ülke ekonomileri için büyük miktarlarda paraların harcanması anlamına gelmektedir. Bu bakımdan büyük bir potansiyele sahip olan ülkemiz, tarımsal üretimini hızla artırmak ve daha fazla ve kaliteli ürünü dış pazarlara satmak zorunluluğundadır. Ülkemizde yaklaşık 27 milyon hektar alanda tarım yapılmaktadır. Bu miktarın artırılması mümkün olmadığına göre,

kaliteli ve fazla miktarda ürün elde etmenin yolu, tarımsal potansiyellerden ve teknolojiden en üst düzeyde yararlanarak, birim alandan en fazla ürün elde etmekten geçmektedir. Üretimin kalite ve miktarının artırılmasında en önemli kriterlerden biride, hastalık ve zararlılar ile mücadele ederek kayıpların en aza indirilmesidir (Anonymus, 1995a).

Ülkemizde bitkilerde ve bitkisel ürünlerde 400'ün üzerinde hastalık, zararlı ve yabancı otun kayıplara sebep olduğu bildirilmektedir. Hasat öncesi tarladaki ürün kayıplarının % 35 oranında olduğu, bunun % 14'inin zararlılardan, % 11'inin hastalıklardan, % 10'unun da yabancı otlardan ileri geldiği, hasat sonrası da % 14 oranında ilave kayıplar olduğu bildirilmektedir (Bulut vd., 1996).

Bağ Kanseri Hastalığı etmeni *Agrobacterium vitis*'in, asmaların kök ve kök boğazlarında urlar oluşturarak hastalığa neden olduğu, özellikle genç fidanlarda ve yeni tesis edilen bağlarda ilk yıllarda ölümlere neden olduğu bildirilmektedir (Benlioğlu, 1998; Öktem, 1972). İç karantina, dış karantina ve sertifikasyon listemizde yer almakta olan ve toleransı sıfır olan bu etmenin üretim parsellerinde bir bitkide bile görülmesi halinde, parseldeki bütün bitkilerin imha edilmesi gerekmektedir. Ayrıca bu parsellerde 5 yıl süreyle asma üretimine izin verilmemektedir.

Bakteriyel Kanser ve Solgunluk Hastalığı etmeni *Clavibacter michiganensis* pv. *michiganensis*'in domates bitkilerinin çiçeklenme dönemi başlangıcında bitkilerde solgunluğa neden olduğu, ileri devrelerde yara ve çatlakların oluştuğu, etmenin tohuma geçerek tohumların çimlenme gücünü yitirmesine neden olduğu, erken enfeksiyonlarda ürün almanın imkansız olduğu, yapılan araştırmalarda % 80'e varan oranlarda zarara neden olabildiği bildirilmektedir (Anonymus, 1995b).

Fasulyelerde Bakteriyel Solgunluğa neden olan *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*'in özellikle genç bitkilerde erken enfeksiyonlarda bitkilerin tamamen ölümüne neden olduğu, USA'da fasulyelerde en önemli hastalıklardan biri olduğu ve bazı yıllarda ürünün tamamının kaybına neden olduğu rapor edilmektedir (Smith, 1997).

Ülkemizin hemen her bölgesinde görülen ve çok tahripkâr olan Yumuşak Çekirdekli Meyve Ağaçlarında Ateş Yanıklığı Hastalığı etmeni *Erwinia amylovora*'nın, tüm dünyada karantinaya tabi olduğu, ilk belirtilerin çiçeklerde görüldüğü, tüm çiçek demetinin suyla haşlanmış gibi görünüm alıp, meyve oluşumunun tamamen engellendiği, sadece o yılın ürününü etkilemekle kalmayıp,

ağaçlarda sürgün, ana dal ve gövdeyi de hastalandırarak gelecek yıllardaki ürünü de etkilediği, hatta kısa sürede büyük ağaçları bile kurutabildiği bildirilmektedir (Anonymus, 1995a).

Patates Yumuşak Çürüklük Hastalığı etmenleri *Erwinia caratovora* subsp. *atroseptica* ve *E. caratovora* subsp. *caratovora* patates yumrularında çürümeye neden olmasının yanında, hastalıklı bitkilerin ölümü, depoda yeni bulaşmalara ve hızlı bir çürümeye sebep olması nedeniyle önemli ölçüde ürün kaybına neden olduğu belirtilmektedir (Anonymus, 1995b).

Domates Bakteriyel Benek Hastalığı etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun ise, özellikle ilk çiçeklerde hastalığın görülmesi halinde, meyve tutumunu engellediğinden büyük ürün kaybına neden olduğu, meyvelerde lekelenmelere neden olarak domatesin pazar değerini düşürdüğü, dünyada ve ülkemizde domates yetiştirilen alanlarda, bilhassa örtü altı alanlarında yaygın olduğu bildirilmektedir (Anonymus, 1995b).

Domates Bakteriyel Leke Hastalığı etmeni *Xanthomonas vesicatoria*'nın da domatesler de önemli zararlara neden olduğu, özellikle çiçek dönemindeki enfeksiyonlarda ürün kaybının fazlaştığı, hastalıklı meyvelerin pazar değerlerinin çok düşmesi nedeniyle de zararın arttığı belirtilmektedir (Anonymus, 1995b).

Fasulye Hale Yanıklığı Hastalığı etmeni *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*'nın ilk belirtilerinin genç yapraklarda ortaya çıktığı, kapsülün enfeksiyona uğraması halinde, iletim demetleri yoluyla tohumunda enfekte edildiği, özellikle kuru Fasulye çeşitlerinde önemli zararlara neden olduğu belirtilmektedir (Anonymus, 1995b).

Buğday Kavuz Çürüklüğü Hastalığı etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*'in ağır enfeksiyonlarında başakların boş kaldığı veya tanelerin buruşuk ve şekilsiz olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, bu etmenin, ürün kayıplarına ve ekmeklik kalitesinin düşmesine neden olduğu, nadir olarak salgın yaptığı ve bu nedenle ekonomik öneminin düşük olduğu bildirilmektedir. Ülkemizde bu etmenin varlığı bilinmemektedir (Toben, 1989).

Buğdayda, sarı başak çürüklüğü ve başak yanıklığına neden olan *Rathayibacter tritici*'nin *Anguina tritici* isimli nematod ile taşındığı, nematod ile birlikte % 60,8'e varan oranlarda zarara neden olabildiği bildirilmiştir. Yine buğday başaklarında bakteriyel zamklanmaya neden olan *Rathayibacter iranicus*'un ise ekonomik öneminin bilinmediği belirtilmektedir (Fucikovsky, 1997). Ülkemizde bu

etmenler ile ilgili Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü'nde bir proje yürütülmüş, *R. tritici*, *R. iranicus*'un ülkemizdeki varlığı ilk defa belirlenmiş, ayrıca dünya literatürü için yeni bir alt tür olan *R. iranicus* subsp. *iranicus*'un varlığı tespit edilmiştir (Altundağ, 2004).

Bakteriyel Çizgi Hastalığı etmeni *Xanthomonas translucens* pv. *translucens*'in ise buğdaylarda % 40'lara varan oranda verim kaybına neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bu bakteri ülkemizde yalnızca Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nün deneme parsellerinde tespit edilmiştir (Demir, 1992).

Lahana Siyah Damar Çürüklük Hastalığı etmeni *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*'in erken dönemde yapraklarda kurumaya neden olduğu, en tipik belirtisinin ise damarların siyahlaşarak çürümesi olduğu, ileri dönemlerde bitkilerin ölebildiği ve % 90'lara varan oranlarda zarara neden olduğu belirtilmektedir (Tebliğ, 1995/3) .

Ülkemizde büyük çoğunluğunun varlığı bilinen bu hastalıkların zaman zaman verim kayıplarına neden olduğu bildirilmektedir. Ancak, bu hastalıklardan dolayı meydana gelen ürün kayıpları ile ilgili detaylı bir çalışma yapılmamıştır. Ateş yanıklığı etmeni *E. amylovora*'nın 1985 yılında ülkemizde ilk tespiti ile ülkesel bir survey programı başlatılmış ve hastalık tespit edilen bütün ağaçlar kesilerek imha edilmiştir. Bir başka bakteriyel hastalık etmeni olan *A. vitis* (Bağ Kanseri) sebebiyle birçok meyvecilik üretme istasyonu'nda üretilen asmalar imha edilmiş ve bazıları kapatılmak zorunda kalmıştır. Koruyucu olarak ilaçlama dışında kimyasal mücadelesi bulunmayan bu etmenler ile mücadele de ancak hazır bakırlı ilaçlar kullanılmaktadır. Bu ilaçlar ise, genelde durgun dönemde bitkiler uyanmadan budama işleminden sonra yapılmaktadır. Bakteri hastalıklarıyla mücadelede fazla alternatif olmaması dolayısıyla yeni alternatiflerin bulunması ve uygulamaya verilmesi daha fazla önem kazanmaktadır.

1.5 Zararlı Böceklerdeki Patojen Mikroorganizmaların Belirlenmesi

1.5.1 Makroskobik İnceleme

Mikroorganizmalar tarafından enfekte edilen böceklerde, patojenin özelliğine bağlı olarak bazı karakteristik hastalık belirtileri görülür. Bu belirtileri çoğu kez

makroskobik olarak gözlemlenmek mümkündür. Bu belirtiler; renk değişimleri, fiziksel değişiklikler ve davranış anormallikleri olarak görülmektedir.

Renk değişimleri, enfeksiyonlu böceklerin belirlenmesiyle ilgili olarak en kolay gözlemlenebilecek hastalık belirtileridir. Canlı ve ölü böceklerde gözlemlenebilirler. Canlı böceklerde, entomopatojenlerin neden olduğu renk değişimi, bu böceklerin integumentlerinin şeffafdan yarı şeffafa dönüşmesiyle ilgilidir (beyaz sinekler, hymenopter larvaları ve birçok sucül böcekte olduğu gibi). Örneğin; Irisdescent virüslerle enfekte olan çoğu Lepidoptera larvalarının renkleri beyazdan, mavimsi iridescent renge dönüşür. Ölü böceklerdeki renk değişimleri ise beyazdan, griye, maviye, sarıya, yeşile, kahverengine ve siyaha dönüşme gibi büyük bir çeşitlilik gösterebilir. Bazı nematod ve fungus türlerinin enfeksiyonları sonucu, konak böceğin bağışıklık sisteminin bir cevabı olarak kutikula üzerinde melaninleşmiş bölgeler (siyah lekeler) görülebilir (Lacey ve Brooks, 1997).

Entomopatojenlerin etkisiyle enfekte olmuş böceklerde bazı fiziksel değişimler görülebilirler. Örneğin bazı fungus türleri böcek vücudunun yüzeyinde aşırı ve renkli bir gelişim gösterebilirler. Enfeksiyon sonucu ölmüş böceklerin kavruları çoğu kez mumyalaşır, yumuşar, sıvı hale geçer, katılaşır veya kurur. Virüs enfeksiyonları sonucu birçok anatomik bozukluk ortaya çıkabilir (Lacey ve Brooks, 1997).

Ayrıca entomopatojenlerle enfekte olan böceklerde bazı davranış bozuklukları gözlemlenebilir. Bu bozukluklar arasından çok obur olan böceklerin beslenmeyi bırakması, agresiflik, alışılmadık yayılım ve çiftleşme davranışları sayılabilir. Örneğin; virüsler tarafından enfekte edilen bazı böcekler konak bitkinin en yüksek noktasına tırmanır ve bacaklarından asılarak ölürler (Lacey ve Brooks, 1997).

Arazi çalışmalarında canlı, hastalıklı veya ölü böcekler toplanırken bu semptomlar göz önünde bulundurulmalı ve not edilmelidir. Çoğu durumda bu makroskobik incelemeler hastalığın doğru teşhisini yapmak için gerekli bilgiyi vermektedir (Lipa, 1975).

1.5.2 Mikroskopik İnceleme

Makroskopik incelemenin sonuçlandırılmasından sonra mikroskopik incelemeye başlanır. Böceklerde bulunan patojenlerin belirtileri ve mikroskopik incelemeleri patojenin grubuna göre farklılık gösterir.

Bakterilerin karakteristik özelliklerini sıralamak zordur. Çünkü bir çok bakteri türü sağlıklı böceklerin vücudunda enfeksiyon oluşturmaksızın yaşayabilir. Bakteriler böceğin hemolenfinde bulunurlar. Böceğin kutikulasında herhangi bir hasar meydana getirmezler. Bu nedenle diğer entomopatojenlerin meydana getirdikleri makroskopik değişmelere bakterilerde pek sık rastlanmaz. Spor oluşturan bakterilerin enfeksiyonları daima böcek için öldürücüdür. Spor oluşturan çubuk şekilli bakteriler ışık mikroskopu altında gözlemlenebilir. Bir bakterinin neden olduğu bir hastalıktan şüphelendiğinde, böcek hemolenfinden numuneler hazırlanarak genel besiyerleri üzerine ekim yapılmalıdır.

Virüslerin neden olduğu enfeksiyonlarda, bozulma ve hücre dağılması hipodermiste kolaylıkla görülebilir. Yağ dokularında kristale benzer inklüzyon yapıların varlığı viral bir hastalığın olduğunu gösterir.

Viral hastalıktan şüphelendiğinde uygulanması gereken diğer bir yöntemde boyamadır. Giemsa boyama yöntemi, kolay uygulanabilirliği bakımından tercih edilen bir yöntemdir. Bu yöntem Baculovirüs enfeksiyonları için negatif bir yöntemdir. Yani ışık mikroskopu altında Baculovirüslerin polihedraları giemsa ile boyanmazken, Entomopoxvirüsler açık mavi renge boyanır (Lacey ve Brooks, 1975).

Mantarlar, böcekleri tüm gelişim evrelerinde enfekte edilebilir. Oluşturdukları hiflerle konak böceğin kutikulasını sararlar. Nemli ortam şartlarında spor oluşumu da böcek dış yüzeyinde gözlenebilir. Bu sporlar çeşitli renklerde olabilir. Bu nedenle mantar enfeksiyonları çoğu kez makroskopik incelemelerle tespit edilebilir. Böcek dış yüzeyinde çimlenen sporlar, enzimler veya mekanik baskılarla vücut içerisine girebilirler. Böcek hemoselinde kolayca çoğalabilirler. Bu nedenle kısa ve uzun hifler halinde hemoselde gözlenebilirler. Maya benzeri hücreler (blastospor) halinde tüm böcek vücuduna yayılabilirler (Humber, 1997).

Nematodlar bazen böcek kutikulasında gözlenebilir. Fakat nematodların belirlenmesi için çoğu kez böceğin diseksiyonu gerekir. Eğer böcek ölü ise, gliserin ya da laktofenol içerisinde diseksiyon yapmak daha uygundur. Malpigi tüpleri, hemosel, bağırsak gibi kısımlar incelenerek nematod varlığı tespit edilir. Böceklerde

bulunan nematodların boyutları 1mm ile birkaç santimetre arasında değişir. Cins ve tür düzeyinde tanımlama için ergin nematodların belirlenmesi, ölçümlerinin yapılması ve çeşitli kısımlarının fotoğraflanması gerekir (Kaya ve Stock, 1997).

Protozoa enfeksiyonalarının belirlenmesi için böceğin diseksiyonu gerekir. Yağ dokusu, malpigi tüpleri, orta bağırsak epiteli, hemolenf ve gonadlar faz kontrast mikroskobu altında incelenmeli ve vejetatif formlar ve sporlar araştırılmalıdır. Olgun sporlar hemolenfte çok kolayca görülebilir. Bazı durumlarda protozoa sporlarını, fungus sporlarından ayırmak için Giemsa boyaması gerekebilir. Çoğu entomopatjenik protozoa türünün detaylı bir şekilde araştırılması için enfekte edilmiş böcek dokularının geçirmeli elektron mikroskobu (TEM) altında incelenmesi gerekir (Undeen ve Vavra, 1997).

1.6 Bakterilerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler

1.6.1 Nümerik Taksonomi

Nümerik taksonomi, bakterilerin karakterizasyonu ve sistematığının yapılması amacıyla hazırlanana bir dizi testi içerir. Bu testler, mikroorganizmalar arasındaki farklılıklardan faydalanarak doğru taksonomik kategorilere yerleştirilmelerini sağlar. Bu testler sonucunda bakterilerin, morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve büyüme özellikleri ortaya çıkarılır.

Bakterilerin tür tayinlerinde ilk ortaya çıkarılması gereken özellik, hücre şeklidir. Hücre şeklinin ortaya çıkartılması için basit boyama yapılır ve mikroskop altında incelenir (Benson, 1985). Bakteriyolojide kullanılan en önemli ayırt edici boyamalardan birisi de Gram boyamadır. Bu boyama yöntemi, bakterilerin hücre duvarındaki farklılığın ortaya çıkarılması amacıyla yapılır. Gram boyama sonucuna göre bakteriler, Gram pozitif ve Gram negatif olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Bu özellik bakterilerin sınıflandırılmasında kullanılan en önemli kriterlerden birisidir (Sneath, 1986).

Bazı bakteriler, ortam şartları yaşam için uygun olmayan hale geldiğinde, endospor olarak adlandırılan yeni bir hücre içi yapı meydana getirirler. Bir bakterinin endospor oluşturup oluşturmadığının bilinmesi ve varsa endosporun pozisyonu taksonomik açıdan önemlidir. Bu özelliklerin belirlenmesi amacıyla endospor boyama yapılır.

Bazı bakteriler hücrelerin dış yüzeyinde ekstraselüler polisakkaritlerden oluşan ve kapsül adı verilen bir yapıya sahiptir. Bu yapının varlığı veya yokluğu sistematikte kullanılan karakterlerden biridir. Bunu belirlemek için kapsül boyama yapılır (Cappuccino ve Sherman,1992).

Bakterilerin büyüme özellikleri, koloni morfolojisi, pigment oluşumu ve üreme süresi gibi karakterlerdir. Bu karakterlerden her biri sistematik açıdan büyük önem taşır ve mikroorganizmanın farklı taksonomik katagoriye yerleştirilmesini sağlar.

Bakterilerin sınıflandırılmasında kullanılan fizyolojik çalışmalarda büyüdükleri ve yaşadıkları ortamın pH'ı, tuzluluğu, sıcaklığı ve oksijen miktarı gibi kriterler kullanılmaktadır.

Sıcaklık, hücresel enzimler üzerinde etkili olarak, kimyasal reaksiyonların hızını etkilemektedir. Genellikle, bütün hücre tiplerinde enzimatik aktivitelerin meydana geldiği optimum sıcaklık 20-40°C civarındadır. Fakat bazı bakteriler (örneğin, termofilik bakteriler) ısıya dayanıklı enzimler üretirler. Dolayısıyla çok daha yüksek sıcaklıklarıda hücresel aktivitelerini devam ettirebilirler. Yine bazı bakterilerin düşük sıcaklıklarda (örneğin 4 °C'de) büyüebildikleri bilinmektedir (Palleroni, 1980). Bu nedenle sıcaklık toleransı bakteri sistematğinde kullanılan bir kriterdir.

Hücresel enzim aktivitelerini etkileyen bir diğer fiziksel etki de pH'dır. Hücrelerin genellikle yaşayabildiği optimum pH, nötral pH olan 7'dir. pH'da meydana gelen artış ve düşüşlerin her ikisi de, hücrelerdeki kimyasal reaksiyon hızlarının düşmesine yol açar. Bunun nedeni hücresel enzimlerin bozulmasıdır (Palleroni, 1986). Fakat bazı bakteri türleri pH değişimlerine karşı toleranslıdır. Yüksek ve düşük pH derecelerinde yaşayabilirler. Bu özellik sistematik açıdan önemlidir.

Çoğu bakterinin hayatlarını devam ettirebilmek için gerekli olan gaz atmosferik oksijendir. Mikroorganizmalar atmosferik oksijen ihtiyacına göre aeroblar, mikroaerofiller, zorunlu aeroblar, aerotolerant anaeroblar ve fakültatif anaeroblar olarak gruplandırılmaktadır (Cappuccino ve Sherman, 1992).

1.6.2 Yağ Asit Profillerine Göre Bakterilerin Tanımlanması

Yağ asitleri, hidrokarbon $[CH_3-(CH_2)_n-COOH]$ yapısında olan, tek veya dallanmış zincire sahip makromoleküllerdir. Yapılarındaki farklılık dikkate alındığında yağ asitleri, tek zincirli ve dallanmış yağ asitleri olmak üzere iki gruba ayrılabilir. Biyolojik sistemlerde tek zincirli yağ asitleri oldukça yaygındır. Fakat prokaryotik hücrelerde dallanmış zincir oluşturan yağ asitlerine de sıkça rastlanır. Yağ asitleri; içerdikleri karbon atomlarının sayısına, karbon atomları arasındaki çift bağ sayısına, hangi karbon atomları arasında çift bağ olduğuna ve karbonların hidrojen atomları tarafından doyurulmuş olup olmamalarına göre farklı isimler alırlar. Prokaryotik hücrelerde bulunan yağ asitlerindeki karbon sayısı 9-20 arasında değişir (Şahin, 2003).

Genetik olarak aynı olan mikroorganizmaların hücrelerindeki yağ asitlerinin sayısı, çeşitliliği ve yüzde olarak miktarları (yağ asitleri profili) aynıdır ve çevre şartları aynı olduğu sürece değişmez. Yağ asidi profillerindeki farklılıklar ise dolaylı olarak mikroorganizmalar arasındaki genetiksel farklılığı ifade etmektedir. Bu nedenle kültür ortamında (standart suni besiyerlerinde) çoğalabilen mikroorganizmaların gerek tanısı gerekse taksonomik sınıflarının saptanması için yağ asitleri profillerinin kullanılabileceği birçok bilimsel çalışma ile ısıpatlanmıştır (Şahin, 2003).

Mikroorganizmaların hücre yapılarında (sitoplazma ve hücrenel membranlarda) fosfolipid, glikolipid veya lipopolisakkarit olarak bulunan yağ asitlerini, sayısına, çeşidine ve yüzde olarak miktarlarına göre tanımlayan sistem 1985 yılında geliştirilmiştir (Miller ve Berger, 1985). Mikrobiyal İdentifikasyon Sistemi (MIS) olarak isimlendirilen bu yöntem, bilgisayar kontrolünde çalışmakta olup, gaz kromatografiyi besleyen gaz tankları (hidrojen, azot ve hava), bilgisayar ünitesi, bilgisayar ünitesiyle uyumlu çalışan kütüphaneler ve yazıcı olmak üzere 5 kısımdan meydana gelmektedir (Lelliott ve Stead, 1987). Anaerobik ve aerobik bakteriler, actinomycetes, maya ve gelişmiş funguslar bu sistem sayesinde kolaylıkla ve çok kısa sürede tanımlanabilmektedir (Miller ve Berger, 1985; Sasser, 1990; Dunfield vd., 1999, Buyer, 2002).

Tanımlamak istenilen mikroorganizmalar ilk önce standart besiyerlerinde ve çevre şartlarında 24-72 saat süreyle üretilir. Üremesini tamamlayan mikroorganizmalar, 13 mm'lik teflon ile kaplanmış kapakları olan vidalı tüpler

içerisinde toplanmakta (~40 mg) ve hücrelerden yağ asitleri saflaştırılmaktadır. Her bir mikroorganizmadan saf olarak izole edilen yağ asidi metil esterlerinin (FAME) profilleri, MIS cihazında gaz kromatografisi yöntemiyle saptanmaktadır. Test edilen mikroorganizmaların gaz kromatografik çıktıları (yağ asidi profilleri) sistemin kütüphanesindeki bilinen mikroorganizmaların yağ asit profilleri ile karşılaştırılarak tanısı yapılmaktadır. Analiz sonuçları gaz kromatografi grafikleri, yağ asitleri profili ve tanı raporu yazılı rapor halinde verildiği gibi, aynı zamanda sistemin hafızasına otomatik olarak kaydedilmekte ve bu bilgilere istenildiği zaman ulaşılarak tekrar yeni bir çıktı alınabilmektedir (Şahin, 2003).

1.6.3 Metabolik Enzim Profilleri ve Biyokimyasal Özelliklerine Göre Bakterilerin Tanımlanması

Karbonhidratlar yapı ve depo molekülü olup, enerji kaynağıdır. Mikroorganizmaların, çeşitli karbon kaynaklarını enerji kaynağı olarak kullanma ihtiyacında gösterdiği farklılıklar, tanı ve karakterizasyonda kullanılabilir. Bakteriler biyokimyasal, fizyolojik ve hayatsal faaliyetlerini sürdürmek için biyoenerjiye ihtiyaç duymakta ve dışarıdan aldıkları karbon kaynaklarını metabolik enzimlerle parçalayarak biyolojik enerjiye dönüştürmektedirler.

Mikroorganizmaların farklı karbon kaynaklarını (basit şekerler, alkoller, aminoasitler, deterjanlar, aminoasit benzeri moleküller) kullanımından gösterdikleri farklılıklar metabolik profil olarak adlandırılmaktadır ve profildeki bu farklılık sahip oldukları metabolik enzim çeşitliliğine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Black ve Sweermore, 1994; Gamo ve Shoji, 1999). Mikroorganizmaların taşıdığı bu enzim farklılığı ise onların familya düzeyinden başlayıp alt tür seviyesine kadar devam etmektedir (Konopka vd., 1998, Yılmaz, 2004).

Mikroorganizmaların arasındaki metabolik farklılıkları saptamak için farklı teknikler kullanılmaktadır. Son 20 yıldır otomatik bakteri tanımlama ve duyarlılık test sistemleri geliştirildi ve ticari olarak piyasada yer almaktadır. Ancak bu sistemlerden yalnızca birkaç tanesinden yararlanılmaktadır. Günümüzde, API ve VITEK teknikleri kullanılarak tanımlama yapılabilmektedir. Bu sistemlerin temeli, sistemde kayıtlı referans organizmalar ile doğal organizmanın biyokimyasal özellikleri bakımından karşılaştırılması esasına dayanmaktadır. Üreme temelli testlerde son ürünün ölçülebilmesi için 18-24 saatlik inkübasyon süresi gerekir. Son

ürünlerin metabolik aktivitesi pH indikatörleri aracılığı ile oluşan renk değişimi ile belirlenir.

1.6.4 Moleküler Yöntemler

Moleküler yöntemler, mikroorganizmaları meydana getiren makromoleküllerin içeriklerine, çeşitlerine ve oranlarına bağlı olarak elde edilen farklılıklardan hareket edilerek oluşturulmuştur. Bu yöntemler, karbohidratları, lipitleri, proteinleri ve genetik materyali (DNA ve RNA) çalışma materyali olarak kabul etmekte ve bunlardan birinin veya kombinasyonlarının kullanımı ile mikroorganizmaların tanı ve karakterizasyonlarının yapılmasını sağlamaktadır (Manceau ve Horvais, 1997). Bu yöntemlerden birçoğu tek başına, alternatifsiz olarak kullanılabilen ve kısa zamanda çok sayıda örnek tür ve alttür seviyesinde tanımlama yapılabilir. Elde edilen sonuçlar oldukça hassas ve güvenilirdir. Sistemlerin pahalı oluşu ve yetişmiş elemanlarca yapılmasının gerekliliği moleküler yöntemlerin dezavantajını oluşturmaktadır.

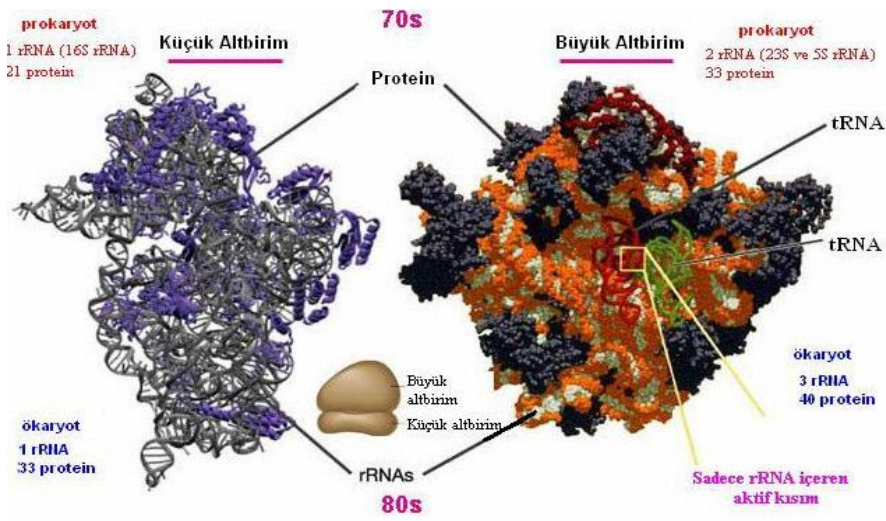
16S rDNA Dizin Analizi, mikrobiyal tanımlama yöntemlerinin en önemlilerinden biri haline gelmiştir. Bu yöntemde her türün ribozomlarının 16S'lik küçük alt birimini kodlayan DNA sırasının oldukça özelleşmiş olmasından faydalanılır. Bakteri genomundaki 16S rRNA geninde devamlı aynı olan yani değişmeyen ve değişken olan bölgeler bulunmaktadır. Bakterilerin teşhisinde bu değişken bölgeler kullanılmaktadır. Gray ve arkadaşları (1984), 16S rRNA geninde 8 adet değişmeyen ve 9 adet değişken bölgenin olduğunu ortaya çıkarmış ve bazı araştırmacılar bu özellikleri kullanarak kültür edilmemiş bakterilerin bile 16S rDNA'larını polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yardımıyla özel primerler kullanarak arttırmışlardır (Relman vd., 1992). PCR veya diğer bazı izolasyon yöntemleri ile elde edilen 16S rDNA'nın baz dizin analizi, restriksiyon fragmenti uzunluk polimorfizmi (RFLP) ve hibridizasyon özellikleri kullanılarak türler arasında karşılaştırma yapılmaktadır.

Moleküler biyolojik yöntemlerle yapılan tür tayini çalışmalarında DNA-DNA homolojisi, T_m (DNA'nın çift sarmalının çözüldüğü sıcaklık değeri) ve 16S rDNA'yı kodlayan DNA fragmentinin sekans dizisinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Prokaryot ve ökaryot hücrelerde bulunan ribozomlar, yapı ve işlev

bakımından birbirine büyük benzerlik gösterir. Esas farklılık, ribozomları oluşturan alt birimlere ait rRNA (ribozomal RNA) ve protein çeşitlerindedir (Temizkan, 1999).

Ribozomlar, biri büyük biri küçük olmak üzere iki alt birimden oluşmuştur. Prokaryotlarda büyük alt birim 50S, küçük alt birim 30S olup, toplam ribozom 70S büyüklüğündedir.

Ökaryotlarda ise büyük alt birim 60S, küçük alt birim 40S olup, toplam ribozom 80S büyüklüğündedir (Şekil 1.5). Birim olarak kullanılan S; Svedberg sabitesi olup, ultrasantrifigasyon sırasında çökme hızı ile ilgili birimdir (Temizkan, 1999).



Şekil 1.5. Prokaryot ve ökaryot ribozom yapısı (URL-2)

Ribozomlar ribonükleoprotein yapısındadırlar. Bir ribozom rRNA ve çok sayıdaki çeşitli proteinden meydana gelir. Prokaryotlarda 5S, 16S ve 23S olmak üzere 3 farklı büyüklükte rRNA bulunur. 16S rRNA 1541 nükleotidden oluşmuştur ve ribozomun 30S'lik alt biriminde bulunur. 5S rRNA 120 nükleotidden, 23S rRNA 2904 nükleotidden oluşmuştur ve her iki rRNA da ribozomun 50 S'lik alt biriminde bulunur. Ökaryotlar ise 5S, 5.8S, 18S ve 28S olmak üzere 4 çeşit rRNA vardır. Bunlardan 18S rRNA ökaryot ribozomunun 40S'lik küçük alt biriminin yapısına katılırken, diğerleri ise 60S'lik büyük alt birimde yer alırlar (Temizkan, 1999).

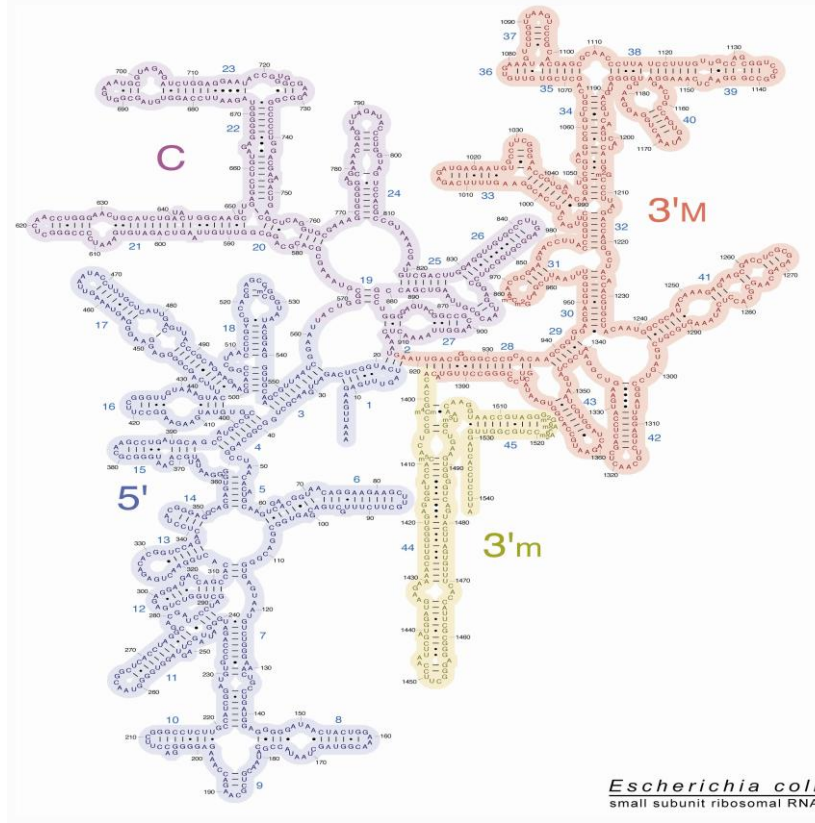
Özellikle mikroorganizmalarda moleküler yapıların ve DNA dizilerinin, klasik fenotipik özelliklere göre evrimsel ilişkileri daha iyi ortaya çıkardığı görülmüştür. Bundan dolayı taksonların tanımlanmasında temel alınan hücresel

seviyedeki çalışmalar moleküler düzeye (16S ve 18S rRNA dizi karşılaştırmaları) indirilmiştir (Temizkan, 1999).

DNA-DNA Hibridizasyonu nükleik asit dizileri arasındaki benzerliğin ortaya çıkarılması prokaryotların sistematığının yapılmasında önemli bir yer tutmaktadır. Böylece genomlar arasındaki benzerlikler gerçekçi bir şekilde ortaya çıkarılmaktadır. Nükleik asit sıralarının ortaya çıkarılması esasına dayanan karşılaştırma çalışmalarında daha çok in vitro nükleik asit hibridizasyonunu esas alan çalışmalar yapılmaktadır (Stackebrandt ve Goodfellow, 1991).

Yeni bakteri türlerinin ortaya çıkarılmasında en çok kabul edilen parametre genomlar arasındaki DNA benzerliğidir. ΔT_m (DNA'nın iki zincirinin birbirinden ayrılma sıcaklığı) değerindeki benzerliğin oranı olarak ifade edilen bu değer mikroorganizmalar arasındaki uzaklığı göstermektedir. Bu değerler primer yapı seviyesinde genomik dizi benzerliğinin dolaylı bir yansımasıdır (Goodfellow ve O'Donnell, 1993). Bu yüzden de DNA'nın ayrılıp yeniden birleşmesini konu edinen yaklaşımlar birbirleriyle çok yakın olan prokaryotların akrabalığının gösterilmesinde çok kullanışlı yöntemlerdir (Wayne vd., 1987). Yapılan birçok çalışmada, DNA benzerliği ile kemotaksonomik, genomik, serolojik ve fenotipik benzerlikler arasında ilişki olduğu bulunmuştur ve bundan dolayı, DNA'nın iki zincirinin yeniden birleşmesi, türlerin ayrılmasında standart bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Stackebrandt ve Goebel, 1994). Yapılan birçok çalışma sonucunda tam olarak tanımlanmış birçok türün suşları arasında optimum hibridizasyon şartları uygulandığında % 70'den fazla benzerliğin olduğu görülmektedir (Schleifer ve Stackebrandt, 1983). Yapılan bütün bu çalışmalar bakteriyel sistematik komitesinin tür tanımında DNA-DNA bağlanma derecesine verdiği öneme ışık tutmaktadır. Bu komitenin bir kararı, bir bakteri türünün suşları arasındaki ΔT_m derecesinin 5°C altındaki bir değerdeki DNA-DNA benzerliğinin % 70 veya daha fazla olması gereğini ortaya koymaktadır (Wayne vd., 1987).

Son yıllarda bakterilerin moleküler yöntemlerle tanımlanmasında hedef olarak seçilen önemli gen bölgelerinden biri 16S rDNA genidir (Şekil 1.6). 16S rRNA gen dizisi (rDNA), tüm canlılarda yüksek derecede korunmuşluk göstermektedir.



Şekil 1.6. *Escherichia coli*'nin 16S rRNA geni (URL-3)

Genomda bu rDNA bölgesi hem bakteriye özgü çok iyi saklanmış dizileri içermekte, hem de türe göre değişken olan dizileri barındırmaktadır. Bu değişken diziler genellikle araştırmacılar tarafından heterojen fenotipe sahip veya konvensiyonel bakteriyolojik testlerle kültürü zor olan bakterilerin PCR ile tanısı için primer bölgelerinin tasarlanmasında kullanılmaktadır (Temizkan, 1999).

Bu değişken dizilerin PCR ile çoğaltılması sayesinde tür tayini mümkün olabilmektedir. 16S rDNA'yı kodlayan gen dizisinin özellikle bakteriler arasındaki akrabalık ilişkilerinin çıkarılmasında kullanımı yaygınlaşmıştır. Bu evrensel molekülün taşıdığı nükleotid dizileri, filogenetik gruplar arasında gösterdiği benzerliklere göre, evrimsel yakınlığın yorumlanmasında etkin rol oynamaktadır. Günümüzde bilinmeyen bir bakterinin cins hatta tür seviyesine kadar

tanımlanabilmesi 16S rDNA geni yardımıyla mümkün olabilmektedir (Temizkan, 1999).

1.7 Bakterilerin İnsektisidal Özelliklerinin ve Bitki Patojeni Bakteriler Üzerinde Antibakteriyel Etkilerinin Araştırılması

1.7.1 Mikroorganizmaların İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi

Böceklerden izole edilen mikroorganizmaların izole edildikleri böcek üzerinde patojenik bir etkiye sahip olup olmadıkları virulans testleriyle belirlenir. Bu testler için böceğin biyolojisi göz önünde tutularak yaşayabilecekleri uygun ortamlar hazırlanır ve sağlıklı böcekler kullanılır. In vitro koşullarda mikroorganizmaların saf kültürleri hazırlanır ve uygulanır. In vitro olarak üretilemeyen virüsler, protozoalar ve diğer mikroorganizmaların enfeksiyon numunesi, ölü ve hastalıklı böceklerden elde edilir. Böceklerin enfeksiyonu için birçok metot bilinmektedir. Bu metotlar; besin içinde enfeksiyon, kutikula içine enfeksiyon, ağız ve çevresi içine enfeksiyon, mikroorganizmaların oral ve anal açıklıklar üzerine yerleştirmek, mikrobeseleme ve mikroenfeksiyon şeklinde sıralanabilir (Lipa, 1975).

Virulans testleri (biyoassay) süresi, uygulanan mikroorganizmaya göre değişiklik göstermektedir. Bakteriler ve virüsler gibi mikroorganizmaların virulans testlerinin genelde 5-10 gün sürdürülürken, böceklerde kronik enfeksiyonlar oluşturan protozoaların virulans testleri birkaç ay sürdürülebilir. Virulans testleri sırasında, diğer ölüm nedenlerinin sonuçlarından, mikroorganizmaların neden olduğu ölümleri ayırmak için, ölü böceklerin diseksiyonu yapılmalı ve gerçek ölüm nedeni araştırılmalıdır (Lipa, 1975; Lacey, 1997).

Yapılan virulans testlerinin sonuçları, istatistiksel metotlar kullanılarak matematiksel olarak ifade edilir. Bu amaç için kullanılan birçok metot bulunmaktadır. Bunlardan en yaygın olarak Abbott Formülüdür. Abbott (1925) tarafından geliştirilen bu yöntem şu şekilde formüle edilebilir;

$$\text{(\% Ölüm oranı)} = \frac{\text{Toplam ölüm oranı (\%)} - \text{Kontrol grubundaki ölüm oranı(\%)}}{\text{(\%)} 100 - \text{Kontrol grubundaki ölüm oranı(\%)}}$$

1.7.2 Mikroorganizmaların Bitki Patojeni Bakteriler Üzerinde Antibakteriyel Etkileri

Tarım ürünlerinin verimini artırma ve hastalıklara karşı korunma çarelerinin uzun bir geçmişi vardır. Bitki koruma ilaçlarının ekonomik önemi tartışmasız kabul edilen bir gerçektir. Bilinçli kullanımları halinde verimi birkaç kat artırabilmektedirler. Hastalık, zararlı ve yabancı otların neden olduğu ürün kayıplarının önlenmesinde bu tarım ilaçları önemli bir yere sahiptir. Ancak kimyasal mücadelede kullanılan ilaçların insan sağlığı, çevre ve doğal dengeyi olumsuz yönde etkilemesi ve artan üretim maliyetleri nedeniyle tarımsal ilaçların hassas, dikkatli ve en az ilaç kaybına neden olacak şekilde uygulanması gerekmektedir (Dursun, 2000). Kimyasal ilaç uygulamalarında amaca uygun olmayan ekipman kullanımı, kullanılan ilaçlama ekipmanının yanlış kalibrasyonu ve buna bağlı olarak birim alana atılan ilaç miktarının gereğinden çok veya az olması, yanlış ilaç seçimi, ilaçlamanın uygun zamanda yapılmaması ve ilacı uygulayan kişinin bilgisizliği gibi etkenler ilaç uygulama etkinliğinin azalmasına, ilaçlama maliyetinin artmasına ve çevre kirliliğine neden olmaktadır. Oysa amaç, pestisitlerin en etkili biçimde, fakat en az sorun oluşturacak şekilde kullanılabilmesidir.

Bitki kök bölgesinde çok sayıda rizosfer bakterileri bulunmaktadır. Rizosferdeki bakterilerin bazıları bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler (PGPR) olarak adlandırılırlar. Bu bakteriler bitkilerin gelişimine katkıda bulunurken aynı zamanda bitkilerin stres koşullarına direncini artırır (Ünlü, 2007). PGPR'lar sahip oldukları bazı mekanizmalar ile patojen mikroorganizmaların bitkilerde hastalık oluşturmasını engelleyebilirler. Floresan *Pseudomonas*'lar toprak kökenli hastalıkların engellenmesinde en etkili rizosfer bakterileri arasında yer almaktadır. Bu bakteriler siderefor özellikleri ile patojen mikroorganizmaların topraktaki demiri kullanmalarını engelleyerek ya da antibiyotik üreterek bitkileri patojen saldırılarına karşı korurlar. Ayrıca sistemik dayanıklılığı teşvik edebilme yeteneğine sahiptirler. PGPR'ler bitkilerde kullanım olanakları açısından çok avantajlıdır. PGPR bakteriler hem tohuma hem de toprağa kolayca uygulanabilirler. PGPR'lerin bitki gelişimine olumlu katkıları bulunmaktadır (Van Loon, 1997; Van Loon ve ark., 1998).

Park ve Kleoppe (2000); tütünde *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*'ye karşı bitki büyüme düzenleyici rizobakterilerden *Bacillus pumilus*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *Curtobacterium flaccumfaciens* ve *Burkholdera*

gladioli bakterilerini kullanmışlardır. Bu rizobakteriler PR1 proteinini aktive ederek β -glucuronidase oluşumunu sağlamış ve sonuçta tütünde *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*'nin meydana getirdiği semptomların azalmasını sağlamıştır. (Park ve Kloepper., 2000).

Özellikle bu kimyasalların yüksek dozlarda kullanımı bitkilerin fotosentez ve transpirasyon gibi en önemli işlevlerinin gerçekleştiği yapraklarda fizyolojik yönden önemli farklılıklara yol açmaktadır. Fungisitlerin fotosentetik pigment miktarlarını azaltarak fotosentezi olumsuz yönde etkilediği de bildirilmektedir. Ayrıca fungusitlerin bilinçsiz kullanılması sonucu; kalıntı, dayanıklılık, çevre kirliliği sorunlarının yanı sıra fitotoksisite ile de karşılaşabilmektedir. Bugüne kadar yapılmış araştırmaların ortak özellikleri, hemen bütün pestisitlerin canlılarda az veya çok anormalliklere yol açmış olduğudur. Yapılan bir çalışmada yüksek dozlardaki fungusit uygulamalarının bitkilerde total serbest aminoasitler ile protein konsantrasyonlarını azalttığı bildirilmiştir (Bastaban, 2008).

1.8 Tezin Amacı

Fındık bahçelerinde büyük zararlara yol açan böceklerden biri olan *Xylosandrus germanus*'dan izole edilen bakterileri tanımlamak ve tarım zararlısı böceklere karşı etkin şekilde kullanılacak bir bakteriyel kontrol ajanının varlığını araştırmaktır. Bu çalışma sonucunda tarım zararlısı böceklere ve mikroorganizmalara yönelik bir biyolojik kontrol ajanının tespiti, halen uygulanmakta olan çok zahmetli ve masraflı olan kimyasal ve mekanik mücadele çalışmalarına alternatif oluşturabilecektir. Aynı zamanda bu çalışma, bu fındık zararlısına karşı ileride gerçekleştirilebilecek olan herhangi bir biyolojik mücadelenin temelini oluşturma özelliğine sahip olabilecektir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1 Böceklerin Toplanması

Bu çalışma için gerekli olan *Xylosandrus germanus* (Blandford) larva ve erginleri, Haziran-Temmuz 2008 tarihleri arasında, Giresun ili, Yağıldere ilçesi, Umutbükü köyünden toplanmıştır (Dr. Kibar AK, Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Samsun). Tespit edilen hastalıklı bahçelerden zararlılar kırmızı kanatlı yapışkan tuzak, alkol feromon tuzağı ve hastalıklı dallar kesilerek toplanmıştır (Şekil 2.1). Toplanan larva ve ergin böcekler, toplandıkları yer ve tarih not edildikten sonra, önceden steril edilmiş özel kaplara konularak laboratuara getirildiler. Burada makroskobik incelemeler yapılarak ölü, hastalıklı ve yavaş hareket edenler ayrıldı. Sağlıklı olduklarına karar verilenler ise steril edilmiş kaplara konularak fındık dalları ile incelenecekleri zamana kadar beslendiler.



a



b

Şekil 2.1. Alkol Feromon Tuzağı (a) ve Kırmızı Kanatlı Tuzak (b)

2.2 *Xylosandrus germanus*'dan İzole Edilen Bakterilerin Belirlenmesi

2.2.1 Bakteri İzolasyonu

Laboratuara getirilerek ayrılan, ölü, hastalıklı ve sağlıklı böceklerden ergin ve sağlıklı olanlardan, her denemede bir birey kullanılmak üzere, toplam 14 böcek

içerisinde % 70'lik alkol bulunan santrifüj tüplerine alındı. Tüpler en düşük rotarda vortekslenerek, 5 dakika boyunca yüzey sterilizasyonu yapıldı. Sonra içerisinde saf su bulunan tüplere alınarak alkolden arındırıldı. Yüzey sterilizasyonu yapılan böcekler, homojenizatöre alınarak 200 µL nutrient broth içerisinde ezilerek ekstrakt hazırlandı. Hazırlanan ekstraktlar süzüldü, seyreltildi ve son seyreltikten 100 µL alınarak nutrient agar besiyerine yayma ekim yapıldı. Ekim yapılan petripler 30 °C'ye ayarlı etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldı (Poinar, 1978).

2.2.2 Saf Kültürlerin Hazırlanması ve Stoklanması

İnkübasyonun ardından nutrient agarda büyüyen bakteriyel koloniler dikkatlice seçilerek nutrient agar besiyerine çizgi ekim yapıldı ve saf kültürler elde edildi. Elde edilen saf izolatların oluşturduğu koloniler, binoküler stereo mikroskop altında incelendi ve farklı koloni renk ve morfolojilerine sahip olanlar numaralandırılarak, sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere %20'lik steril gliserol içerisinde - 20°C'de stoklandı.

2.3 Bakteriyel İzolatların Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

2.3.1 Basit Boyama

Elde edilen izolatların hücre şekillerinin belirlenmesi amacıyla ilk olarak basit boyamalar yapıldı. Bu amaçla her bir izolat nutrient broth besiyerine ekildi ve 30 °C'ye ayarlı sallayıcı su banyosunda inkübasyona bırakıldı. 24 saatlik kültürlerden bakteriyel smear hazırlandı. Daha sonra kristal viole boya solüsyonu ilave edildi, 1-2 dakika beklendikten sonra, saf su ile yıkandı ve kuruduktan sonra mikroskop altında incelendi (Benson, 1985).

2.3.2 Gram Boyama

Gram boyama için her bir izolat nutrient broth besiyerine ekildi ve 30 °C'ye ayarlı su banyosunda 16-24 saat inkübasyona bırakıldı. Bakteriyel smear hazırlandı. Hazırlanan smear, 1 dakika kristal viole ile muamele edilerek saf su ile yıkandı. Daha sonra 1 dakika Gram iyodu ile muamele edildi. Aseton-alkolle renk giderilinceye

kadar yıkadıktan sonra, renk kaybını durdurmak için hemen saf su ile yıkandı. 30-60 saniye safraninle muamele edildi ve tekrar saf su ile yıkandı. Açık havada kurutulduktan sonra ışık mikroskobu altında incelemeye alındı. Mor renkle boyanan bakterilerin Gram pozitif, pembe renk ile boyanan bakterilerin ise Gram negatif olduğuna karar verildi.

2.3.3 Endospor Boyama

İzolatların endospor oluşturup oluşturmadığı ve varsa endosporun hücre içerisindeki pozisyonunu belirlemek amacıyla, her bir izolat nutrient broth besiyerine ekildi ve 48-72 saat 30 °C'ye ayarlı sallayıcı su banyosunda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından bakteriyel smear hazırlandı. Hazırlanan smearlar küçük bir filtre kâğıdı ile kapatılarak, malaşit yeşili ile 5 dakika boyunca su buharı üzerinde boyandı. Saf su ile yıkanarak açık havada kurutuldu. Mikroskop altında incelenerek kırmızı renkli hücreler içerisinde yeşile boyanmış sporların varlığı araştırıldı (Cappuccino vd., 1992).

2.3.4 Hareketlilik Testi

İzolatların SIM (Sulfate, İndole, Motility Medium; Sülfat İndol, Hareket besiyeri) besiyerine ekimleri yapılarak hareketli olup olmadıkları belirlendi. Hazırlanmış besiyerine iğne öze kullanılarak ekim yapıldı. İnkübasyon sonrası ekim bölgesinde oluşan bulanıklık hareketliliğin göstergesi olarak tespit edildi.

2.4 Bakteriyel İzolatların Fizyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

2.4.1 Büyüme Sıcaklıklarının Belirlenmesi

İzolatların büyüme sıcaklıklarının belirlenmesi amacıyla izolatlar nutrient broth besiyeri içine ekim yapılarak 25, 30, 40 ve 45°C' ye ayarlı su banyolarında 16-24 saat inkübe edildikten sonra spektrofotometrede (O.D 600 nm'de) ölçüm yapılarak örneklerde büyüme olup olmadığına karar verildi.

2.4.2 pH Özelliklerinin Belirlenmesi

İzolatların büyüebildiği pH aralıklarının belirlenmesi için izolatlar değişik pH değerlerine (3, 5, 7, 9, 10) sahip nutrient broth besiyerine inoküle edildiler ve 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası büyüme olup olmadığına spektrofotometrede (O.D 600 nm'de) ölçümler yapılarak karar verildi.

2.4.3 NaCl Özelliklerinin Belirlenmesi

İzolatların NaCl ihtiyaçlarının belirlenmesi amacıyla % 2, 3, 4, 5, 7, 10, 12 ve 15 oranında NaCl eklenmiş nutrient broth besiyerleri hazırlandı. Bu besiyerlerinden 4'er ml deney tüplerine alınarak her bir izolattan ekim yapıldı. 14 gün boyunca uygun sıcaklığa ayarlı etüvde inkübe edildiler. Üreme olan ve olmayan tüpler belirlenerek, İzolatların hangi oranda tuzu tolere edebildiklerine karar verildi.

2.5 Bakteriyel İzolatların Biyokimyasal Özelliklerinin Vitek 2 Sistemiyle Belirlenmesi

İzolatlar Nutrient agara ekim yapılarak bir günlük inkübasyon sonrası biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla Giresun İl Kontrol Laboratuvarı Mikrobiyoloji Analiz Birimi'nde bulunan Vitek 2 cihazı kullanıldı.

Vitek 2 sistemi (bioMérieux) flüoresan temelli yeni bir teknolojiyi kullanmaktadır. Sistemde sıvı dilüsyon bazlı Gram pozitif, Gram negatif, maya ve küf gibi organizmaların tanımlanmalarını sağlayan 64 tane kuyucuklu kartlar kullanılmaktadır (Verweij, 1999; Pincus, 2002).

Kültür sistemi bu plastik kartlardır. Test edilecek bakteri süspansiyonu, kapillerler yoluyla kuyucuklara geçer ve kuyucuklardaki kimyasal ajanlar ile rehidrate olur. Kısa sürede üreyen bakterilerin bulanıklık oluşturması, besiyerinde türbidimetrik olarak ölçülür. Üremenin lineer regresyon analizi ve algoritmalar ile minimal inhibisyon konsantrasyonu belirlenir.

2.6 Bakteriyel İzolatların Yağ Asidi Profillerinin Mikrobiyal İdentifikasyon Sistemi (MIS) Kullanılarak Belirlenmesi

Saf kültür olarak -20°C’ de muhafaza edilen izolatların yağ asidi metil ester ekstraksiyonu (FAME), izolasyonu, saflaştırması ve analizi yapıldı. Bilgisayar kontrollü gaz kromatografi sistemi olan Mikrobiyal İdentifikasyon Sistemi (MIS) kullanılarak kültüre alınan örneklerin tür seviyesinde tanısı yapıldı.

2.6.1 Yağ Asiti Metil Esterlerinin Saflaştırılması

İzolatların içerdikleri yağ asitlerini saf olarak izole edebilmek için 4 farklı çözelti kullanıldı.

Çözelti 1: Saponifikasyon (Hücre parçalanması)

NaOH	45 gr
Metil alkol	150 ml
Saf su	150 ml

Sırasıyla 150 ml metil alkol ve 150 ml saf su, 1 L’lik renkli çözelti şişesine ilave edildi. Daha sonra katı formdaki 45 g sodyum hidroksit eklenerek çözülünceye kadar karıştırıldı.

Çözelti 2: Metilasyon

HCl ₂	325 ml
Metil alkol	275 ml

Sırasıyla 325 ml hidroklorik asit ve 275 ml metil alkol, 1 L’lik renkli çözelti şişesi içerisinde iyice çözülünceye kadar karıştırıldı.

Çözelti 3: Saflaştırma

Hekzan	200 ml
Meti-tert-butil eter	200 ml

Sırasıyla 200 ml metil-tert butil eter, 200 ml hekzan üzerine ilave edilerek 1 L’lik renkli çözelti şişesi içerisinde çözülünceye kadar karıştırıldı

Çözelti 4: Bazik yıkama

NaOH	10.8 gr
Saf su	900 ml

Sırasıyla 10.8 gram katı formdaki sodyum hidroksit, 900 ml saf su içerisinde iyice çözülmeye kadar karıştırıldı, 1L'lik çözelti şişesine aktarıldı.

Hazırlanan bu dört çözelti ile izolatlardan yağ asiti metil esterlerinin saflaştırılması için bir TSA (Tryptic Soy Agar) üzerinde geliştirilen izolatlar inkübasyon periyodunu takiben, 4 fazlı çizim yapılmış petrielerin 3 ve 4 numaralı fazlarından canlı bakteri hücreleri steril özeyle toplanarak (yaklaşık 40 mg), 5ml'lik steril cam test tüplerine aktarıldı. Tüpler etiketlenerek ağızları sıkıca kapatıldı. Her bir test tüpüne 1ml çözelti 1 eklenmiştir, 5-10 saniye çalkalandıktan sonra test tüpleri 5 dakika süreyle 100 °C'lik su banyosunda bekletildi. Ardından tekrar 5-10 saniye çalkalanan test tüpleri, 25 dakika süreyle 100 °C'lik su banyosunda inkübasyona bırakıldı. Bu muamele ile canlı hücreler parçalanarak, yağ asitlerinin serbest kalması sağlanmıştır.

İkinci basamakta test tüplerine 2 ml çözelti 2'den eklendikten sonra, 5-10 saniyelik bir çalkalamadan sonra 80 °C'de 10 dakika süreyle su banyosunda bekletildi ve hemen ardından 2 dakika süreyle buz içerisinde soğutuldu. Bu uygulama ile serbest yağ asitlerine ester bağları ile metil eklenmiş ve yağ asitlerinden yağ asit metil esterleri elde edilmiştir.

Üçüncü basamakta soğutulmuş tüplere 1.25 ml çözelti 3'den ilave edilerek 10 dakika süreyle hematoloji çalkalayıcısında çalkalandı. Tüplerin alt kısmında asidik (inorganik), üst kısmında da organik sıvı fazları olmak üzere iki ayrı faz oluştuğu gözlemlendi. Yağ asit metil esterleri asidik fazdan ayrışarak organik faz bölgesinde toplandığından pastör pipeti ile kullanılarak tüplerin alt kısmındaki asidik faz atıldı ve organik faz muhafaza edildi. Bu işlemle yağ asidi metil esterlerine hekzan bağlandı.

En son aşamada her tüpe 3 ml çözelti 4'den ilave edilip, sonra 5 dakika çalkalandı ve 10 dakika süreyle oda sıcaklığında bekletildi. Çözelti 4, bazik bir çözelti olduğundan, serbest yağ asit metil esterlerini daha saf elde etmemizi sağlamıştır. Bu aşamada da tüp içerisinde yine iki ayrı faz oluştuğu gözlemlendi. Üst fazda toplanan ve yağ asit metil esterleri içeren faz, pastör pipeti ile alınarak 2 ml'lik gaz kromatografisi tüplerine transfer edildikten sonra ağızları sıkıca kapatıldı ve MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirildi (Karrı, 2010).

2.7 Bakteriyel İzolatların Moleküler Özelliklerinin Belirlenmesi

2.7.1 İzolatların Genomik DNA İzolasyonu

Genomik DNA'nın izolasyonu, Sambrook ve arkadaşları (1989) tarafından açıklanan yöntemle yapıldı. Çalışmada kullanılan izolatlar LB besiyerinde 30 °C'de bir gece inkübe edilerek üretildi. Elde edilen sıvı kültür iki kez oda sıcaklığında 13,000×g'de 3-4 dakika santrifüj edilerek çöktürüldü. Süpernatant kısmı dökülerek pellet kısımları saklandı. Pelletin üzerine, 500 µl TE tamponu (10 mM Tris-HCl; 1 mM EDTA, pH 8) ilave edilerek pellet çözüldü. Daha sonra her bir tüpe 10 µg lizozim ilave edilerek vortekslenildi ve 37°C'de 1 saat bekletildi. Hücrelerdeki proteinlerin parçalanması için, 50 µl %10'luk SDS eklenerek 37 °C'de 30 dakika bekletildi. Bu süre sonunda, tüpe 3 M'lık 0,1 hacim 55 µl sodyum asetat (pH 5,2) eklendi ve 65 °C'de 10-30 dakika alt üst edilerek hücrelerin parçalanması sağlandı. Üzerine 500 µl fenol:kloroform:izoamil alkol (25:24:1) ilave edildi, tekrar alt-üst edilerek karıştırıldı ve 5 dakika 13000×g' de santrifüj edildi. Tüpün üst kısmındaki sıvı alınıp temiz tüpe bırakıldı, pellet kısmı ise atıldı. Bu tüpe tekrar 500 µl kloroform eklendi ve alt-üst edilerek 13000×g' de tekrar 5 dakika santrifüj edildi. Bu işlem iki kez tekrarlandıktan sonra, üzerlerindeki sıvı kısım alındı. Bu sıvı kısma 0,1 hacim 3 M sodyum asetat ve 2 hacim %96'lık etanol ilave edildi ve -20 °C'de 30 dakika bekletildi. Daha sonra 13,000×g'de 15 dakika santrifüj edildi ve üst kısımdaki sıvı boşaltıldı. Kalan pelletin üzerine 500 µl %70'lik etanol ilave edilerek tekrar 13,000×g'de 2 dakika santrifüj edildi. Üst kısımdaki sıvı dökülerek pellet açık havada kurutuldu. Elde edilen DNA pelleti, 100 µl TE tamponun'da çözüldü, 10 mg/ml'lik EtBr 'den (etidyum bromür) 2,5 µl ilaveli %0,7'lik jelde 7 µl'si yürütülerek kontrol edildi ve geri kalanı -20 °C'de muhafaza edildi.

2.7.2 İzolatların 16S rDNA Primerlerinin Dizaynı ve Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması

İzole edilen DNA'ların 16S rDNA gen analizi yapılabilmesi için aşağıdaki primerler tasarlanmıştır.

Forward, 5'–ATT CTA GAG TTT GAT CAT GGC TCA–3';

Reverse, 5'–ATG GTA CCG TGT GAC GGG CGG TGT GTA–3'.

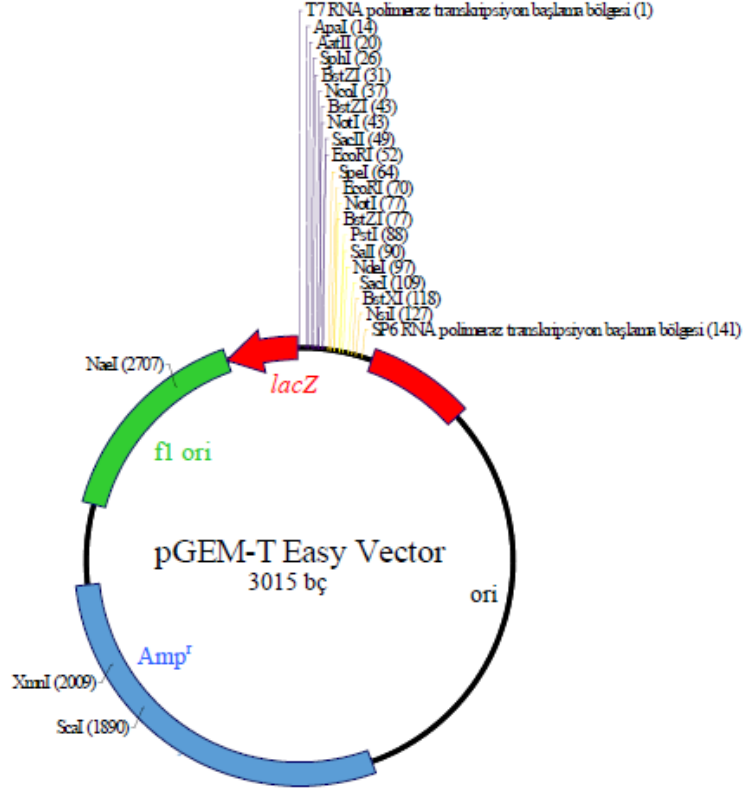
Elimizdeki izolatların 16S rDNA gen analizlerinin yapılabilmesi için yukarıdaki primerler kullanılarak PCR reaksiyonu yapıldı. Reaksiyon 50 µl'lik hacimde gerçekleştirildi. PCR tüpüne, 2,5 ünite Go Taq DNA polimeraz (Promega), 5 µl 5x PCR tamponu (10mM Tris-HCl, pH 8,3), 3 µl 2,5 mM MgCl₂, 1,5 µl 1mM ileri primeri, 1,5 µl 1mM geri primeri, 1 µl 10 mM dNTP'den ve 2 µl genomik DNA bırakılarak steril dH₂O ile 50 µl'ye tamamlandı.

PCR şartları 95 °C'de 2 dakikalık denatürasyondan sonra 10 döngü olacak şekilde 94 °C'de 1 dakika, 50 °C'de 1 dakika ve 72 °C'de 2 dakika sonra 36 döngü olacak şekilde, son olarak da 72 °C'de 5 dakika olacak şekilde son uzamaya tabi tutularak gerçekleştirildi. PCR reaksiyonu, 10 mg/ml EtBr ihtiva eden %1'lik agaroz jelde yürütülerek, jel görüntüleme sistemi (UVP) ile görüntülendi.

2.7.3 İzolatların 16S rDNA Gen Bölgelerinin pGEMT-Easy Vektöre Klonlanması

İzolatların PCR reaksiyonu ile çoğaltılan 16S rDNA bölgelerine ait DNA fragmentleri, pGEM-T Easy vektöre (Promega) 3 DNA fragmenti : 1 vektör oranında (0,3 µg DNA fragmenti ve 0,1 µg PGEMT-Easy) klonlandı (Şekil 2.2).

Reaksiyon, 1µl pGEMT-Easy vektörü, 7,5 µl 2x ligasyon tamponu, 1 µl T4 DNA ligaz, 5,5 µl DNA fragmenti bir araya getirilerek 15 µl'lik hacim içinde ligasyon ürünleri hazırlandı. Karışım 16 °C'de bir gece inkübasyona bırakıldı.



Şekil 2.2. pGEM-T Easy vektörünün çoklu klonlama bölgesini, replikasyon orijinini, *LacZ* genini ve ampisilin direnç genini gösteren harita (URL-4)

2.7.4 *Escherichia coli* JM101 Hücrelerinin Hazırlanması

Gece kültürünü hazırladığımız *E.coli* JM101 suşunun yoğunluğu OD 600 nm'de 0,1 olacak şekilde taze besiyeriye ekim yapıldı. Büyüme yoğunluğu 0,45–0,55 ulaştıktan sonra hücreler santrifüj edildi. Sıvı kısım dökülerek pellet üzerine soğuk steril 10 ml 100 mM CaCl₂ içerisinde iyice çözüldü. 30 dakika buzda bekletildikten sonra santrifüj edilerek pellet oluşturuldu. Oluşan pellet 2 ml soğuk steril 100 mM CaCl₂ içerisinde iyice çözümlenerek 10 ml'ye tamamlanarak kompetent hücre hazırlandı.

2.7.5 İzolatların 16S rDNA Gen Bölgelerinin *Escherichia coli* JM101'e Transformasyonu

Hazırlanan kompetent *E. coli* JM101 hücrelerinden 200 µl eppendorf tüplerine aktararak içerisinde 3 µl ligasyon ürünü bırakılırken, bir tüpe hiçbir şey

eklenmeyerek kontrol olarak kullanıldı. Tüpler iyice karıştırıldı ve 30 dakika buzda bekletildi. Tüplerdeki karışımlar, 2 dakika 45 °C'de şoklama yapılarak ligasyon ürünlerinin kompetent hücrelere girmesi sağlandı. Tüpler alınarak içlerine 1 ml LB besiyeri eklendi ve karıştırıldı. Daha sonra tüm karışım steril bir cam tüpe aktarılarak 37 °C'de su banyosunda 2 saat boyunca büyümeye bırakıldı. İnkübasyondan sonra büyüyen kültürler ependorf tüplere aktararak 6000 rpm'de 3 dakika santrifüj yapıldı. Ependorfta 100 µl kalacak şekilde süpernatant döküldü ve kalan süpernatant içinde pellet çözüldükten sonra 100 µg/ml ampisilin içeren LB agar petrilere (üzerine 100 mg/ml IPTG çözeltisinden 40 µl ve 20 mg/ml X-gal çözeltisinden 40 µl sürülmüş petrilere) yayıldı. Gece boyunca 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucunda içerisine plazmid alan hücrelerin beyaz koloni oluşturmasından yararlanılarak klonlar seçildi.

2.7.6 Transfer Edilen Rekombinant Plazmitlerin *Escherichia coli* JM101'den İzole Edilmesi ve Kontrolü

Mavi/beyaz koloni morfolojisine göre ayırım yapılarak seçilen beyaz kolonilerden içerdikleri plazmid DNA'larını izole etmek için 100 µg/ml ampisilin içeren LB besiyerine ekim yapıldı ve 37 °C'de 200 rpm'de gece boyu inkübe edildi. Plazmit DNA'larının izolasyonu için hızlı miniprep metodu kullanıldı. Gece kültürleri 14.000×g'de 2 dakika santrifüj edilerek çöktürüldü. Hücrelerin üzerindeki süpernatant geride 50 µl kalacak şekilde döküldü ve çökelti bunun içinde vortekslenerek çözüldü. Üzerine 300 µl TENS tamponu (10 mM Tris-HCl pH 8.0, 0,1 mM EDTA, 0,1 N NaOH, % 0,5 SDS) ilave edilerek karıştırıldı. Bunu takiben üzerine 150 µl 3 M sodyum asetat (pH 5.2) ilave edildi ve tekrar 5-6 kez alt üst edilerek karıştırıldı. 14.000×g'de 3 dakika santrifüj edildi. Süpernatant temiz tüpe alındı ve üzerine 900 µl %100'lük etanol ilave edilerek 14.000×g'de 2 dakika santrifüj yapıldı. Çökelti %70'lik etanol ile yıkandı ve kurumaya bırakıldı. Kuruyan çökelti 50 µl dH₂O'da çözüldü.

Saf su ile çözülen beyaz ve mavi koloni örnekleri jel elektroforezi ile yürütülerek kontrol edildi. Kontrol amacıyla beyaz koloni olan örneklerin yanında mavi kolonilerde jel elektroforezinde yürütülerek kütle farkından faydalanılarak beyaz kolonilerin kontrolü yapıldı.

2.7.7 İzole Edilen Plazmitlerin 16S rDNA Gen Bölgelerinin Dizi Analizi

İzole edilen plazmitlerden 16S rDNA genini taşıyan klonlar 5 ml amfisilinli LB besiyerine ekimleri yapıldı ve 37 °C’de 200 rpm’de gece boyu inkübe edildi. 14-16 saatlik büyüme sonucu elde edilen kültürler, 14.000 rpm’de 2 dakika boyunca çöktürüldükten sonra “GeneJET™ Plasmid Miniprep” (Fermantas) kiti kullanılarak izole edildi. Plazmid DNA konsantrasyonları OD 260nm’de belirlendi. DNA’lar 20 µl’lik hacim içinde 200 ng/µl konsantrasyonda hazırlandı. 16S rDNA bölgelerinin tanımlanması için örnekler yurtdışına gönderildi (Macrogen, Hollanda).

2.7.8 Elde Edilen DNA Baz Dizilimlerinin İncelenmesi

Sekans sonucunda elde edilen 16S rDNA geninin baz dizilimi FinchTv programı ile düzenli forma getirildikten sonra gen bankasında bulunan diğer 16S rDNA genleri ile NCBI web adresindeki Blast (basic local alignment search tool) programı kullanılarak karşılaştırması yapıldı. Karşılaştırma sonucuna göre, sonuçlar değerlendirildi.

2.8 İzolatların İnsektisidal ve Antibakteriyel Etkilerinin Belirlenmesi

2.8.1 İzolatların İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi

Elde edilen izolatlar 24-48 saat 30°C’ye ayarlı sallayıcı su banyosunda 5 ml nutrient broth besiyeri içerisine inkübe edildi. İnkübasyon neticesinde bakteri yoğunluğu, spektrofotometrede ölçülerek OD₆₀₀’de 1.89 (1.8×10^9 bakteri/ml) olacak şekilde ayarlandı. Sonra 3000 ×g’de 10 dakika santrifüj edilen hücrelerin oluşturduğu pellet, 5 ml steril saf suda çözüldü (Yılmaz, 2004).

Xylosandrus germanus’dan izole edilen bakterilerden hazırlanan numuneler, Patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata*, Say 1894), Kızılağaç yaprak böceği (*Agelastica alni*, Linnaeus 1758) ve Büyük bal mumu güvesi (*Galleria mellonella*, Linnaeus 1758) larvaları üzerinde farklı zamanlarda 7 gün boyunca uygulandı.

Patates böceği erginleri için 4-6 cm boyunda, 3-4 cm eninde taze patates yaprakları kullanıldı. Kızılağaç yaprak böceği için taze kızılağaç yaprakları, Büyük bal mumu güvesi larvalarını laboratuvar koşullarında yetiştirmek için ise ana hatları

Bronskill (1961) tarafından geliştirilen yapay besin kullanıldı. Hazırlanan yaprakların alt ve üst yüzeylerine, yapay besinler ise içlerine her bir izolattan hazırlanan numuneler steril bir şırınga yardımı ile yayıldı. İzolatların inoküle edildiği besinler 8 cm derinliğinde, 5 cm çapında kaplara yerleştirildi. Daha sonra her bir kaba 10 tane *L. decemlineata*, *A. alni*, *G. mellonella* larvaları konuldu. 7. gün sonunda kaplar açılarak ölü ve sağlıklı larvalar sayıldı. Her bir izolat için deneyler 3 tekrarlı olarak yapıldı.

2.8.2 İzolatların Bazı Bitki Patojeni Bakteriler Üzerinde Antibakteriyel Etkilerinin Araştırılması

Elde edilen izolatlar ile bitki patojeni bakteriler üzerinde etkilerine bakılarak biyolojik mücadele ajanı geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu çalışmada; birçok bitki türü üzerinde önemli ekonomik kayıplara neden olan hastalıkların patojeni olduğu bilinen 15 bakteriyel bitki patojeni kullanılmıştır. Kültürler; Yeditepe Üniversitesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü'ndeki kültür koleksiyonlarından temin edilmiştir. Kullanılan bakteri türleri Tablo 2.2'de verilmiştir.

Antibakteriyel etkinin araştırılması için bitki patojeni bakteriler TSA içeren petri üzerine swap ile yayma ekim yapılmıştır (Bastaban, 2008). Sonrasında petri dört eşit bölgeye ayrılarak her bir bölgesine izolatlardan 4'erli şekilde çizgi ekim yapılmış ve bir gece 30 °C'de inkübe edilerek izolatların patojen bakteriler üzerinde etki göstererek zon oluşturması beklendi.

Tablo 2.1. Antibakteriyel Etkinin Araştırılması için Kullanılan Bitki Patojeni Bakteriler

Bakteriler	Hastalık Oluşturduğu Bitki
<i>Pseudomonas syringae pv. tomato</i>	Domates
<i>Pseudomonas savastanoi nerium</i>	Zakkum
<i>Pseudomonas savastanoi oleae</i>	Zeytin
<i>Pseudomonas syringae glycinea</i>	Soya
<i>Pseudomonas syringae mori</i>	Dut
<i>Pseudomonas syringae phaseolicola</i>	Fasülye
<i>Pseudomonas syringae syringae</i>	Limon
<i>Pseudomonas viridiflava</i>	Kavun
<i>Xanthomonas axonopodis begoniae</i>	Begonya
<i>Xanthomonas axonopodis dieffenbachiae</i>	Süs Bitkileri
<i>Xanthomonas axonopodis manihotis</i>	Manyok Bitkisi
<i>Xanthomonas axonopodis phaseoli</i>	Fasülye
<i>Xanthomonas axonopodis phaseoli fuscans</i>	Fasülye
<i>Xanthomonas axonopodis vitians</i>	Marul
<i>Xanthomonas fragariae</i>	Çilek

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu tezde *Xylosandrus germanus*'dan izole edilen 16 bakterinin fenotipik, biyokimyasal ve moleküler teknikler kullanılarak tanımlanması yapıldı. Ayrıca bu bakterilerin insektisidal ve antibakteriyel aktiviteleri araştırıldı.

3.1 *Xylosandrus germanus* 'dan İzole edilen Bakteriler

Xylosandrus germanus'dan saf kültür olarak elde edilen toplam 29 izolattan koloni renk ve morfolojilerine göre farklı olduğuna karar verilen 16 tanesi seçildi.

Elde edilen izolatların tür tayinlerinin yapılabilmesi için morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler çalışmalar yapıldı. Ayrıca moleküler çalışmaların yanında bakterilerin tür tayinleri için birbirlerini desteklemesi amacıyla tür seviyesinde tanımlama yapan iki metotla (Vitek 2 ve toplam hücresel yağ asidi profillerine göre) izolatlar tanımlandı.

3.2 İzolatların Karakteristik Özelliklerinin Belirlenmesi

3.2.1 İzolatların Morfolojik Özellikleri

Xylosandrus germanus'dan izole edilen bakterileri Gram boyama sonucuna göre izolatlardan 5, 6, 8, 12, 16 nolu izolatların Gram pozitif, diğerlerinin Gram negatif; izolatların tamamının sporsuz olduğu; izolatlardan 3, 4, 7, 9, 10, 11, 13, 15 nolu izolatların hareketli diğer izolatların hareketsiz olduğu tespit edildi. İzolatlardan 7 ve 15 nolu izolatın koloni renginin sarı, 12 ve 16 nolu izolatların turuncu, diğer izolatların krem rengine sahip olduğu tespit edildi. İzolatlardan 4 ve 10 nolu izolatın dalgalı-yuvarlak, diğer izolatların düzgün-yuvarlak koloni morfolojisine sahip oldukları görüldü. İzolatlardan 1, 2, 13, 14 nolu izolatların kokkobasil; 3, 4, 9, 12, 16 nolu izolatların basil; 5, 6, 7, 8, 10, 11, 15 nolu izolatların kokus bakteri şekline sahip olduğu belirlendi (Tablo 3.1).

3.2.2 İzolatların Fizyolojik Özellikleri

İzolatların büyümeleri üzerine etkili olan pH, sıcaklık, NaCl'e karşı tolerans özelliklerinin araştırılması amacıyla testler yapıldı (Tablo 3.2).

pH tolerans testlerine göre pH 3 olan besiyerinde izolatlardan hiçbirinin büyüemedikleri; pH 5'te Xg3, Xg4, Xg6, Xg7, Xg8, Xg9 nolu izolatların büyüdüğü; pH 7'de izolatların tamamının büyüdüğü; pH 9'da Xg2, Xg3, Xg5, Xg7 ve Xg12 nolu izolatların tam, Xg6 ve Xg16 nolu izolatların zayıf büyüdüğü, diğer izolatların ise büyüemediği; pH 10'da Xg3, Xg5, Xg12 nolu izolatların tam, Xg7 ve Xg16 nolu izolatların zayıf büyüdüğü, diğer izolatların ise büyüemedikleri tespit edildi.

Sıcaklık tolerans testlerine göre 25 ve 30 °C'de inkübasyona bırakılan izolatların tamamının büyüebildikleri; 7 nolu izolatın 37 °C'de zayıf büyüdüğü Xg1, Xg2, Xg3, Xg4, Xg9, Xg14 ve Xg15 nolu izolatların büyümediği, 40 °C'de Xg5, Xg6, Xg8, Xg13 ve Xg16 nolu izolatların büyüebildiği diğer izolatların büyüemedikleri tespit edildi. 45 °C'de hiçbir izolatın büyümediği belirlendi.

NaCl tolerans testlerine göre % 2 NaCl içeren besiyerinde Xg2, Xg4, Xg7, Xg8, Xg11, Xg13 izolatların tam büyüdüğü, Xg1 ve Xg5 nolu izolatların ise zayıf büyüebildikleri, diğer izolatların büyüemedikleri; % 3 NaCl içeren besiyerinde Xg6, Xg9, Xg12, Xg14, Xg16 nolu izolatların tam, Xg5 nolu izolatın zayıf büyüdüğü, diğer izolatların büyüemedikleri; % 4 NaCl içeren besiyerinde Xg6, Xg9, Xg12 ve Xg16 nolu izolatların büyüdüğü, diğer izolatların büyüemedikleri; % 5 NaCl içeren besiyerinde Xg9, Xg12 ve Xg16 nolu izolatların tam, Xg6 nolu izolatın zayıf büyüdüğü, diğer izolatların ise büyümediği; %7 NaCl içeren besiyerinde Xg9, Xg12, Xg16 nolu izolatların büyüdüğü, diğer izolatların büyüemedikleri; %10 NaCl içeren besiyerinde Xg9 ve Xg16 nolu izolatın tam, Xg12 nolu izolatın zayıf büyüdüğü, diğer izolatların büyüemedikleri tespit edildi. %12 ve %15 NaCl içeren besiyerlerinde ise izolatların hiçbirinin büyüemedikleri görüldü.

Tablo 3.1. İzolatların Morfolojik Özellikleri

İzolatlar	Koloni Rengi	Steromik. Rengi	Koloni Şekli	Bakteri Şekli	Gram Boyama	Spor Boyama	Hareketlilik
Xg1	Krem	Koyu Kahverengi	Düz Yuvarlak	Kokkobasil	-	-	-
Xg2	Krem	Kahverengi	Düz Yuvarlak	Kokkobasil	-	-	-
Xg3	Krem	Açık Kahverengi	Düz Yuvarlak	Basil	-	-	+
Xg4	Krem	Krem	Dalgalı Yuvarlak	Basil	-	-	+
Xg5	Krem	Açık Kahverengi	Düz Yuvarlak	Kokus	+	-	-
Xg6	Krem	Koyu Kahverengi	Düz Yuvarlak	Kokus	+	-	-
Xg7	Sarı	Sarı	Düz Yuvarlak	Kokus	-	-	+
Xg8	Krem	Koyu Kahverengi	Düz Yuvarlak	Kokus	+	-	-
Xg9	Krem	Koyu Kahverengi	Düz Yuvarlak	Basil	-	-	+
Xg10	Yarı saydam	Açık Kahverengi	Dalgalı Yuvarlak	Kokus	-	-	+
Xg11	Yarı saydam	Açık Kahverengi	Düz Yuvarlak	Kokus	-	-	+
Xg12	Sarı-Turuncu	Açık Kahverengi	Düz Yuvarlak	Basil	+	-	-
Xg13	Krem	Açık Kahverengi	Düz Yuvarlak	Kokkobasil	-	-	+
Xg14	Krem	Açık Kahverengi	Düz Yuvarlak	Kokkobasil	-	-	-
Xg15	Sarı	Sarı	Düz Yuvarlak	Kokus	-	-	+
Xg16	Turuncu	Açık Kahverengi	Düz Yuvarlak	Basil	+	-	-

Tablo 3.2. İzolatların Fizyolojik Özellikleri

Testler	İzolatlar															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
pH 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH 5	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
pH 7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 9	-	+	+	-	+	ZB	+	-	-	-	-	+	-	-	-	ZB
pH 10	-	-	+	-	+	-	ZB	-	-	-	-	+	-	-	-	ZB
Kontrol (NB)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2% NaCl	ZB	-	+	-	ZB	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+
3% NaCl	-	-	-	-	ZB	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+
4% NaCl	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
5% NaCl	-	-	-	-	-	ZB	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
7% NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
10% NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	ZB	-	-	-	+
12% NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15% NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C	-	-	-	-	+	+	ZB	+	-	-	-	+	+	-	-	+
40°C	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+

NB: Nutrient Broth, ZB: Zayıf Büyüme, +: Büyüme var, -: Büyüme yok.

3.2.3 İzolatların Toplam Hücresel Yağ Asiti Profilleri

İzolatların toplam hücresel yağ asidi profillerinin belirlenmesi amacıyla Sherlock Mikrobiyal İdentifikasyon Sistemi (MIS) kullanıldı. Bu yöntemde öncelikle hücresel yağ asitleri saflaştırıldı. Saflaştırılan hücresel yağ asitlerine metil bağlanarak yağ asidi metil esterleri oluşturuldu. Daha sonra yağ asidi metil esterlerine hekzan bağlanarak, MIS cihazında, gaz kromatografisi yöntemiyle izolatların hücresel yağ asitlerinin cinsi, karbon sayısı, karbonlar arasındaki çift bağ sayısı, mevcut yağ asitlerinin konfigürasyonlarına göre durumları ve izolatlardaki yüzde olarak miktarları belirlendi. İzolatların hücresel yağ asidi profilleri sistem bünyesinde bulunan elektronik kütüphaneye (Microbial Identification System-Library Generation Software) karşılaştırılarak, izolatların toplam hücresel yağ asidi profillerine göre tanısı yapıldı. İzolatların hücresel yağ asidi profilleri Tablo 3.3’ de verilmiştir.

MIS cihazı verilerinde bazı yağ asitleri tanımlanamamış ve “unknown” şeklinde verilmiştir. Bu tanımlanamayan yağ asitlerinin, toplam hücresel yağ asitleri içindeki oranları ise hesaplanmıştır. Ancak bu bilgilere tabloda yer verilmemiştir.

Bazı yağ asitleri tam olarak çözülememiş ve MIS cihazı verilerinde “summed feature” olarak verilmiştir. Bu yağ asitlerinin elde edilme zamanları göz önünde tutularak neler olabileceği verilerde belirtilmiş ve toplam hücresel yağ asitleri içindeki oranları hesaplanmıştır.

Yapılan bu çalışmada, yağ asidi profillerine göre izolatların içerdikleri yağ asitlerindeki karbon sayıları 9-20 arasında olduğu belirlendi. İzolatların toplam 46 farklı yağ asidi içerdiği tespit edildi. Tüm izolatların C16:0 (Palmitik asit) doymuş yağ asidi içerdikleri belirlendi.

Xg1 nolu izolatin içerdiği toplam hücresel yağ asiti profilinin %28,51’ini doymuş yağ asiti, %71,15’ini doymamış yağ asitinin oluşturduğu belirlendi. Bu izolatin 13 farklı yağ asiti profiline sahip olduğu ve en fazla miktarda (%41,76) 18:1 ω 9c (18 karbonlu, omega grubunun 9. karbonunda çift bağ bulunan tekli doymamış bir yağ asiti) içerdiği belirlendi.

Xg2 nolu izolatin içerdiği toplam hücresel yağ asiti profilinin %29,53’ünü doymuş yağ asiti, %70,37’sini doymamış yağ asitinin oluşturduğu belirlendi. Bu

izolatın 12 farklı yağ asiti profiline sahip olduğu ve en fazla miktarda (%41,76) 18:1 ω 9c (18 karbonlu, omega grubunun 9. karbonunda çift bağ bulunan tekli doymamış bir yağ asiti) içerdiği belirlendi.

Xg3 nolu izolatın içerdiği toplam hücre sel yağ asiti profilinin %75,74'ünü doymuş yağ asiti, %24,04'ünü doymamış yağ asitinin oluşturduğu belirlendi. Bu izolatın 29 farklı yağ asiti profiline sahip olduğu ve 11:0 iso (11 karbonlu, iso konfigürasyonuna sahip doymuş yağ asiti), 11:0 anteiso (11 karbonlu, anteiso konfigürasyonuna sahip doymuş yağ asiti), 11:0 iso 3OH (11 karbonlu, α grubunun 3. karbonuna bağlı bir OH grubu bulunan, iso konfigürasyonuna sahip doymuş yağ asiti) 11:0 3OH (11 karbonlu, α grubunun 3. karbonuna bağlı bir OH grubu bulunan doymuş yağ asiti), 12:0 iso 3OH (12 karbonlu, α grubunun 3. karbonuna bağlı bir OH grubu bulunan, iso konfigürasyonuna sahip doymuş yağ asiti), 13:0 iso 3OH (13 karbonlu, α grubunun 3. karbonuna bağlı bir OH grubu bulunan, iso konfigürasyonuna sahip doymuş yağ asiti), 13:0 2OH (13 karbonlu, α grubunun 2. karbonuna bağlı bir OH grubu bulunan doymuş yağ asiti), 15:1 iso F, 16:1 ω 9c (16 karbonlu, omega grubunun 9. karbonunda çift bağ bulunan tekli doymamış yağ asiti) içermesiyle diğer izolatlardan farklı 9 yağ asiti içerdiği belirlendi.

Xg4 nolu izolatın içerdiği toplam hücre sel yağ asiti profilinin %41,43'ünü doymuş yağ asiti, %58,57'sini doymamış yağ asitinin oluşturduğu belirlendi. Bu izolatın 14 farklı yağ asiti profiline sahip olduğu ve en fazla miktarda (%36,83) 16:0 doymuş yağ asiti içerdiği tespit edildi.

Xg5 nolu izolatın içerdiği toplam hücre sel yağ asiti profilinin tümünü doymuş yağ asitlerinin oluşturduğu ve izolatın toplam yağ asit miktarının %42,14'ünü 15:0 iso (15 karbonlu, iso konfigürasyonuna sahip bir yağ asiti) olduğu belirlendi. Bu izolatın 14 farklı yağ asiti profiline sahip olduğu ve 16:1 ω 11c (16 karbonlu, omega grubunun 11. karbonunda çift bağ bulunan tekli doymamış yağ asiti) içermesiyle diğer izolatlardan farklı bir yağ asiti içerdiği tespit edildi.

Xg6 nolu izolatın içerdiği toplam hücre sel yağ asiti profilinin tümünü doymuş yağ asitlerinin oluşturduğu ve izolatın toplam yağ asit miktarının %50,27'sini 15:0 Anteiso (15 karbonlu, anteiso konfigürasyonuna sahip bir yağ

asiti) olduğu belirlendi. Bu izolatin 10 farklı yağ asiti profiline sahip olduğu belirlendi.

Xg7 nolu izolatin içerdiği toplam hücrel yağ asiti profilinin %41,12'sini doymuş yağ asiti, %58,88'ini doymamış yağ asitinin oluşturduğu belirlendi. İzolatin toplam yağ asit miktarının %30,96'sını 16:0 (16 karbonlu bir yağ asiti) olduğu belirlendi. Bu izolatin 10 farklı yağ asiti profiline sahip olduğu belirlendi.

Xg8 nolu izolatin içerdiği toplam hücrel yağ asiti profilinin tümünü doymuş yağ asitlerinin oluşturduğu ve izolatin toplam yağ asit miktarının %39,56'sını 15:0 Anteiso (15 karbonlu, anteiso konfigürasyonuna sahip bir yağ asiti) olduğu belirlendi. Bu izolatin 14 farklı yağ asiti profiline sahip olduğu ve 18:0 iso (18 karbonlu, iso konfigürasyonuna sahip bir yağ asiti) içermesiyle diğer izolatlardan farklı bir yağ asiti içerdiği tespit edildi.

Xg9 nolu izolatin içerdiği toplam hücrel yağ asiti profilinin %41,37'sini doymuş yağ asiti, %58,61'ini doymamış yağ asitinin oluşturduğu belirlendi. İzolatin toplam yağ asit miktarının %36,37'sinin C16:0 (16 karbonlu bir yağ asiti) olduğu belirlendi. Bu izolatin 12 farklı yağ asiti profiline sahip olduğu belirlendi.

Xg10 nolu izolatin içerdiği toplam hücrel yağ asiti profilinin %42,89'ünü doymuş yağ asiti, %57,11'ini doymamış yağ asitinin oluşturduğu belirlendi. İzolatin toplam yağ asit miktarının %33,55'inin 16:0 (16 karbonlu bir yağ asiti) olduğu belirlendi. Bu izolatin 7 farklı yağ asiti profiline sahip olduğu belirlendi.

Xg11 nolu izolatin içerdiği toplam hücrel yağ asiti profilinin %46,71'ini doymuş yağ asiti, %53,29'ünü doymamış yağ asitinin oluşturduğu belirlendi. İzolatin toplam yağ asit miktarının %35,76'ini 16:0 (16 karbonlu bir yağ asiti) olduğu belirlendi. Bu izolatin 8 farklı yağ asiti profiline sahip olduğu belirlendi.

Xg12 nolu izolatin içerdiği toplam hücrel yağ asiti profilinin tümünü doymuş yağ asitlerinin oluşturduğu ve izolatin toplam yağ asit miktarının %54,24'ünü 15:0 Anteiso (15 karbonlu, anteiso konfigürasyonuna sahip bir yağ asiti) olduğu belirlendi. Bu izolatin 6 farklı yağ asiti profiline sahip olduğu belirlendi.

Xg13 nolu izolatin içerdiği toplam hücrel yağ asiti profilinin %36,67'sini doymuş yağ asiti, %63,33'ünü doymamış yağ asitinin oluşturduğu ve izolatin toplam yağ asit miktarının %29,24'ünü 16:0 (16 karbonlu sahip bir yağ asiti) olduğu belirlendi. Bu izolatin 6 farklı yağ asiti profiline sahip olduğu ve 16:0 3OH

(16 karbonlu, α grubunun 3. karbonuna bağlı bir OH grubu bulunan doymuş yağ asiti) içermesiyle diğer izolatlardan farklı bir yağ asiti içerdiği tespit edildi.

Xg14 nolu izolatan içerdiği toplam hücreselel yağ asiti profilinin %48,99'ünü doymuş yağ asiti, %51'ini doymamış yağ asitinin oluşturduğu belirlendi. İzolatan toplam yağ asit miktarının %37,03'ünü 16:0 (16 karbonlu bir yağ asiti) olduğu belirlendi. Bu izolatan 11 farklı yağ asiti profiline sahip olduğu belirlendi.

Xg15 nolu izolatan içerdiği toplam hücreselel yağ asiti profilinin %40,21'ini doymuş yağ asiti, %59,13'ünü doymamış yağ asitinin oluşturduğu ve izolatan toplam yağ asit miktarının %30,45'ini 16:0 (16 karbonlu, bir yağ asiti) olduğu belirlendi. Bu izolatan 8 farklı yağ asiti profiline sahip olduğu ve 9:0 (9 karbonlu doymuş yağ asiti) içermesiyle diğer izolatlardan farklı bir yağ asiti içerdiği tespit edildi.

Xg16 nolu izolatan içerdiği toplam hücreselel yağ asiti profilinin tümünü doymuş yağ asitlerinin oluşturduğu ve izolatan toplam yağ asit miktarının %63,97'sini 15:0 Anteiso (15 karbonlu, anteiso konfigürasyonuna sahip bir yağ asiti) olduğu belirlendi. Bu izolatan 8 farklı yağ asiti profiline sahip olduğu belirlendi.

İzolatlarnn yağ asiti sonuçlarına göre benzediği bakteriler Tablo 3.4' de verilmektedir.

Tablo 3.3. İzolatların Toplam Yağ Asit Oranları

Yağ Asitleri*	İzolatlar															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
<i>Saturated</i>																
9:0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,16	-
10:0	1,57	1,67	0,33	0,13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12:0	3,27	3,77	-	2,09	-	-	3,77	-	2,52	3,89	4,14	-	3	4,18	4,08	-
14:0	0,31	0,38	1,99	0,57	0,65	-	5,37	-	0,59	5,45	6,26	-	0,81	5,75	5,52	-
15:0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:0	19,25	20,09	6,95	36,83	2,17	1,59	30,96	0,67	36,37	33,55	35,76	0,62	29,24	37,03	30,45	0,53
17:0	1,81	1,95	0,15	0,14	-	-	0,49	-	-	-	-	-	0,75	1,08	-	-
18:0	1,95	1,77	-	1,32	0,75	8,57	0,53	5,48	1,52	-	0,55	-	0,97	0,6	-	-
19:0	-	-	-	-	-	-	-	0,99	-	-	-	-	-	-	-	-
20:0	-	-	-	-	3,98	9,61	-	9,37	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Unsaturated</i>																
15:1 iso F	-	-	1,22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:1 ω9c	-	-	2,05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 3.3'ün devamı

16:1 ω11c	-	-	-	-	0,36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17:1 ω 8c	1,46	1,9	0,44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17:1 iso ω10c	-	-	-	-	0,37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:1 ω 9c	41,76	39,4	0,31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<u>Branched</u>																
11:0 iso	-	-	3,27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11:0 antesio	-	-	0,22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13:0 iso	-	-	0,22	-	1,02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13:0 antesio	-	-	0,21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,32
14:0 iso	-	-	2,26	-	0,84	0,26	-	0,91	-	-	-	-	-	-	-	0,27
15:0 iso	-	-	26,58	-	42,14	2,05	-	6,39	-	-	-	4,71	-	-	-	3,63
15:0 antesio	-	-	26,24	-	22,57	50,27	-	39,56	-	-	-	54,24	-	-	-	63,9 7
16:0 iso	-	-	4,59	-	1,14	-	-	0,53	-	-	-	4,44	-	-	-	3,37
17:0 iso	0,35	-	2,36	-	14,31	2,71	-	4,36	-	-	-	0,84	-	-	-	0,5
17:0 antesio	-	-	0,37	-	6,96	18,06	-	7,99	-	-	-	35,14	-	-	-	27,4 1
18:0 iso	-	-	-	-	-	-	-	1,25	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo3.3'ün devamı

19:0 iso	–	–	–	0,35	1,49	1,53	–	10,5	0,37	–	–	–	–	0,35	–	–
19:0 antesio	–	–	–	–	1,25	5,35	–	11,35	–	–	–	–	–	–	–	–
20:0 iso	–	–	–	–	–	–	–	0,65	–	–	–	–	–	–	–	–
<u>Hydroxy</u>																
10:0 3OH	–	–	0,23	3,03	–	–	–	–	2,7	–	–	–	–	–	–	–
11:0 iso 3OH	–	–	1,57	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
11:0 3OH	–	–	0,15	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
12:0 2OH	4,02	3,74	–	4,7	–	–	–	–	4,17	–	–	–	–	–	–	–
12:0 iso 3OH	7,06	–	0,6	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
12:0 3OH	–	7,14	2,05	4,35	–	–	–	–	4,41	–	–	–	–	–	–	–
13:0 2OH	–	–	1,46	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
13:0 iso 3OH	–	–	2,11	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
14:0 2OH	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
16:0 3OH	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1,9	–	–	–
<u>Cyc CYCLO</u>																
17:0 cyclo	–	–	0,99	22,55	–	–	11,94	–	16,84	8,67	12,25	–	8,84	21,89	6,98	–
19:0 cyclo ω8c	–	–	–	2,38	–	–	0,43	–	1,49	–	–	–	1,43	4,95	–	–

Tablo3.3'ün devamı

Summed Feature 2 12:0 ALDE? 16:1: iso I 14:0 3 OH Unknown 10.928	-	-	-	-	-	-	9,43	-	-	10,48	8,73	-	9,56	9,43	9,83	-
Summed Feature 3 16:1 ω7c/16:1 ω7/6c	16,27	17,59	6,45	12,96	-	-	21,22	-	18,41	26,25	22,89	-	22,92	6,48	25,73	-
Summed Feature 8 18:1 ω7/6c	0,58	0,6	0,41	8,6	-	-	15,86	-	10,59	11,71	9,42	-	20,58	8,25	16,59	-
Summed Feature 9 17:1 iso ω9c	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Doymuş Yağ Asidi Konsatrasyonu (%)	28,51	29,63	75,74	41,43	99,27	100	41,12	100	41,37	42,89	46,71	99,99	36,67	48,99	40,21	100
Doymamış Yağ Asidi Konsatrasyonu (%)	71,15	70,37	24,04	58,57	0,73	0	58,88	0	58,61	57,11	53,29	0	63,33	51	59,13	0
Toplam Konsatrasyon (%)	99,66	100	99,78	100	100	100	100	100	99,98	100	100	99,99	100	99,99	99,34	100

*** 9:0 pelargonic acid, 10:0 capric acid, 12:0 lauric acid, 14:0 myristic acid, 15:0 pentadecylic acid, 16:0 palmitic acid, 17:0 margaric acid, 18:0 stearic acid, 20:0 arachidic acid, 15:1pentadecenoic acid, 16:1 palmitoleic acid, 17:1 heptadecenoic acid, 18:1cis oleic acid.

Tablo 3.4. *Xylosandrus germanus*'dan İzole Edilen İzolatların Yağ Asit İçeriklerine Göre Benzedeği Bakteriler ve Oranları

İzolatlar	Yağ Asit Sonuçları	% Oranı
Xg1	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	84,6
Xg2	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	76,5
Xg3	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	51,1
Xg4	<i>Pseudomonas agarici</i>	12,9
Xg5	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	54,3
	<i>Staphylococcus sciuri</i>	43,3
Xg6	<i>Staphylococcus cohnii cohnii</i>	23,8
Xg7	<i>Raoultella terrigena</i>	76,2
	<i>Pantoea agglomerans</i> GC subgroup B (Enterobacter)	75,7
Xg8	<i>Staphylococcus hominis hominis</i>	66,6
Xg9	<i>Pseudomonas agarici</i>	35,7
Xg10	<i>Erwinia rhapontici</i>	71,2
Xg11	<i>Erwinia amylovora</i>	57,7
Xg12	<i>Brevibacterium casei</i>	80,5
Xg13	<i>Pantoea agglomerans</i> GC subgroup C (Enterobacter)	61,7
Xg14	<i>Ewingella americana</i>	76,5
Xg15	<i>Serratia odorifera</i>	75,9
Xg16	<i>Brevibacterium epidermidis/iodinum</i>	81,6

3.2.4 İzolatların Biyokimyasal Özellikleri

İzolatların biyokimyasal özelliklerini tespit etmek ve bu sayede tanımlama yapabilmek için Vitek 2 sistemi kullanılmıştır. İzolatların biyokimyasal özellikleri Gram pozitif ve Gram negatif olmalarına göre Tablo 3.5 ve 3.6'da verilmiştir.

Bu sistem için izolatlar nutrient agarda büyütüldü. Her bir izolattan 3-4 tane koloni steril öze ile alınarak steril tuzlu su bulunan plastik tüplere aktararak süspansiyon hazırlandı. Hazırlanan süspansiyon homojenize edilerek DensiChek adı verilen yoğunluğu 0,50-0,63 McFarland'a ayarlandı. Daha sonra süspansiyon tüpü ile birlikte identifikasyon kartları (ID) kasete yerleştirildi. ID kartları üzerindeki seri numaraları barkod okuma sistemi ile bilgisayara kaydedilir. Kaydedilen kaset cihazın otomatik inokülasyon kısmına yerleştirilir. Cihaz bu bölümde ters osmatik basınç uygulayarak test tüpleri içerisindeki süspansiyonun

ID kartlara geçmesini sağlar. Daha sonra kaset inokülasyon kısmından alınarak inkübasyon kısmına yerleştirilir. Burada ID kartlar $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edilir. Her 15 dakikalık döngüler ile kartlardaki renk değişimi optik sistem ile ölçülerek dalga boyları kaydedilir.

Tablo 3.5. *Xylosandrus germanus*'dan İzole Edilen Gram Negatif İzolatların Biyokimyasal Özellikleri

Testler	İzolatlar											
	1	2	3	4	7	9	10	11	13	14	15	
Ala-Phe-Pro-Arilamidaz	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Adonitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Pyrrlydonyl- Arilamidaz	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	
L-Arabitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
D-Cellobiose	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	
Beta-Galactosidase	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
H ₂ S Production	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Beta-N-Acetyl-Glucosaminidase	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	
Glutamyl Arilamidaz pNA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
D-Glucose	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
Gamma-Glutamyl-Transferase	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	
Fermentation/Glucose	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	
Beta-Glucosidase	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	
D-Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
D-Mannitol	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	
D-Mannose	-	-	-	-	+	-	(-)	-	+	+	+	
Beta-Xylosidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Beta-Alanine Arilamidaz pNA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
L-Proline Arilamidaz	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	
Lipase	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
Palatinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Tyrosine Arilamidaz	(-)	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	
Urease	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
D-Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Saccharose/Sucrose	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	
D-Tagatose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
D-Trehalose	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	

Tablo 3.5.'in devamı

Citrate (Sodium)	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-
Malonate	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+
5-Keto-D-Gluconate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Lactate alkalisation	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Alpha-Glucosidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Succinate alkalisation	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Beta-N-Acetyl-Galactosaminidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alpha-Galactosidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phosphatase	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	(+)
Glycine Arilamidaz	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Ornithine Decarboxylase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lysine Decarboxylase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Histidine assimilation	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Courmarate	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-
Beta-Glucuronidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O/129Resistance (comp.vibrio.)	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
Glu-Gly-Arg-Arilamidaz	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Malate assimilation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ellman	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
L-Lactate assimilation	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-

+: pozitif, - : negatif, (+): Pozitif eşik değerine yakın, (-): Negatif eşik değerine yakın.

Tablo 3.6. *Xylosandrus germanus*'dan İzole Edilen Gram Pozitif İzolatların Biyokimyasal Özellikleri

Testler	İzolatlar				
	5	6	8	12	16
D-Amygdalin	+	-	-	-	-
Phosphatidylinositol Phospholipase C	-	-	-	-	-
D-Xylose	+	-	-	-	-
Arginine Dihydrolase 1	+	+	+	+	-
Beta-Galactosidase	-	-	+	-	-
Alpha-Glucosidase	-	-	+	-	-
Ala-Phe-Pro Arilamidaz	-	-	-	-	-
Cyclodextrin	-	-	-	-	-
L-Aspartate Arilamidaz	-	-	-	-	-
Beta Galactopyranosidase	-	-	-	-	-
Alpha-Mannosidase	-	-	-	-	-
Phosphatase	-	-	-	-	-
Leucine Arilamidaz	-	-	-	-	-
L-Proline Arilamidaz	-	-	-	+	+
Beta Glucuronidase	+	-	-	-	-
Alpha-Galactosidase	-	-	-	-	-
L-Pyrrolydonyl-Arilamidaz	-	+	-	-	-
Beta-Glucuronidase	+	+	-	-	-
Alanine Arilamidaz	-	-	-	+	+
Tyrosine Arilamidaz	-	-	-	-	-
D-Sorbitol	-	-	-	-	-
Urease	-	+	+	-	-
Polymixin B Resistance	-	-	-	-	-
D-Galactose	-	-	+	-	-
D-Ribose	+	+	-	-	-
L-Lactate alkalinization	+	-	-	+	+
Lactose	+	-	-	-	-
N-Acetyl-D-Glucosamine	-	-	-	-	-
D-Maltose	+	+	+	-	-
Bacitracin Resistance	+	-	-	-	-
Novobiocin Resistance	+	-	-	-	-
Growth in 6.5% NaCl	+	+	+	-	-

Tablo 3.6.'nın devamı

D-Mannitol	+	-	-	-	-
D-Mannose	+	-	+	-	-
Methyl-B-D-Glucopyranoside	+	-	-	-	-
Pullulan	-	-	-	-	-
D-Raffinose	-	-	-	-	-
O/129 Resistance (comp. Vibrio.)	-	+	+	-	-
Salicin	+	-	-	-	-
Saccharose/Sucrose	+	+	+	-	-
D-Trehalose	+	+	+	-	-
Arginine Dihydrolase 2	-	-	-	+	-
Optochin Resistance	+	+	+	-	-

+: pozitif, - : negatif, (+): Pozitif eşik değerine yakın, (-): Negatif eşik değerine yakın.

Vitek 2 cihazı kullanılarak yapılan deneyler sonucu izolatların benzediği bakterileri Tablo 3.7'de verilmektedir. Vitek 2 sonuçlarına göre Xg1 ve Xg2 izolatları %91 oranında *Acinetobacter haemolyticus*, Xg3 izolatu %99 oranında *Stenotrophomonas maltophilia*, Xg4 ve Xg9 izolatları sırasıyla %99 ve %95 oranında *Pseudomonas fluorescens*, Xg5 izolatu %97 oranında *Staphylococcus sciuri*, Xg6 izolatu %99 oranında *Staphylococcus warneri*, Xg7 izolatu %98 oranında *Pantoea agglomerans*, Xg8 izolatu %94 oranında *Staphylococcus hominis hominis*, Xg10 ve Xg11 izolatları %89 oranlarında *Sphingomonas paucimobilis*, Xg12 ve Xg16 sırasıyla %93 ve %97 oranlarında *Dermacoccus nishinomiyaensis*, Xg13 izolatu %93 oranında *Acinetobacter lwoffii*, Xg14 izolatu %95 oranında *Pseudomonas luteola* ve Xg15 izolatu %95 oranında *Pantoea agglomerans* bakterilerine benzemektedir.

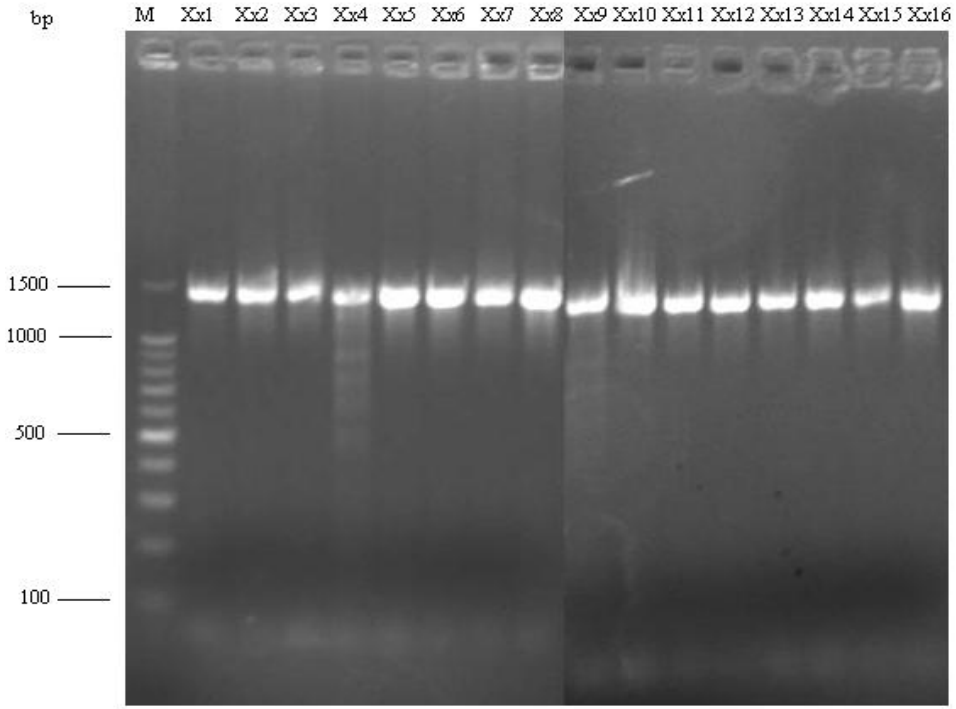
Tablo 3.7. *Xylosandrus germanus*'dan İzole Edilen İzolatların Vitek 2 Sonuçlarına Göre Benzediği Bakteriler ve Oranları

İzolatlar	Vitek 2 Sonuçları	% Oranı
Xg1	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	91
Xg2	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	91
Xg3	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	99
Xg4	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	99
Xg5	<i>Staphylococcus sciuri</i>	97
Xg6	<i>Staphylococcus warneri</i>	99
Xg7	<i>Pantoea agglomerans</i>	98
Xg8	<i>Staphylococcus hominis hominis</i>	94
Xg9	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	95
Xg10	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	89
Xg11	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	89
Xg12	<i>Dermacoccus nishinomiyaensis/Kytococcus sedentarius</i>	93
Xg13	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	93
Xg14	<i>Pseudomonas luteola</i>	95
Xg15	<i>Pantoea agglomerans</i>	95
Xg16	<i>Dermacoccus nishinomiyaensis/ Kytococcus sedentarius</i>	97

3.2.5 İzolatların 16S rDNA Analiz Sonuçları

Çalışmamızda çoğaltılmış olan 16S rDNA'nın baz sırası tayini MacroGen firmasına yaptırılmıştır. Elde edilen veriler Bioedit, Fast PCR ve FinchTv programları kullanılarak değerlendirilmiştir. Tür tayini araştırmacıların kullanımına açık olan Gen Bankası'nın web sayfasında, nükleotid dizilerinin kıyaslanarak benzerliklerin incelenmesi ile yapılmıştır. Her bir izolata ait sekans dizisi ve Gen Bankası'ndan elde edilen sonuçlar sırasıyla verilmiştir.

MacroGen firmasına gönderilen ürünler yaklaşık 1500 bp uzunluktadır. Bu uzunlukta ürünün 1 primer seti (forward ve reverse) kullanılarak okunması durumunda metot kaynaklı olarak arada okunmamış bölgeler oluşmaktadır, her bir primerin yaklaşık 600 bazlık kısmı doğru olarak okuduğu düşünülmelidir. Reverse primerle elde edilen sekansın bir kısmının forward primer ile okunan sekansla eşleştirilmesi çalışmanın güvenilirliği açısından çok önemlidir (Dale ve Von Schantz, 2002). Bu nedenle 1500 bp'lik PCR ürününün mümkün olan en uzun sekans dizisinin elde edilmesi amacı ile dizi analizleri forward ve reverse primerlerinin sekans programları kullanılmıştır.



Şekil 3.1. *Xylosandrus germanus*'dan izole edilen izolatların 16S rDNA PCR ürünleri.

Firma tarafından e-posta yoluyla gönderilen sekans sonuçları sekans aletinden çıkan ve herhangi bir işleme uğramamış olan verileri içermektedir. Her tür için 2 primer tarafından belirlenen 2 sonuç gönderilmiştir. FinchTv programında bu 2 farklı sonuç birleştirilerek her suş için tek bir sekans dizisi oluşturulmuştur. Bu işlem yapılırken aynı zamanda primerlerin ortak belirlediği sekanslarda eşleştirilerek kontrolü sağlanmıştır. Aşağıda verilen tüm sekans sonuçları 5' 3' doğrultusundadır (Ekler). Tablo 3.8' de yer alan sekans sonuçlarının başında verilen kod numaraları, çalışmamızda elde ettiğimiz sekans dizilerinin blast işlemi sırasında çıkan bizim sekansımızla en yüksek benzerliğe sahip gen bankasına kayıtlı olan sekansın kayıt numarasıdır.

Tablo 3.8. İzolatların 16S rDNA Dizilerine Göre Tür Tayinleri

İzolat No	Kayıt No	16S rDNA Dizisine Göre En Fazla Benzediği Bakteri	% Oranı
Xg1	AB207814	<i>Acinetobacter psychrotolerans</i>	99
Xg2	AB207814	<i>Acinetobacter psychrotolerans</i>	99
Xg3	EF620448.1	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> strain ISSDS-429	99
Xg4	EF602564	<i>Pseudomonas fluorescens</i> strain ESR94	99
Xg5	AB233331	<i>Staphylococcus sciuri</i> subsp. <i>carnaticus</i>	99
	AB233332	<i>Staphylococcus sciuri</i> subsp. <i>rodentium</i>	99
	NR_025520	<i>Staphylococcus sciuri</i> subsp. <i>sciuri</i> strain DSM 20345	99
Xg6	GU397393	<i>Staphylococcus warneri</i> strain E21	99
	EU373323	<i>Staphylococcus pasteurii</i> strain SSL11	99
Xg7	EF050808	<i>Pantoea agglomerans</i> strain PGHL1	99
	HQ236020	<i>Pantoea ananatis</i> strain SAD2-6	99
Xg8	AB233326	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i> strain: GTC 1228	99
Xg9	EU364534	<i>Pseudomonas fluorescens</i> strain CN078	99
Xg10	AM055711	<i>Erwinia billingiae</i> strain Eb661	99
	HM008951	<i>Erwinia rhapontici</i> strain M52	98
	AM184098	<i>Erwinia persicinus</i> strain 52	98
Xg11	FP236843.1	<i>Erwinia billingiae</i> strain Eb661	99
Xg12	AY299093	<i>Brevibacterium aureum</i> strain Enb17	99
	AY243345	<i>Brevibacterium linens</i> strain VKM Ac-2119	99
	FJ652620	<i>Brevibacterium iodinum</i> strain ATCC 15728	98
	EU046495	<i>Brevibacterium epidermidis</i> strain ZJB-07021	98
	NR_025732	<i>Brevibacterium permense</i> strain VKM Ac-2280	98
Xg13	AJ864471	<i>Advenella kashmirensis</i> strain 445A	98
	AM944735	<i>Advenella incenata</i>	98
Xg14	FJ811867	<i>Pantoea cedenensis</i> strain 16-CDF	99
Xg15	FJ999950	<i>Pantoea agglomerans</i> strain EQH21	99
	HQ236020	<i>Pantoea ananatis</i> strain SAD2-6	98
Xg16	GU576981	<i>Brevibacterium epidermidis</i> strain SW34	99
	AB211980	<i>Brevibacterium linens</i>	98
	AY299092	<i>Brevibacterium aureum</i> strain Enb15	99
	NR_026241	<i>Brevibacterium iodinum</i> strain DSM 2062	98
	NR_025732	<i>Brevibacterium permense</i> strain VKM Ac-2280	98

3.3 İzolatların İnsektisidal Etkileri

Xylosandrus germanus'dan izole edilen izolatların insektisidal etkilerinin belirlenmesi amacıyla izolatlardan hazırlanan bakteriyel numuneler *Leptinotarsa decemlineata*, *Agelastica alni* ve *Galleria mellonella* böceklerine uygulandı. Bu uygulamalar farklı dönemlerde yapıldı. Laboratuarda normal şartlar altında yürütülen çalışmada *L. decemlineata*, *A. alni* türleri için ayrı ayrı takip edilen kontrol gruplarında çok yüksek ölüm (%86-79) gözlenmesi nedeniyle sonuç elde edilemedi. *G. mellonella* için yapılan bioassay çalışmalarında izolatların bu böcek üzerinde hiçbir insektisidal etki tespit edilemedi.

3.4 İzolatların Bitki Patojeni Bakteriler Üzerindeki Antibakteriyel Etkileri

İnkübasyon sonrası in vitro yapılan testlerde patojen bakteriler üzerine çizgi ekim yapılarak patojen bakterilerin büyümesini inhibe edecek herhangi bir etkin madde içeriğine sahip olabilecek izolatların zon çapı oluşturmadığı görülmüştür. Test edilen izolatların patojen bakteriler üzerinde onların büyümesini engelleyici herhangi bir antibakteriyel etkileri bulunmamıştır.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bitkilerin verim ve kalitesini azaltan organizmalar arasında; hastalık etmeni olarak bilinen patojenler (fungus, bakteri, virüs ve mikoplazma) ve zararlılar olarak bilinen hayvansal organizmalar (böcekler, akarlar, nematodlar, salyangozlar, sümüklü böcekler, kemirgenler, memeliler ve kuşlar) sayılabilir. Bu organizmalar bitkilerde verim ve kaliteyi düşürmek suretiyle ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Gıda ve Tarım Teşkilatı (Food and Agriculture Organization, FAO) tarafından yayınlanan istatistiklere göre her yıl dünya tarım ürünlerinin en az %12'lik bir bölümü (tarla ve depo şartlarında) patojen mikroorganizmaların neden olduğu bitki hastalıkları ve %20'lik bir bölümü ise böceklerden dolayı kaybedilmektedir (Agrios, 1997). Bu oran az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde daha fazladır (Dadaşoğlu, 2007).

Bilindiği gibi fındık, tarımsal gelir ve sağladığı ihracat bakımından Türkiye'nin stratejik ürünlerinden biridir. Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi, Türkiye fındık üretiminin yaklaşık olarak % 65'ini sağlamak ve aynı zamanda Karadeniz Bölgesinin en önemli tarımsal ürünüdür. Türkiye'de fındık bahçelerinde verimi düşüren birçok faktör vardır. Bu faktörlerden biri de fındık bahçelerinde bulunan zararlılardır.

Zararlı böceklerle yapılan çalışmalarda böceklerden izole edilen bakteriler tanımlanmakta (Sezen vd., 2007; Sezen vd., 2008; İnce vd., 2008) ve bu bakterilerin insektisidal aktiveleri araştırılmaktadır. Ayrıca tarımda, meyve ve sebze üretiminde ciddi ürün kayıplarına yol açan bitki patojeni bakterilere karşı böceklerden izole edilen bakterilerin antibakteriyel aktivite çalışmaları yapılmaktadır.

Etkili bir biyolojik mücadele ajanı geliştirmek için zararlı böcekten izole edilen bakterilerin tanımlanması gerekmektedir. Bu amaçla bu projede fındık ve diğer tarım ürünlerinde önemli zararlar yapan yazıcı böceklerinden olan *Xylosandrus germanus*'un bakteriyel florasının tanımlanması amaçlanmıştır. 2008 yılı Haziran-Temmuz aylarında *X. germanus*'dan izole edilen 16 bakteri morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler testler kullanılarak tanımlandı. Ayrıca insektisidal ve antibakteriyel aktivite testleri yapıldı.

Xg1 ve Xg2 izolatlarının morfolojik, yağ asit içerikleri, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri literatür ile karşılaştırılarak incelendiğinde *Acinetobacter* cinsine ait olduğu belirlendi (Bouvet and Grimont, 1987). Ayrıca Bowman ve ark. (1996) *Psychrobacter* türlerini inceledikleri bir çalışmada *Acinetobacter* cinsi bakterilerin Gram negatif, kokkoid, hareketsiz morfolojik özelliklere sahip olduklarını belirtmişlerdir. Jung-Sook ve ark. (2009) yaptıkları bir çalışmada *Acinetobacter* cinsinin bazı türlerinin; Summed feature 3, 16:0 ve 18:1 ω9c yağ asit içeriklerinin yüksek oranlarda olduğu bildirilmektedir. Bu yağ asitleri bizim çalışmamızdaki yağ asit oranları ile benzerdir. Xg1 ve Xg2 nolu izolatların glikozu fermente edemediği, sitratı kullandığı, malonatı kullanmadığı ve L-histidin asimilasyonları yaptıkları görülmektedir. Bu sonuçlar Yamahira ve ark. (2008) yaptıkları çalışma ile uyumludur. Xg1 izolatı; yağ asit ve Vitek 2 sonuçlarına göre *Acinetobacter haemolyticus* bakterisine sırasıyla %84,6 ve 91 oranlarında benzerken, 16S rDNA karşılaştırma sonuçlarına göre bu bakteriye %96 oranında benzediği görülmektedir. Bu oranda benzeyen bir bakterinin yeni tür olabileceği literatürde bildirilmektedir. Xg2 izolatı ise yağ asit ve Vitek 2 sonuçlarına göre *Acinetobacter haemolyticus* bakterisine sırasıyla %76,5 ve 91 oranlarında benzerken, 16S rDNA karşılaştırma sonuçlarına göre ise *Acinetobacter haemolyticus* bakterisine benzemediği görülmektedir. Oysaki 16S rDNA sekans sonuçlarına göre bu izolatlar yüksek oranda (%99) *Acinetobacter psychrotolerans* türüne benzediği tespit edildi. Bu sonuçlara göre bu izolatların *Acinetobacter psychrotolerans* türünün suşları olduklarına karar verildi.

Xg3 izolatının yağ asiti, Vitek 2 ve 16S rDNA sonuçlarına göre sırasıyla %41, %99, %99 oranlarında *Stenotrophomonas maltophilia* bakterisine benzediği görülmektedir. Wolf ve ark. (2002) ve Romanenko ve ark. (2008) yaptıkları çalışmalarda *Stenotrophomonas* türlerine ait yağ asiti analizlerinde 15:0 iso, 15:0 antesio, 16:1 ve 16:0 karbonlu yağ asitlerinin diğer yağ asitlerine göre daha fazla miktarlarda oldukları bildirilmiştir. Bu sonuçlar Xg3 izolatı için yapılan yağ asiti analiz sonuçları ile aynıdır. Daha önce *Pseudomonas maltophilia* ve *Xanthomonas maltophilia* olarak adlandırılan *Stenotrophomonas maltophilia* yaygın olarak doğada bulunmaktadır. *S. maltophilia* sıklıkla bitkilerle beraber bulunur ve buğday, yulaf, salatalık, mısır, patates gibi bitkilerin rizosferinden izole edilebilir (Berg, vd., 1999). Xg3 izolatının *Stenotrophomonas maltophilia* olduğu belirlendi.

Xg4 ve Xg9 izolatları; yağ asiti sonuçlarına göre *Pseudomonas agarici* türüne düşük oranlarda (sırasıyla %12,9 ve 35,7), ancak Vitek 2 sonuçlarına göre *Pseudomonas fluorescens* bakterisine yüksek oranlarda (sırasıyla %99 ve %95) benzediği görülmektedir. Metabolik enzim profillerine göre L- proline arilamidaz, tirozin arilamidaz, glisin arilamidaz enzimlerini üretmektedirler (Rainey ve ark., 1994). Veys ve ark. (1989) klinik türler içerisinde non-fermeting Gram negatif bakterilerin rutin tanımlanmasında gaz kromatografisinin (FAME) uygulaması ile alakalı çalışmalarında Pseudomonadlar için 3OH C10:0, 2-OH C12:0 ve 3OH C12:0, bu üç hidroksi asidin eş zamanlı olarak bulunmasının karakteristik olduğunu belirtmişlerdir. Xg4 ve Xg9 izolatlarının yeni tür olarak yayınlanan bir *Pseudomonas* makalesinde *Pseudomonas fluorescens* bakterisinin 16:0 ve 17:0 cyclo yağ asit profilleri diğer yağ asit oranlarına göre daha yüksek olduğu verilmektedir (Camara vd., 2007). Bu sonuçlar çalışma sonuçları ile uyumluluk göstermektedir. Xg4 ve Xg9 nolu izolatlar 16S rDNA sonuçlarına göre %99 oranlarında *Pseudomonas fluorescens* grup (*P. costantinii*, *P. fluorescens*, *P. poae*, *P. tolaasii*; *P. trivialis*) üyelerine benzemektedir (URL-5). *Pseudomonas fluorescens* grup üyelerinin tür düzeyinde ve suş seviyesinde birbirlerinden ayrılabilmesi için ribotiplendirme tekniği kullanılmaktadır (Behrendt vd., 2003).

Xg5 nolu izolat yağ asiti ve Vitek 2 sonuçlarına göre sırasıyla %43,3 ve %97 oranlarında *Staphylococcus sciuri* bakterisine benzediği ve 16S rDNA sonuçlarına göre *Staphylococcus sciuri* subsp. *carnaticus*, *Staphylococcus sciuri* subsp. *rodentium*, *Staphylococcus sciuri* subsp. *sciuri* alt türlerine %99 oranlarında benzediği belirlendi. 16S rDNA çalışmaları, yağ asit ve vitek 2 sonuçlarına göre *Staphylococcus sciuri* alt türlerine benzediğinden ayrıca G+C içeriğindedir bakıldı ve G+C içeriği %32.5 mol olarak bulundu. Kloos ve ark. (1997) yaptıkları bir çalışmada *Staphylococcus sciuri* bakterisinin alt türlerinin G+C içeriklerinin %35-36 mol arasında olduğu bildirilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada 6 tane *Staphylococcus sciuri* izolatının G+C içeriklerinin %35.3±0.4 mol olduğu tespit edilmiştir (Kloos vd., 1976). Bu sonuçlara göre Xg5 izolatının *Staphylococcus sciuri* bakterisinin farklı bir alt türü olarak tanımlandı.

Xg6 izolatu yağ asiti, Vitek 2 ve 16S rDNA sonuçlarına göre *Staphylococcus* cinsine ait olduğu, yağ asiti sonuçlarına göre düşük oranda (%23,8) *Staphylococcus cohnii cohnii* bakterisine benzediği görülmektedir. Ayrıca

bu izolatın Vitek 2 ve 16S rDNA sonuçlarına göre %99 oranlarında *Staphylococcus warneri* türüne benzediği belirlendi. Wieser (2000) *Staphylococcus*'ların hızlı tanımlanması şeklinde yaptığı bir çalışmada *Staphylococcus*'ların yağ asidi profillerinde en fazla miktarda C15:0, C18:0, C20:0 anteiso'nun ve bunların yanı sıra C15:0 iso, C16:0, C17:0 iso ve C17:0 anteiso yağ asitlerin miktarı az da olsa kayda değer öneme sahip olduğu belirtilmiştir. Kloos ve Schleifer (1975) *Staphylococcus* cinsi bakterilerin izolasyonu ve identifikasyonu üzerine yaptıkları çalışmalarda *Staphylococcus* türlerinin sükroz, trehalose, maltozu karbon kaynağı olarak kullandıklarını, sporsuz ve hareketsiz olduklarını, optimum büyüme sıcaklığının 40-45 °C civarında olduğu ve *Staphylococcus warneri* izolatlarının Novobiocin'e karşı duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Aynı sonuçlar Xg6'nın fizyolojik sonuçlarında büyümenin 40 °C'de olduğu (Tablo 2), morfolojik testlerinde hareketsiz ve sporsuz olduğu (Tablo 1), Vitek 2 sonuçlarına göre de karbon kaynağı olarak sükroz, trehalose, maltozu kullandığı ve novobiocin antibiyotiğine karşı hassas olduğu tespit edilmiştir (Tablo 6). Ayrıca Xg6 nolu izolatın 16S rDNA sonuçlarına göre *Staphylococcus pasteurii* izolatında %99 oranında benzediği görülmektedir. Yapılan bir çalışmada bu iki türü ayırt etmek için rDNA gen restriksiyon polimorfizmi yapılması gerektiği bildirilmektedir (Chesneau, vd. 1993). Ancak Vitek 2 sonuçlarında izolat eğer sarı pigmentli ise *Staphylococcus pasteurii* olacağı vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızda Xg6 nolu izolatın krem renkli koloniye sahip olduğundan *Staphylococcus warneri* olduğuna karar verildi.

Xg7 ve Xg15 nolu izolatların *Pantoea agglomerans* suşları oldukları tespit edildi. Gavini ve ark. (1989) yeni *Pantoea* türlerinin tanımlanmasında kayıtlı *Pantoea sp.* ATCC suşlarını referans aldığı bir çalışmada bu türün hareketli, sporsuz ve sarı pigment üretebilen morfolojik özelliklere sahip olduğunu belirtmişlerdir. Xg7 ve Xg15 izolatlarının da morfolojik özelliklerinin sarı koloni rengine sahip olduğu, hareketli ve sporsuz olduğu belirlendi. (Tablo 1). Yine aynı çalışmada karbon kaynağı olarak kullanılan malonat, trehalose, adonitol, D-cellibiose, D-mannoz, sükrozu kullandıkları, H₂S üretmediği, ornithine dekarboksilaz, lizin dekarboksilaz, β-ksilosidaz enzimlerine sahip olmadığı ancak β-galaktosidaz enzimine sahip olduğu gösterilmiştir. Xg7 ve Xg15 izolatlarının Vitek 2 sonuçlarında bu izolatların aynı kimyasalları karbon kaynağı olarak

kullandığı, H₂S üretmediği ve aynı enzimlere sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 5). Yağ asiti sonuçlarına göre Xg7 izolatu *Pantoea agglomerans* bakterisine 75,7 oranında benzediği ve Xg15 izolatu *Serratia odorifera* bakterisine benzedikleri görülmektedir. Ancak yapılan 16S rDNA karşılaştırma sonuçlarına göre Xg15 nolu izolatu *Serratia* cinsine benzemediği bulunmuştur. Bu izolatların 16S rDNA sonuçlarına göre %99 *Pantoea agglomerans* olduğu, bu sonuçları Vitek 2 ile yapılan biyokimyasal test sonuçları ile sırasıyla %98 ve %95 oranları ile desteklenmiştir.

Xg8 izolatu yağ asidi ve Vitek 2 ile yapılan çalışmalar sonucu sırasıyla %66,6 ve %94 oranlarında *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* olduğu ancak 16S rDNA karşılaştırma sonuçlarına göre %99 oranında *Staphylococcus hominis* subsp. *novobiosepticus* olduğu tespit edilmiştir. Kloos ve ark. (1998), *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* ve subsp. *novobiosepticus* ile ilgili yaptığı bir çalışmada iki tür birbirine oldukça benzer olmasına rağmen birtakım karakteristik farklılıklar ile birbirinden ayrıldıkları rapor edilmiştir. Bunların ilki Novobiocin'e olan duyarlılık farkıdır. *Staphylococcus hominis* subsp. *novobiosepticus* bütün suşlarının novobiocin antibiyotiğine karşı dirençli olduğu bildirilmektedir. Bunun dışında subsp. *hominis* D-mannose, D-trehalose, D-mannitol ve arginin pozitif olmakla subsp. *novobiosepticus*'dan ayrılır. Bu özellikler Xg8 izolatu'nun Vitek 2 sonuçları ile aynıdır (Tablo 6). Bizim çalışmamızda vitek 2 sonuçlarına göre Xg8 izolatu'nun novobiocin antibiyotiğine duyarlı olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlara göre izolatu *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* olduğu belirlendi.

Xg10 izolatu yağ asit sonuçlarına gören sırasıyla %71,2 oranında *Erwinia rhapontici* ve Vitek 2 sonuçlarına göre her %89 oranında *Sphingomonas paucimobilis* bakterisine benzediği belirlendi. Geider ve ark. (2006) *Erwinia* türleri üzerine yaptıkları çalışmalarında palmatik asit (C16:0) ve palmioletik asit (C16:1 ω7c) miktarlarının baskın olduğunu ve toplam yağ asit miktarının %50-65'ini oluşturduklarını belirtmişlerdir. Mergaert ve ark. (1999) *Erwinia billingiae* üzerine yaptıkları bir çalışmada, summed feature 3 ve 16:0 yağ asit oranlarının Xg10 izolatu'ndaki yağ asit oranları ile benzerlik göstermektedir. Bu sonuçlar %99 oranında *E. billingiae* olduğu görülen 16S rDNA analiz sonuçları ile de

desteklenmektedir. 16S rDNA karşılaştırma sonuçlarına göre bu izolat *Erwinia rhapontici* bakterisine %98 oranında benzerken *Sphingomonas paucimobilis* bakterisine benzememektedir. Xg10 izolatu aynı zamanda yağ asit sonuçlarına göre *Erwinia rhapontici* bakterisine benzerken, bu bakteri ile yapılan bir çalışmada pembe pigment ürettiği bildirilirken *Erwinia billingiae* bakterisi krem renkli pigment üretme özelliğinden dolayı bu bakteriden ayrılmaktadır (Mergaert vd., 1999).

Xg11 izolatu yağ asit sonuçlarına göre; *Erwinia amylovora* bakterisine %57,7 oranında ve vitek 2 sonuçlarına göre %89 oranında *Sphingomonas paucimobilis* bakterisine benzediği belirlendi. 16S rDNA karşılaştırma sonuçlarına göre bu bakterinin *Erwinia billingiae* suşuna benzediği görüldü. Mergaert ve ark. (1999) yapmış oldukları bir çalışmada 22 tane *E. billingiae* suşunun yağ asit analizine göre spesifik olarak 10.2 ± 4.8 oranında 17:0 cyclo ve 5.6 ± 0.4 oranında C14:0 yağ asiti içerdiğini belirtmiştir. Bu sonuçlar Xg11'in yağ asiti sonuçları ile de benzerdir. Bu sonuca göre Xg11 izolatının *Erwinia billingiae* olduğuna karar verildi.

Xg12 izolatu yağ asiti ve vitek 2 sonuçlarına göre sırasıyla %80,5 oranında *Brevibacterium casei* ve %93 oranında *Dermaococcus nishinomiyaensis* bakterisine benzemektedir. Xg16 izolatu yağ asiti ve vitek 2 sonuçlarına göre sırasıyla 81,6 *Brevibacterium epidermidis/iodinum* ve %97 oranında *D. nishinomiyaensis* bakterilerine benzemektedir. *Brevibacterium* cinsinde anteiso ve iso yağ asid içerikleri diğer yağ asit içeriklerine göre çok fazladır (Collins, vd. 1983; Collins, 1992). Ayrıca Collins ve ark. (1980) *Brevibacterium iodinum* ile ilgili yaptıkları çalışmada *Brevibacterium* suşlarında en fazla miktarda 14-methylhexadecic (anteiso C17:0) ve 12-methyltetradecanoic (anteiso C15:0) yağ asitlerinin en fazla miktarda bulunduğu görülmektedir. Bu sonuç yapılan çalışmalar sonucundaki yağ asit oranları ile uyumludur. *D. nishinomiyaensis* bakterisinde yağ asit içeriği olarak 15:0 anteiso bulunmadığı bildirilmektedir (Stackebrandt ve vd., 1995). *Brevibacterium linens* bakterisinin karakteristik koloni rengi sarı-turuncu, *Brevibacterium permense*'nin turuncu, *Brevibacterium epidermidis*'in soluk sarı, *Brevibacterium iodinum*'un grimsi ve *Brevibacterium casei*'nin beyazımsı gri oldukları literatürde belirtilmiştir (Bhadra vd., 2008; Ivanova vd., 2004). Yapılan

çalışmalar sonucunda Xg12 nolu izolatin koloni rengi sarı-turuncu ve Xg16 koloni rengi ise turuncu renklidir. İzolatların 16S rDNA sonuçları *Brevibacterium* cinsine ait olduğunu ve morfolojik testler ise Xg12 izolatinın *Brevibacterium linens*, Xg16 izolatinın *Brevibacterium permense* olduklarını göstermiştir. 2008 yılında yayınlanan bir çalışmada çamlarda zararlı olan *Thaumatococcus panyocampa* böceğinden *Brevibacterium* izole edildiği ve 2010 yılında yeni tür makalesi olarak yayımlandığı bildirilmektedir (İnce vd., 2008; Katı vd. 2010).

Xg13 izolatu yağ asiti ve vitek 2 sonuçlarına göre sırasıyla %61,7 oranında *Pantoea agglomerans* bakterisine ve %93 oranında *Acinetobacter lwoffii* bakterisine benzemektedir. 16S rDNA karşılaştırmaları sonucu *Pantoea agglomerans* ve *Acinetobacter lwoffii* bakterilerinden farklıdır. Gibello ve ark., 2009 yılında *Tetrathiobacter* cinsine ait türlerin *Advenella* cinsine tekrar sınıflandırılması ile ilgili çalışmasında yağ asit kompozisyonlarında 16:0 ve 18:1ω7c yağ asitlerinin predominant olarak bulduklarını belirtmişlerdir. Xg13 izolatu yağ asiti sonuçları ile bu sonuç benzerdir. Aynı zamanda bu izolat 16S rDNA sonuçlarına göre %98 oranlarında *Advenella kashmirensis* ve *Advenella incenata* türlerine benzediği belirlendi. *Advenella* cinsi günümüze kadar yapılan çalışmalar sonucunda sadece üç tür ile temsil edildiği bildirilmektedir (URL-6). Xg13 izolatu Advenella cinsine ait bir tür olduğu anlaşıldı.

Xg14 izolatu, yağ asit ve vitek 2 sonuçlarına göre %76,5 oranında *Ewingella americana* ve %95 oranında *Pseudomonas luteola* bakterisine benzemektedir. 16S rDNA karşılaştırma sonuçlarına göre Xg14 izolatu bu iki bakteriye benzemediği belirlendi. Mergaert ve ark. (1993) *Erwinia ananas* ve *Erwinia stewartii* türlerinin *Pantoea* cinsine transferi ile ilgili yaptıkları bir çalışmada farklı *Pantoea* türlerinde karakteristik olarak Xg14'deki yağ asitlerine benzer yağ asitlerinin olduğu görülmüştür. Yapılan literatür taramasında *Pseudomonas luteola* bakterisinin koloni renginin sarı olduğu *Pantoea cedenensis*'in krem renkli olduğu belirlendi (Sezen, vd. 2008). Çalışma sonucunda Xg14 izolatu koloni rengi krem renkli olarak belirlenmiştir. 16S rDNA sonuçlarına göre %99 oranında *Pantoea cedenensis*'e benzediğinden bu izolatu *Pantoea cedenensis*'in bir suşu olduğu sonucuna varılmıştır.

İzole edilen bakterilerin *Leptinotarsa decemlineata*, *Agelastica alni*, *Galleria mellonella* böcekleri üzerine olan patojenik etkilerinin test edilmesi için farklı zamanlarda uygulanan bioassay çalışmalarından sonuç elde edilememiştir. Böceklerin yaşamaları için ortam şartlarının elverişli olamaması ve kontrol grubunda görülen yüksek ölüm bu çalışmaların yapılabilmesini engellemiştir. Yılmaz (2000) tarafından *Dendroctonus micans*'dan izole edilen bakterilerden mikrobiyal mücadele ajanı geliştirmek için yapılan bioassayelerde de benzer nedenlerden dolayı insektisidal aktivite belirlenememiştir.

Antibakteriyel aktivitelerinin tespiti için yapılan çalışmada izolatların bitki patojeni bakteriler üzerinde herhangi bir antibakteriyel etkisi bulunmamıştır.

Yapılan birçok çalışmada; bakterilerin antibakteriyel etkilerinin çoğunlukla içerdikleri etkili maddelerden ileri geldiği ve etkili maddeyi oluşturan bileşiklerin miktarının bakteriden bakteriye değişiklik gösterdiği, ayrıca bu bileşiklerin etkinliklerinin bakterinin türü, izole edildiği yer veya organizma türüne bağlı olarak değişebildiği belirtilmektedir (Bastaban, 2008).

Sonuç olarak; Xg1 ve Xg2 izolatları, Gram negatif, hareketsiz, spor oluşturmayan, kokkobasil, krem renge sahip, lipaz pozitif, citrate ve L- histidin'i karbon kaynağı olarak kullanabilmekte, toplam yağ asidi profillerine göre 18:1w9c (oleic acid) % 41.76 oranında mevcuttur. Morfolojik, biyokimyasal ve metabolik enzim profillerine göre Xg1 ve Xg2 izolatları *Acinetobacter psychrotolerans* olarak tanımlandı. Xg3 izolatu Gram negatif, hareketli, sporsuz, basil ve krem renkli, metabolik enzim profillerine göre Ala-Phe-Pro Arilamidaz, β -glukosidaz, lipaz, fosfotaz pozitif, karbon kaynağı olarak sitrat, suksinatı kullanmakta, toplam yağ asit profiline göre iso 15:0 ve anteiso 15:0 'nın toplam miktarı yaklaşık olarak % 50 miktarındadır. Bu sonuçlara dayanarak Xg3 izolatının *Stenotrophomonas maltophilia* olduğuna karar verildi. Xg4 ve Xg9 izolatları Gram negatif, basil, hareketli, sporsuz ve krem renkli, D- glucose, citrate, molonate, L-lactate, succinatı karbon kaynağı olarak kullanabilmekte, metabolik enzim profillerine göre L- proline arilamidaz, tirozin arilamidaz, glisin arilamidaz enzimlerini üretmekte, klinik türler içerisinde fermente olmayan Gram negatif bakterilerin rutin tanımlanmasında gaz kromatografisinin (FAME) uygulaması ile alakalı çalışmalarda Pseudomonadlar için karakteristik özellik olan 3OH C10:0, 2-OH C12:0 ve 3OH C12:0 hidroksi yağ asidi eş zamanlı olarak bulunmaktadır. Bu

sonuçlara göre Xg4 ve Xg9 izolatları *Pseudomonas fluorescens* olarak tanımlandı. Xg5 izolatu Gram pozitif, sporsuz, hareketsiz kokus ve krem renkli, metabolik enzim profiline göre arginin dihidrolaz ve β -glukosidaz pozitif, karbon kaynağı olarak D-amigladin, D-ksilaz, D-riboz, laktoz, D-maltoz, D-mannitol, D-Mannoz, salisin, sucrose ve D-trehalose kullanmakta, ayrıca Bacitracin, Novobiocin ve Optocline karşı antibiyotik dirençliliği vardır. Özellikle *Staphylococcus sciuri* için Novobiocin'e dirençlilik karakteristik bir özelliktir. Xg5 izolatu'nun *Staphylococcus sciuri*'in bir alt türü olan *Staphylococcus hominis* subsp. *novobiosepticus* olarak tanımlandı. Xg6 izolatu Gram pozitif, sporsuz, hareketsiz kokus ve krem renkli, toplam yağ asit profillinde 15:0 Anteiso (% 50,27) en fazla miktarda bulunmaktadır. Morfolojik, biyokimyasal sonuçlarına göre Xg6 izolatu'nun *Staphylococcus warneri* olarak tanımlandı. Xg7 ve Xg15 izolatları Gram negatif, hareketli, sporsuz, kokus ve sarı pigment üretmekte, metabolik olarak D-glucose, glukoz fermantasyonu, D-mannitol, D-mannose, sucrose, D-trehalose ve malonate'ı kullanarak asit üretebilirler, enzim profillerine göre L-pyr-arilamidaz, β -glukosidaz, β -galaktosidaz ve fosfotaz pozitifdir. Bu sonuçlara dayanarak Xg7 ve Xg15 izolatlarının *Pantoea agglomerans* olduğuna karar verildi. Xg8 izolatu Gram pozitif, sporsuz, hareketsiz, kokus ve krem renkli, metabolik enzim profilleri üreaz pozitif; β -glukoranidaz, pyrrolidonyl arilamidaz negatifdir. Biyokimyasal sonuçlar Xg8 izolatu'nun *Staphylococcus hominis*'in bir alt türü olan *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* olduğunu ortaya koydu. Xg10 izolatu Gram negatif, hareketli, sporsuz, kokus ve krem renkli, metabolik enzim profillerine göre L-pyrrlydonyl arylamidaz, β -glukosidaz, tirozin arylamidaz, fosfotaz pozitif; üreaz, glukoz fermantasyonu negatif, toplam yağ asiti profiline göre C16:0 (% 33,55) ve 16:1 ω 7c (% 26,25) oranları toplam miktarın % 59,8'ini oluşturmaktadır. Toplam yağ asiti profiline göre Xg10 izolatu *Erwinia billingiae* olarak tanımlandı. Xg11 izolatu Gram negatif, hareketli, sporsuz, kokus ve krem renkli, karbon kaynaklarını kullanma bakımından D-glukoz, D-mannitol, L-laktate pozitifdir. Bu sonuçlar neticesinde Xg11 izolatu'nun *Erwinia billingiae* olduğuna karar verildi. Xg12 ve Xg16 izolatları Gram pozitif, sporsuz, hareketsiz, basil ve krem renkli, toplam yağ asiti profillerine göre en fazla miktarda C15:0 anteiso ve C17:0 anteiso yağ asitleri bulunmakta, metabolik enzim profillerine göre L-proline arilamidaz, alanine arilamidaz, arginine dihyrolase 2 pozitif, karbon kaynağı olarak L-lactate'ı

kullanırlar. Bu sonuçlara dayanarak Xg12 izolatının *Brevibacterium linens*, Xg16 izolatının *Brevibacterium permense* olduğu tespit edildi. Xg13 izolatı Gram negatif, hareketli, sporsuz, krem renkli ve kokkobasil, toplam yağ asiti profilinde C16:0 (palmitic asit) % 29,24 ve 18:1ω7 %20,58 miktarında olup en fazla miktarda bulunan yağ asitleridir, metabolik enzim profillerine göre gamma-glutamyl-transferaz ve L-proline arilamidaz pozitif, D-sellobioz, D-glukoz, D-mannoz, sitrat (Sodium), L-laktat, suksinatı karbon kaynağı olarak kullanmaktadır. Metabolik enzim profiline ve yağ asiti sonuçlarına göre Xg13 izolatı *Advenella* sp. olarak tanımlandı. Xg14 izolatı Gram negatif, hareketsiz, sporsuz, kokkobasil ve krem renkli, metabolik enzim profiline göre L-proline arilamidaz, beta-glukosidaz, tirozin arilamidaz ve fosfotaz pozitif, karbon kaynağı olarak D-glukoz, D-mannitol, D-mannoz, D-trehalose, malonat ve suksinatı kullanmakta, toplam yağ asiti profiline göre lauric asit (C12:0,%4,18), myristic asit (C14:0,%5,75), palmitic asit (C16:0,%37,03), 17:0 cyclo (%21,89) bulunmakta, Bu sonuçlar neticesinde Xg14 izolatının *Pantoea cedenensis* olduğu belirlendi.

KAYNAKLAR

- AGRIOS, G. N., 2005. *Plant Pathology*. Department of Plant Pathology, University of Florida, Academic Press, p 635.
- AK, K., 2004a, Giresun, Ordu ve Samsun illerinde fındık bahçelerinde zarar yapan yazıcı böcek (Coleoptera: Scolytidae) türlerinin tespiti ve kitlesel yakalama yöntemi üzerinde araştırmalar, (Doktora Tezi), Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- AK, K., Uysal, M., Tuncer, C., 2004b. Giresun, Ordu ve Samsun İllerinde Fındık Bahçelerinde Zarar Yapan Yazıcıböcek (Coleoptera: Scolytidae) Türleri ve Bulunuş Oranları, Türkiye I. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri 8-10 Eylül 2004, Samsun, pp: 255.
- ALTUNDAĞ S., Özakman, M., Karahan, A., 2004. “Orta Anadolu Bölgesinde Buğday Bakteriyel Hastalıklarının Tespiti” Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü, Sonuç Raporu (Proje No: BS-01/01-05-146).
- ANANDA, K.P., Sharma, R.P. ve Malik, V.S., 1996, The insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis*, *Advances in Applied Microbiology*, 42,1-43.
- ANONYMUS, 1995a, “Türkiye’de Zirai Mücadelenin Dünü Bugünü ve Geleceği”, T.K.B. Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara, 1-2.
- ANONYMUS, 1995a, “Zirai Mücadele Teknik Talimatları”, T.K.B. Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara, 2: 19-38.
- BASTABAN, B., 2008. Botanik Pestisit Kingbo Ve Fungusit Vegard’ın Bitki Patojeni Bakteri Ve Fungus Türleri Üzerine Etkilerinin In Vitro ve In Vivo Koşullarda Araştırılması, (Yüksek Lisans Tezi), Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

- BENLİOĞLU K., M. Özakman, “ Bağ Üretim Materyalinde Kök Uru *Agrobacterium tumefaciens*'in Saptanması”, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, Tübitak-Ankara, 22 (2): 167-174 (1998).
- BENSON, H. J., 1985. Microbiological Applications, A Laboratory Manual *In General Microbiology*, Brock, Fourth Edition, Wm C. Brown Publishers, Dubuque, Iowa.
- BERG, G., 1999. Roskotand, N., Smalla, N., Genotypic and Phenotypic Relationships between Clinical and Environmental Isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*, *Journal of Clinical Microbiology*, 0095-1137/99, p. 3594–3600.
- BLACK, R., Sweetmore, A., 1994. Appropriate Bacterial Identification Systems For Small Plant Pathology Laboratories Overseas Incorporating The Biolog Method, *Plant Pathology*, 43, 438-441.
- BOUVET P.J.M., and Grimont P.A.D., 1987. Identification and Biotyping of Clinical Isolates of *Acinetobacter*, *Ann. Inst. Pasteur/Microbiol*, 138, 569-578.
- BRONSKILL, J., 1961. A Cage to Simplify the Rearing of the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* (Pylalidae). *Journal of the Lepidopterists' Society*, Vol. 15, No 2, pp. 102-104.
- BUYER, J.S., 2002. Identification of Bacteria from Single Colonies by Fatty Acid Analysis, *Journal of Microbiological Methods*, 48, 259-265.
- BULUT H., A. Tamer, O. Özmen, 1996. “Türkiye Plant Protection Report” *Republic of Turkey Ministry of Agriculture and Rural Affairs*, Ankara, 22.
- CAPPUCCINO, J. G. ve Sherman, N., 1992. Microbiology, *A Laboratory Manual* Third Edition, Rockland Community Collage, Suffern, New York.

- CHESNEAU O., Morvan A., Grimont F., Labischinski H., and Solhn E.,1993. *Staphylococcus Pasteuri* sp. nov., isolated From Human, Animal, and Food Specimens, *International Journal of Systematic Bacteriology*, P. 237-244.
- COLLINS, M.D., Farrow, J.A.E., Goodfellow, M., and Minnikin, D.E., 1983. *Brevibacterium casei* sp. nov. and *Brevibacterium epidermidis* sp. nov., *Systematic and Applied Microbiology*, 4, 388–395.
- COLLINS, M.D., 1992. *Genus Brevibacterium*, *The Prokaryotes*, Balows, A. et al., Eds., New York: Springer, 2, 1351–1354.
- COLLINS, M.D., Jones, D., Keddie, R.M., Sneath, P.H.A., 1980. Reclassification of *Chromobacterium iodinum* (Davis) in a Redefined Genus *Brevibacterium* (Breed) as *Brevibacterium iodinum* nom.rev, ; comb.nov, *Journal of General Microbiology*, 120, 1-10.
- CUNNINGHAM, J. C., 1988. Baculoviruses- Their Status Compared to *Bacillus thuringiensis* as Microbial Insecticides, *Outlook on Agriculture*.
- ÇANAKÇIOĞLU, H., Mol T., 1998. Orman Entomolojisi (Zararlı ve Yararlı Böcekler). İstanbul Üniv. Orman Fak. Yayın No: 451, İstanbul, s:541.
- DADAŞOĞLU, F., 2007. Sera ve Tarla Zararlılarına Karşı Etkili Biyoajan Bakteri Strainlerinin İzolasyonu ve Tanısı, (Yüksek Lisans Tezi), Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- DEMİR G., N. Üstün, 1992. “Studies on Bacterial Streak Disease (*Xanthomonas campestris* pv. *translucens* (Jones et al) Dye) of wheat and other graminea”, *Journal of Turk Phytopathology*, 21 (1) : 33-40.
- DEMİRBAĞ, Z. ve Beldüz, A. O. 1997. Baculovirüs’ün Biyolojik Mücadeledeki Önemi. *Kükem Dergisi*, 20 (1) : 49–58.

- DEMİRBAĞ, Z., Nalçacıoğlu, R., Katı, H., Demir, S., Sezen, K., Ertürk, Ö.,2008. *Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele*, Trabzon.
- DUNFIELD, K.E., Xavier, L.J.C. ve Germida, J.J., 1999. Identification of *Rhizobium leguminosarum* and *Rhizobium sp.* (Cicer) Strains Using a Custom Fatty Acid Methyl Ester (FAME) Profile Library, *Journal of Applied Microbiology.*, 86, 78-86.
- DURSUN, E., 2000. Meme Aşınmasının Pülverizasyon Karakteristiklerine Etkileri. *Ekin Dergisi*, 6, 21.
- FUCIKOVSKY L., E. Duveiller, 1997. “The Bacterial Diseases of Wheat” Cimmy, Mexico, Chapter 4: 59-64.
- GAUGLER, R., Lewis , E. ve Stuart , R. J 1997. Ecology in the service of biological control: The case of entomopathogenic nematodes .*Oecologia*, 109, p: 483-489.
- GAVINI, F., Mergaert, J., Christine, Beji, A., Mielcarek, C., Izard, D., Kersters, K., Ley, J., 1989. Transfer of *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck 1888) Ewing and Fife 1972 to *Pantoea* gen. nov. as *Pantoea agglomerans* comb. nov. and Description of *Pantoea dispersa* sp. nov., *International Journal of Systematic Bacteriology*, p. 337-345.
- GEIDER, K., Auling, G., Du, Z., Jakovljevic, V., Jock, S., Völksch, B., 2006. *Erwinia tasmaniensis* sp. nov., a non-phytopathogenic bacterium from apple and pear trees, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56, p/2937–2943.
- GIBELLO, A., Vela, A.I., Martin, M., Barra-Caracciolo, A., Grenni, P., Ferna´ ndez-Garayza´ bal, J.F., 2009. Reclassification of the members of the genus *Tetrathiobacter* Ghosh et al. 2005 to the genus *Advenella* Coenye et al., *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59, p/1914–1918.

- GOODFELLOW, O'Donnell, A. G., 1993, Root of Bacterial Systematics, *Handbook of New Bacterial Systematics*, Goodfellow, M., O'Donnell, A. G., Eds., Academic Press Ltd., London.
- GRAY, M. W., Sankoff, D., Cedergren, R.J., 1984. On The Evolutionary Descent of Organisms and Organelles: A global Phlogeny Based on a Highly Conserved Structural Core in Small Subunit Ribosomal RNA, *Nucleic Acids Research*, 12, 5837- 5852.
- HELD, G. A., Bulla, L.A., Ferrari, E., Hoch, J., Aronson, A.I., ve Minnich, S.A., 1982. Cloning and Localization of The Lepidopteran Protoxin Gene of *Bacillus thuringiensis* subsp. kurstaki, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 79, 6065-6069.
- HUMBER, R.A., 1997. Fungi: "Identification, In Manuel of Techniques in Insect Pathology", 153-185, Academic Press, New York.
- İNCE I.A., Katı H., Yılmaz, H., Demir, İ. and Demirbag, Z., 2008. Isolation and identification of bacteria from *Thaumetopoea pityocampa* Den. and Schiff. (Lep., Thaumetopoeidae) and determination of their biocontrol potential, *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 1274-008-9845-9.
- İŞİK, M., 1984a. Karadeniz bölgesi fındık bahçelerinde zarar yapan Dalkıran, *Xyleborus (Anisandrus) dispar* Fabr. (Coleoptera, Scolytidae) böceğinin biyolojisi ve mücadele metotları üzerinde araştırmalar. Tarım, Orman ve Köyişleri Bakanlığı, Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü, Samsun Bölge Zir. Müc. Araş. Enst. Müdürlüğü, Araştırma Eserleri Serisi, No:30, s:63.
- İŞİK, M., 1984b. *Karadeniz bölgesi fındık bahçelerinde zarar yapan Dalkıran, Xyleborus (Anisandrus) dispar* Fabr. (Coleoptera, Scolytidae)

böceğinin biyolojisi ve mücadele metotları üzerinde araştırmalar, Tarım, Orman ve Köy İşleri Bakanlığı, Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü, Samsun Bölge Zir. Müc. Araş. Enst. Müdürlüğü, Araştırma Eserleri Serisi, No:30. 63s.

KARRI S., Martinez V.A., Coimbatore G., 2010. Effect of Dihydrotestosterone On Gastrointestinal Tract Of Male Alzheimer's Disease Transgenic Mice., *Indian Journal of Experimental Biology*, p: 453-465.

KATI, H., Sezen, K., Beldüz, A. O. ve Demirbağ , Z. 2005. Characterization of a *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* strain isolated from *Malacosoma neustria* L. (Lepidoptera : Lasiocampidae). *Biologia*, Bratislava, 60 (3) : 301–305.

KAYA, H.K. ve Stock,S.P., 1997, Techniques in Insect Nematology Control of Forest Defoliators, In “Perspectives in Forest Entomology”(Anderson, F.J. ve Kaya, H.K., Eds.), 251- 263, Academic Press, New York.

KILIÇ, O.,1994. Fındıkta Dönüm Noktası, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Dergisi, Tarım ve Köy, Sayı:97, s:38–40.

KLOOS W. E., Schleifer, K. H., and Smith, R. F. 1976. Characterization of *Staphylococcus sciuri* sp.nov. and Its Subspecies, *International Journal of Systematic Bacteriology*, Jan. p/22-37.

KLOOS W.E., George C.G., Olgiate J. S., Pelt L.V., McKinnon M.L., Zimmer B.L., Muller E., Weinstein M.P. and Mirrett S., 1998. *Staphylococcus hominis* subsp. *Novobiosepticus* subsp. nov., a novel trehalose- and N-acetyl-Dglucosamine-negative, novobiocin- and multiple-antibiotic-resistant subspecies isolated from human blood cultures, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 48, 799-812.

- KLOOS, W.E., Schleifer, K.H., 1975. Isolation and Characterization of Staphylococci from Human Skin, *International Journal Of Systematic Bacteriology*, p. 62-79.
- KONOPKA, A., Oliver, L. Ve Turco, R.F., 1998. The Use of Carbon Substrate Utilization Patterns in Enviromental and Ecological Microbiology, *Microbial Ecology*, 35, 103- 115.
- KOTAN, R., ve Şahin F., 2002. Bitki hastalıkları ile biyolojik mücadelede bakteriyel organizmaların kullanılması. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 31 (1), 111-119.
- KOVACH, J., 1986. Life cycle, seasonal distribution and tree responses to scolytid Beetles in South Carolina Peach orchards. A. Dissertation presented to the garaduate school of Clemson Uni., s:16.
- KURT, M.A.,1982. Doğu Karadeniz Bölgesinde fındık zararlıları, tanınmaları, yayılış ve zararları, yaşayışları ve savaşım yöntemleri, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Zir. Müc. Zir. Kar. Gen. Müd., *Samsun Bölge Zir. Müc. Araş. Enst., Mesleki Kitaplar Serisi*, No: 26, Ankara. 75s.
- LACEY, L.A. ve Brooks, W.M., 1997 . Initial Handling and Diagnosis of Diseased Insects, In “Manuel of Techniques in Insect Pathology”(Lacey, L.A., Ed.), 1-15, Academic Press, New York.
- LELLIOTT, R. ve Stead, D., 1978. Methods for Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants, *Method in Plant Pathology*, 2, Blackwell Scientific Publ., Oxford, 216s.
- LIPA, J.J., 1975. *An Outline of Insect Pathology*, Warsaw, Poland.
- LIU, J.T., Sui, M.J., Ji, D.D., Wu, I.H., Chou, C.C. ve Chen, C.C., 1993. Protection from ultraviolet radiation by melanin of mosquitocidal activity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, *Inverteb. Path.*, 62, 131-136.

- MANCEAU, C. ve Horris, A., 1997. Assesment of Genetic Diversity Among Strains of *Pseudomonas syringae* by PCR-restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of rRNA Operons with Special Emphasis on *P. syringae* pv. *tomato*, Applied and Environmental Microbiology, 63, 498-505.
- MANI, E., Remund, U., Schwaller, F., 1986. Alkolfalle zur flugkontrolle und befallsreduktion beim Uneleichen Holzbohrer. Sparatdruck aus der <<schweiz. Zeitschrift für Obst-und Weinbau >> 122:7, 203-207.
- MANI, E., Remund, U., Schwaller, F., Attack of the Bark Beetle, 1992. *Xyleboryus dispar* F., (Coleoptera: Scolytidae) in orchards and vineyards. Acta Phytopathologica Hunarica, 27 (1-4): 425-433.
- MANI, E., Remund, U., Schwaller, F., 1990a. Der Ungleiche Holzbohrer, *Xyleboryus dispar* F. (Coleoptera: Scolytidae) im Obst-und Weinbay. Landwirtschaft Schweiz Band, 3 (3): 105-112.
- MANI, E., Remund, U., Scwaller, F., 1990b. The disparate bostrichid, *Xyleborus dispar* F. (Coleoptera: Scolytidae) in fruit arboriculture and in viticulture, Importance ,biology, control, develpment and utilization of an effective ethanol trap, observation of flight. Revue-Suisse-de- Virtuculture, Aeboculture of Holticulture, 22 (2):109-116.
- MERGAERT, J., Verdonck, L., Kersters, K., 1993. Transfer of *Erwinia ananas* (synonym, *Erwinia uredovora*) and *Erwinia stewartii* to the Genus *Pantoea* emend. as *Pantoea ananas* (Serrano 1928) comb. nov. and *Pantoea stewartii* (Smith 1898) comb, nov., Respectively, and Description of *Pantoea stewartii* subsp. *indologenes* subsp. nov., International Journal Of Systematic Bacteriology, p/162-173.
- MERGAERT, J., Hauben L., Cnockaert M.C. and Swings J., 1999. Reclassification of non-pigmented *Erwinia herbicola* strains from trees as *Erwinia*

billingiae sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49, 377-383.

MILLER, L. ve Berger, T., 1985. Bacteria Identification by Gas Chromatography of Whole Cell Fatty Acids, 1-8, In "Hewlet-Packard Appl. Note, 228-241", Hewlet-Packard, Avondale, Pa.

OĞURLU, İ., 2000. *Biyolojik Mücadele*. Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları, Isparta.

ÖKTEM Y. E., 1972. "Kök Uru Etmeni *Agrobacterium tumefaciens*'in Toprakтан İzolasyonu ve İndikatör Bitkiler Yardımıyla Teşhisi Üzerinde Çalışmalar" *Bitki Koruma Bülteni*, Ankara, 12 (3) : 185-196.

PALLERONI, N.J., Bradbury, J.F., 1993. *Stenotrophomonas*, a New Bacterial Genus for *Xanthomonas maltophilia* (Hugh 1980) Swings et al. 1983, *International Journal of Systematic Bacteriology*, p. 606-609.

PALLERONI, N.J., 1986. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1, Krieg, N.R. ve Holt, J.G., Willams and Wilkins, Baltimore.

PARK, K. S., and KLOEPPER, J. W., 2000. Activation of PR-1a promoter by rhizobacteria that induce systemic resistance in tobacco against *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. *Biological Control*, 18, 2-9

PETER, G., 1984. *Plant Pests and Their Control*, Fenemore, London.

PINCUS David H., 2002. *Microbial Identification Using The Biomérieux Vitek 2 System*, Biomérieux Inc., Hazelwood, MO, USA.

POINAR, G.O., Petersen JJ., 1978. *Drilomermis leioderma* n. gen., n. sp. (Mermithidae:Nematoda) parasitizing *Cybister fimbriolatus* (Say) (Dystiscidae-Coleoptera), *Journal of Nematology*, p:10(1):20-3.

- RAINEY, P.B., Bailey, M.J., Thompson, I.P., 1994. Phenotypic And Genotypic Diversity Of Fluorescent Pseudomonads Isolated From Fieldgrown Sugar Beet, *Microbiology*, 140, p/2315-2331.
- RELMAN, D.A., Schmidt, T.M., Macdermott, R.P.,Falkow, S., 1992. Identification of The Uncultured *Bacillus* of Whipple's Disease, *N.Engl. J. Med.*, 327, 293-301.
- ROMANENKO ,A.L.,Uchino,M., Tanaka,N., Frolova,G., Slinkina, N., Mikhailov V., 2008. Occurrence and antagonistic potential of *Stenotrophomonas* strains isolated from deep-sea invertebrates, *Archieves of Microbiology*, 189:337–344.
- SAMBROOK, L., Fritsch, E. F., and MANIatis, T., 1989. "Molecular cloning: a laboratory manual", 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, *Cold Spring Harbor*, N.Y.
- SASSER, M.S., 1990. Identification of by Gas Chromotography of Cellular Fatty Acids, Technical Note 101, Newark, DE, Microbial ID Inc.
- SEZEN, K. and Demirbağ Z. 2007. The investigation of biological control agent of summer cockchafer (*Melolontha melolontha*, Coleoptera : Scarabaeidae) *Ekoloji* 16, 63, 34-40.
- SEZEN, K., Kati, H., Nalcacioglu, R., Muratoglu, H. and Demirbag, Z., 2008. Identification and pathogenicity of bacteria from European shot-hole borer, *Xyleborus dispar* Fabricius (Coleoptera:Scolytidae), *Annals of Microbiology* , 58, 2, 173-179.
- SMITH I. M., D. G. McNamara, P. R. Scott, M. Holderness, 1997. "Quarentine Pests for Europe", England, 991-994.
- SNEATH, A.P., 1986. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2, Sneath, A.P., Mair, N.S., Sharge, M.S. ve Holt, J.G., Williams and Wilkins, Baltimore.

- STACKEBRANDT E.,Goebel B. M., 1994. Taxonomic Note: A Place for DNA-DNA Reassociation and 16s rRNA Sequence Analysis in the Present Species Definition in Bacteriology, *International Journal of Systematic Bacteriology*, p. 846-849.
- STANIER, R.Y., Palleroni, N.J., Doudoroff, M., 1966. The Aerobic Pseudomonads: a Taxonomic Study, *Journal of General Microbiology*, 43, 159-271.
- ŞAHİN, F., 2003. Moleküler Tanı Yöntemleri, 2003 Biyoinformatik-I Lisansüstü Yaz Kursu Kitabı, 6. Bölüm (Telefoncu, A., Küfrevioğlu, İ. ve Pazarlıoğlu, N., Eds.), Ege Üniv. Basımevi, İzmir.,
- TEBLİĞ 1995/3 “İç Karantinaya Tabi Bitki Hastalık ve Zararlıları Hakkında Tebliğ”, T.K.B. Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara, 1-6 (1995).
- TEMİZKAN, G., 1999. Genetik II: Moleküler Genetik, İ. Ü. Yayınları Sayı:4067 Fen Fak. No:245, İ. Ü. Fen Fak. Basımevi, İstanbul, 975-404-429-9.
- TOBEN H, A. Mavridis and K. W. E. Rudolph, 1989. “Basal glume rot (*P .syringae* pv. *atrofaciens*) on wheat and barley in FRG and resistance screening of wheat” EPPO Bulletin, 19 (1) : 119-125.
- TÜRKER, T., 1994. Doğu Karadeniz Bölgesi Fındık Zararlıları Ve Bunlarla Mücadele. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Bitirme Çalışması, pp.25, Trabzon.
- UNDEEN, A.H. ve Vavra, J., 1997. Research Methods for Entomopathogenic Protozoa, In “Manuel of Techniques in Insect Pathology”(Lacey, L.A., Ed.), 117-149, Academic Press, New York.
- URL-1 <http://www.bahcesel.com/forumsel/zirai-mucadele-ilaclari/12427-zararli-bocekler/> Web adresinden 20 Mayıs 2010 tarihinde edinilmiştir.

- URL-2 MALLERY, C., 2007, *Ribosome Structure* [Online], University of Miami Department of Biology, http://fig.cox.miami.edu/~cmallery/150/gene/mol_gen.htm web adresinden 28 Kasım 2010 tarihinde edinilmiştir.
- URL-3 RNA CENTER:RIBOSOME IMAGES, *Escherichia coli* 16S rRNA Secondary Structure [Online], Center for Molecular Biology of RNA, University of California, Santa Cruz, http://rna.ucsc.edu/rnacenter/ribosome_images.html web adresinden 28 Kasım 2010 tarihinde edinilmiştir.
- URL-4 pGEM®-T and pGEM®-T Easy Vector Systems Technical Manual, Promega <http://www.promega.com/tbs/tm042/tm042.pdf> web adresinden 30 Kasım 2010 tarihinde edinilmiştir.
- URL-5 <http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Pseudomonas> web adresinden 11 Ocak 2011 tarihinde edinilmiştir.
- URL-6 <http://www.bacterio.cict.fr/a/advenella.html> web adresinden 13 Ocak 2011 tarihinde edinilmiştir.
- ÜNLÜ, S., 2007. Bakteriyel Yanıklık Etmeni *Xanthomonas axonopodis* Pv. *pelargonii*'nin Sardunya'da (*Pelargonium* Spp.) Tanısı ve Biyolojik Mücadelesi Üzerine Araştırmalar.,(Yüksek Lisans Tezi), Çukurova Üniversitesi, Adana.
- VAN LOON, L. C., 1997. Induced resistance in plants and role of pathogenesis related proteins. *European Journal of Plant Pathology*, 103, 753-765.
- VAN LOON, L. C., Bakker, P. A. H. M., Pieterse, C. M. J., 1998. Systemic Resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 36, 453-483.

- VERWEIJ, P.E., I.M Breuker, A.J Rijs, 1999. Comparative study of seven commercial yeast identification systems. *Journal of Clinical Pathology*, 52:271–273.
- VEYS,A., Callewaert, W., Waelkens, E., Abbeele, K., 1989. Application of Gas-Liquid Chromatography to the Routine Identification of Nonfermenting Gram-Negative Bacteria in Clinical Specimens, *Journal of Clinical Microbiology*, p/1538-1542.
- WAYNE, L.G., Brenner, D.J., Coiwell, R.R., Grimon, P.A., Kandler,M.I., Krichevsky,L.H., Moore, W.E., C.Moore, R.G.E. Murray, E. Stackebrandt, M. P. Starr, H. G. Truper, 1987. Report of the Ad Hoc Committee on Reconciliation of Approaches to Bacterial Systematics, *International Journal of Systematic Bacteriology*, p. 463-464.
- WIESER, M., Busse, H.J., 2000. Rapid identification of *Staphylococcus epidermidis*, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50, p/1087–1093.
- YAMAHIRA, K., Hirota, K., Nakajima, K., Morita, N., Nodasaka, Y., Yumoto I., 2008. Acinetobacter sp. strain Ths, a novel psychrotolerant and alkalitolerant bacterium that utilizes hydrocarbon, *Extremophiles*, 12, 729–734.
- YAŞAROĞLU, B., 2000. Her Yönüyle Fındık, Kişisel Bilgi, Fiskobirlik Genel Müdürlüğü, Giresun.
- YILMAZ, H., 2004. *Dendroctonus micans*'ın Bakteriyal Florası ve Mikrobiyal Mücadele Ajanlarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, KTÜ, Trabzon.

EKLER

“Xg1” izolatına ait 16S rDNA’nın kısmi sekans dizisi

GGGCGAACCCCTTTAGGGCGATTGGGCCCGACGTCGCATGCTCCCGGCCGC
CATGGCGGCCGCGGGAATTTCGATTATTCTAGAGTTTGATCATGGCTCAGA
TTGAACGCTGGCGGCAGGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGGGAAGAGT
AGCTTGCTACTTTACCTAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCTTAGGAATCT
GCCTATTAGTGGGGGACAACATTCCGAAAGGGATGCTAATACCGCATAACG
TCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTAATAGATGAGC
CTAAGTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGAT
CTGTAGCGGGTCTGAGAGGATGATCCGCCACACTGGGACTGAGACACGG
CCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGG
AACCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTATGGTTGTAA
AGCACTTTAAGCGAGGAGGAGGCTTACCTAACTAATACTTAGGATAAGTG
GACGTTACTCGCAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGG
TAATACAGAGGGTGCAGCGTTAATCGGATTACTGGGCGTAAAGCGTGCG
TAGGTGGCTAATTAAGTCAAATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAAT
TGCATTCGATACTGGTTAGCTAGAGTATGGGAGAGGATGGTAGAATTCCA
GGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGGCGAAG
GCAGCCATCTGGCCTAATACTGACACTGAGGTACGAAAGCATGGGGAGC
AAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGTCTACTAG
CCGTTGGGGTCTTTGAGACTTTAGTGGCGCAGCTAACGCGATAAGTAGAC
CGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGG
GCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGA
ACCTTACCTGGCCTTGACATAGTAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGC
CTTCGGGAATCTACATACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGT
GAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTTTCCTTATTTGCC
AGCGAGTAATGTCGGGAACTTTAAGGATACTGCCAGTGACAAACTGGAG
GAAGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTAC
ACACGTGCTACAATGGTCGGTACAAAGGGTTGCTACCTAGCGATAGGATG
CTAATCTCAAAAAGCCGATCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACT
CCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATGCCGCGGTGAAT

ACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACACGGTACCATAATCA
CTAGTGAATTCGCGGGCCGCCTGCAGGTCGACCATA

“Xg2” izolatına ait 16S rDNA’nın kısmi sekans dizisi

GGGGGGGGGGCGGGGGCGGCAGGCTTACACATGCAAGTCGAGCGGGGAAGA
GTAGCTTGCTACTTTACCTAGCGGGCGGACGGGTGAGTAATGCTTAGGAAT
CTGCCTATTAGTGGGGGACAACATTCCGAAAGGGATGCTAATACCGCATA
CGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCCTAATAGATGA
GCCTAAGTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACG
ATCTGTAGCGGGTCTGAGAGGATGATCCGCCACACTGGGACTGAGACACG
GCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGG
GAACCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTATGGTTGTA
AAGCACTTTAAGCGAGGAGGAGGGCTTACNTAACTAATACTTTAGGATAA
GTGGACGTTACTCGCAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCG
CGGTAATACAGAGGGTGGCAGCGTTAATCGGATTTACTGGGCGTAAAGCG
TGCGTAGGTGGCTAATTAAGTCAAATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGG
GAATTGCATTCGATACTGGTTAGCTAGAGTATGGGAGAGGATGGTAGAAT
TCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGGC
GAAGGCAGCCATCTGGCCTAATACTGACACTGAGGTACGAAAGCATGGG
GAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAACGATGTCTA
CTAGCCGTTGGGGTCTTTGAGACTTTAGTGGCGCAGCTAACGCGATAAGT
AGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTAAAACCTCAAATGAATTGAC
GGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCG
AAGAACCTTACCTGGCCTTGACATAGTAGAACTTTCCAGAGATGGATTG
GTGCCTTCGGGAATCTACATACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGT
GTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCCGCAACGAGCGCAACCCTTTTCCTTAT
TTGCCAGCGAGTAATGTCGGGAACCTTTAAGGATACTGCCAGTGACAACT
GGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGG
CTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAAAGGGTTGCTACCTAGCGATAG
GATGCTAATCTCAAAAAGCCGATCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTC
GACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAAAGCCGCGTG
AATACTCCCGAAGAAGCACATGGGGCC

“Xg3” izolatuna ait 16S rDNA’nın kısmi sekans dizisi

CTGCTGGGCGATTGGGCCCACGTCGCATGCTCCCGGCCGCCATGGCGGC
CGCGGGAATTCGATTATTCTAGAGTTTGATCATGGCTCAGAGTGAACGCT
GGCGGTAGGCCTAACACATGCAAGTCGAACGGCAGCACAGTAAGAGCTT
GCTCTTATGGGTGGCGAGTGGCGGACGGGTGAGGAATACATCGGAATCTA
CCTTTTCGTGGGGGATAACGTAGGGAACTTACGCTAATACCGCATAACGA
CCTTCGGGTGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGC GGATAGATGAGCC
GATGTCGGATTAGCTAGTTGGCGGGGTAAAGGCCACCAAGGCGACGAT
CCGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGT GAGACACGGT
CCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCA
AGCCTGATCCAGCCATAACCGCGTGGGTGAAGAAGGCCTTCGGGTGTGAAA
GCCCTTTTGTGGGAAAGAAAAGCAATCGGCTAATACCCGGTTGTTCTGA
CGGTACCCAAAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTA
ATACGAAAGGGTGCAAGCGT TACTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGC
GTAGGTGGTTGTTTAAGTCTGTTGTGAAAGCCCTGGGCTCAACCTGGGAA
TTGCAGTGGATACTGGGCGACTAGAGTGTGGTAGAGGGTAGTGGAATTCC
CGGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATCGGGAGGAACATCCATGGCGAA
GGCAGCTACCTGGACCAACACTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAG
CAAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGCGAACTG
GATGTTGGGTGCAATTTGGCACGCAGTATCGAAGCTAACGCGTTAAGTTC
GCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGTATGTGGTTTAATTTCGATGCAACGCGAAG
AACCTTACCTGGTCTTGACATGTCGAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTG
CCTTCGGGAACTCGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTC
GTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTTAGTT
GCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCTAAGGAGACCGCCGGTGACAAACCG
GAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGC
TACACACGTA CTACAATGGTAGGGACAGAGGGCTGCAAACCCGCGAGGG
CAAGCCAATCCCAGAAACCTATCTCAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTC
GACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGG
TGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACGGTACCATAA
TCACTAGTGAATTCGCGGCCCGCCTGCAGGTCGACCATATGGGAGAGCTCC
CAACGCGTTGGATGCATAGCTTGAGTATTCTATAGTCACCAAATCCAAT

“Xg4” izolatına ait 16S rDNA’nın kısmi sekans dizisi

GGGAATTGGCTGGCGGGCAGGCCTACACATGCAAGTCGAGCGGTAGAGA
GAAGCTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAAT
CTGCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATA
CGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGA
GCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACG
ATCCGTA ACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGA ACTGAGACACG
GTCCAGACTCCTACGGGAGACAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCG
AAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTA
AAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCATTAACTAATACGTTAGTGTTTT
GACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGG
TAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCG
CGTAGGTGGTTTTGTTAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGA
ACTGCATTCAA AACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTGG AATTT
CCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGA
AGGCGACCACCTGGACTAATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGA
GCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACT
AGCCGTTGGAAGCCTTGAGCTTTTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTG
ACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAA AACTCAAATGAATTGACGG
GGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAA
GAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCTAGAGATAGATTGGT
GCCTTCGGGAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGT
CGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGT
TACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACC
GGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCTGGG
CTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGT
GGAGCTAATCCCACAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTC
GACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGT
GAATACGTCCCGCCTTGGG

“Xg5” izolatuna ait 16S rDNA’nın kısmi sekans dizisi

GAGGGAAAACCTGGNGGCGTGCTATAACATGCAAGTCGAGCGAACAGATGA
GAAGCTTGCTTCTCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGT
AACCTACCTATAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCG
GATAATATTTTGAACCGCATGGTTCGATAGTGAAAGACGGTTTCGGCTGT
CACTTATAGATGGACCCGCGCCGTATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCT
TACCAAGGCGACGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACT
GGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATC
TTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAA
GGTCTTCGGATCGTAAAACCTATGTTGTTAGGGAAGAACAATTTGTTAGT
AACTGAACAAGTCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACG
TGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATT
GGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCAC
GGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAG
AGGAGAGTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAG
GAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGCG
CGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGT
AAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGC
TAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTC
AAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATT
CGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAAATCTTGACATCCTTTGACCGCTCT
AGAGATAGAGTCTTCCCCTTCGGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGT
TGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
AACCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAGGTTGACTGC
CGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCC
TTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATAATACAAAGGGCAGCG
AATCCGCGAGGCCAAGCAAATCCCATAAAATTATTCTCAGTTCGGATTGT
AGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCA
GCATGCTACGGGAATACTTCCCCGTCCTGGG

“Xg6” izolatuna ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

ACTAACNATAGGGCGATTGGGCCCCGACGTCGCATGCTCCCGGCCGCCATG
GCGGCCGCGGGAATTCGATTATGGTACCGTGTGTGACGGGCGGTGTGTAC
AAGACCCGGGAACGTATTCACCGTAGCATGCTGATCTACGATTACTAGCG
ATTCCAGCTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACTGAGAACA
ACTTTATGGGATTTGCTTGACCTCGCGGTTTAGCTGCCCTTTGTATTGTCC
ATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAAATCATAAGGGGCATGATGATTTGACGT
CATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCAACTTAGAGTGCCCAA
CTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAAC
CCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTT
TGTCCCCCGAAGGGGAAGACTCTATCTCTAGAGCAGTCAAAGGATGTCAA
GATTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCG
CTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCTGACT
CNCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAA
CCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCT
AATCCTGTTTGATCCCCACGCTTTCGCACATCAGCGTCAGTTACAGACCAG
AAAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCATATCTCTGCGCATTTCACCGC
TACACATGGAATTCCACTTTCCTCTTCTGCACTCAAGTTTTCCAGTTTCCA
ATGACCCTCCACGGTTGAGCCGTGGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACC
GCCTACGCGCGCTTTACGCCAATAATTCCGGATAACGCTTGCCACCTAC
GTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGATCAGGT
ACCGTCAAGATGTGCACAGTTACTTACACATTTGTTCTTCCCTGATAACAG
AGTTTTACGATCCGAAGACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTGAG
GCTTTCGCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTG
GACCGTGTCTCAGTTCAGTGTGGCCGATCACCCTCTCAGGTCGGCTACGT
ATCGTTGCCTTGGTAAGCCGTTACCTTACCAACTAGCTAATACGGCGCGG
ATCCATCTATAAGTGACAGCAAAGCCGCCTTTCCTACTATTGAACCATGCGG
TTCAATATGTTATCCGGTATTAGCTCCGGTTTCCCGAAGTTATCCAGTCT
TATAGGTAGGTTATCCACGTGTTACTCACCCGTCCGCCGCTAACGTCAA
GGAGCAAGCTCCTTATCTGTTGCTCGACTTGCATGTATTAGGCACGCCGC
CAGCGTTCATCCTGAGCCATGATCAAACCTCTAGAATAATCACTAGTGAAT
TCGCGGCCGCCTGCAGGTCGACCATATGGGAGAGCTCCCAACGCGTTGGA
TGCATAGCTTGAGTATTCTATAGGTCACCAAAA

“Xg7” izolatına ait 16S rDNA’nın kısmi sekans dizisi

GGA ACTACTATAGGGCGATTGGGCCCCGACGTCGCATGCTCCCGGCCGCCA
TGGCGGCCGCGGGAATTCGATTATTCTAGAGTTGATCATGGCTCAGATTG
AACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGGACGGTAGCACAGAGG
AGCTTGCTCCTTGGGTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGGA
TCTGCCCGATAGAGGGGGATAACCACTGGAAACGGTGGCTAATAACCGCAT
AACGTCGCAAGACCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTCACTATCGGATG
AACCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGCGGGGTAATGGCCACCTAGGCGA
CGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGA ACTGAGACA
CGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGG
CGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTG
TAAAGTACTTTCAGTGGGGAGGAAGGCGATGCGGTTAATAACCGCGTCGA
TTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCG
CACGCAGGCGGTCTGTAAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTTAACCTGG
GAACTGCATTTGAAACTGGCAGGCTTGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAAT
TCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGC
GAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGG
GAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGA
CTTGGAGGTTGTTCCCTTGAGGAGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGT
CGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGAC
GGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCG
AAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGCGAACTTAGCAGAGATGCTTTG
GTGCCTTCGGGAACGCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGT
GTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTT
GTTGCCAGCGATTCGGTCGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACC
GGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGG
CTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGA
GCAAGCGGACCTCACAAAGTGCGTCTAGTCCGGATCGGAGTCTGCAACT
CGACTCCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGG
TGAATACGTNCCGTCCGGGG

“Xg8” izolatuna ait 16S rDNA’nın kısmi sekans dizisi

AAGTTAGCCTGGCCGGGCGTGCCTATACATGCAAGTCGAGCGAACAGAC
GAGGAGCTTGCTCCTTTGACGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAG
GTAACCTACCTATAAGACTGGGATAACTTCGGGAAACCGGAGCTAATACC
GGATAATATTTGAAACCGCATGGTTCGATAGTGAAAGATGGCTTTGCTAT
TACTTATAGATGGACCTGCGCCGTATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCT
TACCAAGGCAACGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACT
GGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATC
TTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAA
GGTCTTCGGATCGTAAACTCTGTTATTAGGGAAGAACAACGTGTAAGT
AACTGTGCACGTCTTGACGGTACCTAATCAGAAAGCCACGGCTAACTACG
TGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATT
GGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCAC
GGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGAAAACCTGAGTGCAGAAG
AGGAAAGTGGAAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAG
GAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTG
CGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGT
AAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGC
TAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTC
AAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATT
CGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAAATCTTGACATCCTTTGACCCTTCT
AGAGATAGAAGTTTCCCCTTCGGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGT
TGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGC
AACCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGC
CGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCC
TTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAATACAAAGGGCAGCG
AAACCGCGAGGTCAAGCAAATCCCATAAAGTTGTTCTCAGTTCGGATTGT
AGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCA
GCATGCTACGGTGAATACGTCCCCGTCTC

“Xg9” izolatuna ait 16S rDNA’nın kısmi sekans dizisi

GGGGAATAAGCTTGCGGGCGGCTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAGAGA
GAAGCTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAAT
CTGCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATA
CGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCCTATCAGATGA
GCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACG
ATCCGTA ACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGA ACTGAGACACG
GTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGG
GCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGGATT
GTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCATTAACTAATACGTTAGTGT
TTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCG
CGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTA CTGGGCGTAAAGC
GCGCGTAGGTGGTTTGTTAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTG
GGA ACTGCATTCAA ACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTGG
ATTTCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGG
CGAAGGCGACCACCTGGACTAATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGG
GGAGCAAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCA
ACTAGCCGTTGGAAGCCTTGAGCTTTTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAG
TTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGAC
GGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG
AAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCTAGAGATAGATTG
GTGCCTTCGGGAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGT
GTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTA
GTTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAAC
CGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCTGG
GCTACACACGTGCTACAATGGTTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAG
GTGGAGCTAATCCACAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAAC
TCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCG
GGAATACGTTCCGGCCTGG

“Xg10” izolatuna ait 16S rDNA’nın kısmi sekans dizisi

GGGGATTTGGCTGGGCGGGCACGNTAACACATGCAAGTCGAACGGTAGC
ACAGAGAGCTTGCTCTCGGGTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCT
GGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATA
CCGCATAACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACACCAT
CGGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTA
GGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAActG
AGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACA
ATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCG
GGTTGTAAAGTACTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGATAAGGTTAATAGCCTT
GTCGATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGTGCCAG
CAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGT
AAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTTA
ACCTGGGAActGCATTTGAAActGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGG
TAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACC
GGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAG
CGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACG
ATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGC
GTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAActCAAATG
AATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGC
AACGCGAAGAActTACCTGGCCTTGACATCCACGGAATTCGGCAGAGAT
GCCTTAGTGCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCA
GCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTA
TCCTTTGTTGCCAGCGAGTAATGTCCGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTG
ACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACG
GCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGAACT
CGCGAGAGCAAGCGGACCTCACAAAGTGCGTCGTAGTCCGGATCGGAGT
CTGCAActCGACTCCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAA
TGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACAC
GGTACCATAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGCCTGCAGGTGACCATATG
GGAGAGCTCCCAACGCGTTGGATGCATAGCTTGAGTATTCTATAGGTCAC
CTAATGTTTTCC

“Xg11” izolatuna ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

GTGAATCGCTCCCCTTGGGCGATTGGGCCCACGTCGCATGCTCCCGGCC
GCCATGGCGGCCGCGGGAATTCGATTATTCTAGAGTTTGATCATGGCTCA
GATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAACGGTAGCAC
AGAGAGCTTGCTCTCGGGTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGG
GAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACC
GCATAACGTCTTCGGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCACACCATCG
GATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGG
CGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGG
ACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
GGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGG
GTTGTAAAGTACTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGATAAGGTTAATAACCTTG
TCGATTGACGTTACCCGCCAGATGAGCCCCGGCTACTTCGTGCCAGCAGC
CGCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATACTGGCCTTAAGCG
CACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTTAACCTG
GGAAGTGCATTTGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGA
ATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTG
GCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTG
GGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTC
GACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAA
GTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTG
ACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACGC
GAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATCCACGGAATTCGGCAGAGATGCCTT
AGTGCCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCG
TGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTT
GTTGCCAGCGAGTAATGTCGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGACAAA
CCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAG
GGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGA
GAGCAAGCGGACCTCACAAAGTGCGTCGTAGTCCGGATCGGAGTCTGCA
ACTCGACTCCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTA
CGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACAAATCACTA
GTGAATTCGCGGCCGCCTGCAGGTCGACCATATGGGAGAGCTCCCAACGC
GTTGGATGCATAGCTTGAGTATTCTATAGCACTAACCCAAAGGT

“Xg12” izolatuna ait 16S rDNA’nın kısmi sekans dizisi

GGGGGGCCACCTTGCCTGCGTGCTTACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGC
CGACAGCTTGCTTTTGGTGGATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGA
GTAACCTGCCCTGATTTTCGGGATAAGCCTGGGAAACCGGGTCTAATACC
GGATACGACCATCCCTCGCATGAGGGTTGGTGGAAAGTTTTTCGATCGGG
GATGGGCTCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGG
CGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGA
GACACGGCCCAGACTCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
GGGGGAACCCTGATGCAGCGACGCAGCGTGCGGGATGACGGCCTTTCGG
GTTGTAAACCGCTTTCAGCAGGGAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTTGCA
GAAGAAGTACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGG
TACGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGTGGTTGG
TCACGTCTGCTGTGGAAACGCAACGCTTAACGTTGCGCGTGCAGTGGGTA
CGGGCTGACTAGAGTGCAGTAGGGGAGTCTGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGACTCTG
GGCTGTAACTGACACTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCGAACAGGATTA
GATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGTTGGGCACTAGGTGTGGGGGAC
ATTCCACGTTCTCCGCGCCGTAGCTAACGCATTAAGTGCCCCGCCTGGGG
AGTACGGTCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACA
AGCGGCGGAGCATGCGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCA
AGGCTTGACATACTGGACCGTTCTGGAAACAGTTCTTCTCTTTGGAGCT
GGTGTACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGG
GTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGTTCTATGTTGCCAGCACGTGA
TGGTGGGAACTCATAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGG
GATGACGTCAAATCATCATGCCCTTTATGTCTTGGGCTTCACGCATGCTAC
AATGGCTGGTACAGAGAGAGGGCGAACCCGTGAGGGTAAGTGAATCCCTT
AAAGCCAGTCTCAGTTCGGATCGTAGTCTGCAATTCGACTACGTGAAGTC
GGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTGCCCCG
GCCAGCC

“Xg13” izolatuna ait 16S rDNA’nın kısmi sekans dizisi

CCTATANGGCGATTGGGCCCCGACGTCGCATGCTCCCGGCCGCCATGGCGG
CCGCGGGAATTCGATTATGGTACCGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGACC
CGGGAACGTATTCACCGCGACATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCG
ACTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGGACTACGATCGGGTTTG
TGAGATTGGCTCCACCTTGCGGTTTGGCAACCCTCTGTCCCGACCATTGTA
TGACGTGTGAAGCCCTACCCATAAGGGCCATGAGGACTTGACGTCATCCC
CACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTCATTAGAGTGCTCAACTAAAT
GTAGCAACTAATGACAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACAT
CTCACGACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTGTTCCGGTTCTC
TTGCGAGCACTCCTAAATCTCTTCAGGATTCCAGACATGTCAAGGGTAGG
TAAGGTTTTTCGCGTTGCATCGAATTAATCCACATCATCCACCGCTGTGCG
GTCCCGTCANTCCTTTGAAGTTTAATCTGCGACCGTACTCCCCAGGCGG
TCACTTCACGCGTTAGCTGCGCTACTAAGCCCCGAAGGGCCCAACAGCTA
GTTGACATCGTTTAGGGCGTGGACTAACAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTC
CCCACGCTTTCGTGCATGAGCGTCAGTATTATCCCAGGGGGCTGCCTTTCG
CCATCGGTGTTCCCTCCACATATCTACGCATTTCACTGCTACACGTGGAATT
CCACCCCCCTCTGACATACTCTAGTCCGGTAGTTAAAAATGCAGTTCCAA
GGTTGAGCCCTGGGATTTACATCTTTCTTTCCGAACCGCCTGCGCACGCT
TTACGCCCAGTAATTCCGATTAACGCTTGCACCCTACGTATTACCGCGGCT
GCTGGCACGTAGTTAGCCGGTGCTTATTCTTCAGGTACCGTCATCAGTTCC
AGGTATTATCCGAAACCTTTTCTTCCCTGACAAAAGTGCTTTACAACCCGA
AGGCCTTCATCGCACACGCGGGATGGCTGGATCAGGGTTTCCCCCATTGT
CCAAAATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTC
CCAGTGTGGCTGGTCGTCTCTCAAACCAGCTACGGATCGTCGCCTTGGT
AGGCCTTTACCCACCAACTAGCTAATCCGATATCGGCCGCTCCAATAGT
GAGAGGTCCTAAGATCCCCCCTTTCCCCCGTAGGGCGTATGCGGTATTA
GCCACGCTTTCGCGTAGTTATCCCCGCTACTGGGCACGTTCCGATACATT
ACTCACCCGTTTCGCCACTCGCCGGCAAAGTAGCAAGCTACTTTCCCGCT
GCCGTTGACTTGCATGTGTAAGGCATCCCGCTAGCGTTCAATCTGAGCC
ATGATCAACTCTAGAATAATCACTAGTGAATTCGCGGCCGCTGCAGGTC
GACCATATGGGAGAGCTCCCAACGCGTTGGATGCATAGCTTGAGTATTCT
ATAGTTCANCCAAAAANNGNAAACG

“Xg14” izolatuna ait 16S rDNA’nın kısmi sekans dizisi

GGGGATTCCTGGCGGCGGCTAACACATGCAAGTCGGACGGTAGCACAGA
AGAGCTTGCTCTTCGGGTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGG
GATCTGCCC GG CAGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCG
CATAACCTCGCAAGAGCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTCGCTGCCGG
ATGAACCCAGATGGGATTAGCTTGTTGGTGGGGTAACGGCTCACCAAGGC
GACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCCACTGGAAGTAA
ACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
GGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGG
GTTGTAAAGTACTTTCAGCGGGGAGGAAGGGTCGCTGGTTAATAACCAGC
GGCATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAG
CCGCGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAA
AGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTTAA
CCTGGGAANTGCATTTGGAACTGGCAGGCTAGAGTCTTG TAGAGGGGG
AGTAGAATTCCAGGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAAT
ACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGA
AAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAA
ACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAA
CGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAA
ATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGA
TGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATCCACGGAACCTTGGCAGA
GATGCCCTGGTGCCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCC
TCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC
TTATCCTTTGTTGCCAGCGGGTAATGCCGGGAACTCAAAGGAGACTGCCG
GTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTT
ACGGCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGA
CCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCGTCGTAGTCCGGATCGGA
GTCTGCAACTCGACTCCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAG
AATGCCACGGTGAATACGTTCCGGGGGGG

“Xg15” izolatuna ait 16S rDNA’nın kısmi sekans dizisi

CNTTTNGGGGGCCGAATTGGGCCCACGTCGCATGCTCCCGGCCGCCATG
GCGGCCGCGGGAATTCGATTATGGTACCGTGTGACGGGCGGTGTGTACAA
GGCCCGGGAACGTATTCACCGTGGCATTCTGATCCACGATTACTAGCGAT
TCCGACTTCACGGAGTCGAGTTGCAGACTCCGATCCGGACTACGACGCAC
TTTGTGAGGTCCGCTTGCTCTCGCGAGGTCGCTTCTCTTTGTATGCGCCAT
TGTAGCACGTGTGTAGCCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCA
TCCCCACCTTCTCCGGTTTATCACCGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGACC
GAATCGCTGGCAACAAAGGATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACC
CAACATTTACAACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTCTCAGC
GTTCCCGAAGGCACCAAAGCATCTCTGCTAAGTTTCGCTGGATGTCAAGAG
TAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTT
GTGCGGNCCCCCGTCAAATTCATTTGAGTTTTAAACCTTGCGGCCGTACTCC
CCCAGGCGGTTCGACTTAACGCGTTAGCTCCCGGAAGCCACTCCTCAAGGG
AACAACTCCAAGTCGACATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTA
ATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTCTTTGTCCAG
GGGGCCGCCTTCGCCACCGGTATTCCTCCAGATCTCTACGCATTTACCCGC
TACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACAAGACTCAAGCCTGCCAGTTTCAA
ATGCAGTTCCAGGTTAAGCCCGGGGATTTACATCTGGCTTAACAGACC
GCCTGCGTGCGCTTTACGCCAGTAATTCCGATTAACGCTTGCACCCTCCG
TATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCGGTGCTTCTTCTGCGGGTA
ACGTCAATCGACGCGGTTATTAACCCCGTCGCCTTCTCCCCGCTGAAAGT
ACTTTACAACCCGAAGGCCTTCTTCATACACGCGGCATGGCTGCATCAGG
CTTGCGCCATTGTGCAATATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGG
ACCGTGTCTCAGTTCCAGTGTGGCTGGTCATCCTCTCAGACCAGCTAGGG
ATCGTCGCCTAGGTGGGCCATTACCCCGCCTACTAGCTAATCCCATCTGG
GTTTCATCCGATAGTGAGAGGCCCGAAGGTCCCCCTCTTTGGTCTTGCGAC
GTTATGCGGTATTAGCCACCGTTTCCAGTGGTTATCCCCCTCTATCGGGCA
GATCCCCAGACATTACTACCCGTCGCCACTCGTCACCCAAGGAGCAAG
CTCCTCTGTGCTACCGTCCGACTTGCATGTGTTAGGCCTGCCGCCAGCGTT
CAATCTGAGCCATGATCAACTCTAGAATAATCACTAGTGAATTCGCGGCC
GCCTGCAGGTCGACCATATGGGAGAGCTCCCAACGCGTTGGATGCATAGC
TTGAGTATTCTATAGNTCACCTAAAA

“Xg16” izolatuna ait 16S rDNA'nın kısmi sekans dizisi

GGTAACCTACTATAGGGCGATTGGGCCCCGACGTCGCATGCTCCCGGCCGC
CATGGCGGCCGCGGGAATTCGATTATTCTAGAGTTGATCATGGCTCAGGA
CGAACGCTGGCTGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCTGAAGCCGAC
AGCTTGCTGTTGGTGGATGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGAGTAA
CCTGCCCTGATTTTCGGGATAAGCCTGGGAAACTGGGTCTAATACCGGAT
ACGACCACCTGACGCATGTTGGGTGGTGGAAAGTTTTTCGATCGGGGATG
GGCTCGCAGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGAC
GACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACA
CGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGG
GGAAACCCTGATGCAGCGACGCAGCGTGCGGGATGACGGCCTTCGGGTT
GTAAACCGCTTTCAGCAGGGAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAA
GAAGTACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTAC
GAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGTGGCTTGGTC
ACGTCTGCTGTGGAAACGCAACGCTTAACGTTGCGCGTGCAGTGGGTACG
GGCTGACTAGAGTGCAGTAGGGGAGTCTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGA
AATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGACTCTGGG
CTGTAAGTACTGACTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCGAACAGGATTAGA
TACCCTGGTAGTCCATGCCGTAACGTTGGGCACTAGGTGTGGGGGACAT
TCCACGTTCTCCGCGCCGTAGCTAACGCATTAAGTGCCCCGCCTGGGGAG
TACGGTTCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAG
CGGCGGAGCATGCGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAAG
GCTTGACATACTGGACCGTTCTGGAAACAGTTCTTCTCTTTGGAGCTGG
TGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTT
AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGTTCTATGTTGCCAGCACGTGATGG
TGGGAACTCATAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGAT
GACGTCAAATCATCATGCCCTTTATGTCTTGGGCTTCACGCATGCTACAAT
GGCTGGTACAGAGAGAGGGCGAACCCGTGAGGGTAAGCGAATCCCTTAAA
GCCAGTCTCAGTTCGGATCGTAGTCTGCAATTCGACTACGTGAAGTCGGA
GTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGC
CTTGTACACACCGCCCGTCACACGGTACCATAATCACTAGTGAATTCGCG
GCCGCCTGCAGGTTCGACCATATGGGAGAGCTCCAACGCGTTGGATGCAT
AGCTTGAGTATTCTATAGTTACCTAAATTTGATTCC

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında İstanbul'da doğdu. İlk ve Orta öğrenimini İstanbul'da tamamladı. 2004 yılında girdiği Karadeniz Teknik Üniversitesi Giresun Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden Temmuz 2009'da mezun oldu. Aynı yıl girdiği Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans programında öğrenim görmeye devam etmektedir. Yüksek lisans öğreniminin ilk yılında 109T568 no'lu Tübitak Projesi'nde ve Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında FEN-BAP-270409-03 no'lu projede 1 yıl süreyle araştırmacı olarak görev almıştır. Şuan da ise Yeditepe Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü'nde yürütülmekte olan 00590.STZ.2010-1 no'lu SAN-TEZ Projesinde araştırmacı olarak görevini sürdürmektedir.