

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

***SPODOPTERA LITTORALIS*'İN KÜLTÜRE EDİLEBİLİR BAKTERİYAL FLORASININ  
BELİRLENMESİ VE BAKTERİYAL MÜCADELE ETMENİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Biyolog Filiz ÖZKAN**

**MAYIS 2011  
TRABZON**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

***SPODOPTERA LITTORALIS*'İN KÜLTÜRE EDİLEBİLİR BAKTERİYAL FLORASININ  
BELİRLENMESİ VE BAKTERİYAL MÜCADELE ETMENİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Biyolog Filiz ÖZKAN**

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

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 17.05.2011  
Tezin Savunma Tarihi : 06.06.2011**

**Tez Danışmanı : Doç. Dr. İsmail DEMİR**

**Trabzon 2011**

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Biyoloji Anabilim Dalında**

**Filiz ÖZKAN tarafından hazırlanan**

***SPODOPTERA LITTORALIS*'İN KÜLTÜRE EDİLEBİLİR BAKTERİYAL  
FLORASININ BELİRLENMESİ VE BAKTERİYAL MÜCADELE ETMENİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 18 / 06 / 2011 gün ve 1405 sayılı  
kararıyla oluşturulan jüri tarafından 06 / 06 / 2011 tarihinde yapılan sınavda**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**olarak kabul edilmiştir.**

**Jüri Üyeleri**

**Başkan :Prof. Dr. Mahmut EROĞLU**

.....

**Üye :Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ**

.....

**Üye :Doç. Dr. İsmail DEMİR**

.....

**Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ**

**Enstitü Müdürü**

## ÖNSÖZ

"*Spodoptera littoralis*'in kültüre edilebilir bakteriyal florasının belirlendiği ve bakteriyal mücadele etmeninin araştırıldığı" bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı'nda "Yüksek Lisans Tezi" olarak hazırlanmıştır.

Yüksek Lisans tez danışmanlığımı üstlenerek, gerek konu seçimi gerekse çalışmaların yürütülmesi ve değerlendirilmesi sırasında ilgi ve yardımlarını esirgemeyen hocam sayın Doç. Dr. İsmail DEMİR'e, tezin değerlendirilmesi ve geliştirilmesinde yardımcı olan değerli jüri üyeleri hocalarıma, laboratuarda maddi manevi imkanlarını esirgemeyen hocam sayın Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ'a, laboratuvar çalışmalarım sırasında göstermiş oldukları ilgiden ötürü Doç. Dr. Kazım SEZEN, Doç. Dr. Remziye NALÇACIOĞLU, Dr. Hacer MURATOĞLU, Hüseyin TEPE, Emrah Sami SEÇİL, Mehtap DANIŞMAZOĞLU, Cihan GÖKÇE ve beni yalnız bırakmayan ve hiçbir zaman benden yardımlarını esirgemeyen laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ederim. Bu tezin hazırlanması sırasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen fedakâr aileme ve nişanlım Serkan ÇAKICI'ya minnet ve şükranlarımı sunarım.

Ayrıca, tez çalışmam süresince laboratuvar imkânlarından yararlanmamı sağlayan Biyoloji Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Asım KADIOĞLU'ya da teşekkür ederim.

Filiz ÖZKAN  
Trabzon 2011

## TEZ BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Spodoptera littoralis*’in kültüre edilebilir bakteriyal florasının belirlenmesi ve bakteriyal mücadele etmeninin araştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Doç. Dr. İsmail DEMİR’in sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 17/05/2011

Filiz ÖZKAN

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa No

|                                                                              |      |
|------------------------------------------------------------------------------|------|
| ÖNSÖZ .....                                                                  | III  |
| TEZ BEYANNAMESİ .....                                                        | IV   |
| İÇİNDEKİLER .....                                                            | V    |
| ÖZET .....                                                                   | IX   |
| SUMMARY .....                                                                | X    |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                        | XI   |
| TABLolar DİZİNİ .....                                                        | XIII |
| SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....                                        | XIV  |
| 1. GENEL BİLGİLER.....                                                       | 1    |
| 1.1. Giriş .....                                                             | 1    |
| 1.2. Organik Tarım ve Biyolojik Mücadele .....                               | 4    |
| 1.3. Türkiye’de Üretilen Çeşitli Tarım Ürünleri ve Bunların Ekonomideki Yeri | 5    |
| 1.4. Tarımsal Zararlılar .....                                               | 6    |
| 1.4.1. Zararlılarla Mücadele Yöntemleri.....                                 | 8    |
| 1.4.2. Kültürel Mücadele.....                                                | 8    |
| 1.4.3. Doğal Mücadele .....                                                  | 8    |
| 1.4.4. Yasal Mücadele.....                                                   | 8    |
| 1.4.5. Mekanik Mücadele .....                                                | 8    |
| 1.4.6. Fiziksel Mücadele .....                                               | 8    |
| 1.4.7. Kimyasal Mücadele.....                                                | 8    |
| 1.4.7.1. Kimyasalların Çevreye Olan Etkileri .....                           | 9    |
| 1.4.7.2. İnsektisitlerin İnsanlar Üzerine Olan Etkileri .....                | 12   |
| 1.4.8. Biyolojik Mücadele .....                                              | 13   |
| 1.4.8.1. Biyolojik Mücadelede Kullanılan Etkin Gruplar .....                 | 15   |
| 1.4.8.1.1. Predatörler.....                                                  | 15   |
| 1.4.8.1.2. Parazitler .....                                                  | 15   |
| 1.4.8.1.3. Mikroorganizmalar .....                                           | 15   |
| 1.4.8.1.3.1. Bakterilerin Mikrobiyal Mücadelede Kullanımı.....               | 18   |

|                |                                                                                  |    |
|----------------|----------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.4.8.1.3.1.1. | <i>Bacillus thuringiensis</i> 'lerin Genel Özellikleri .....                     | 19 |
| 1.4.8.1.3.1.2. | İnsektisidal Kristal Proteinin Hedef Böceklerdeki Mekanizması .....              | 20 |
| 1.4.8.1.3.1.3. | Böcek Populasyonlarının <i>Bacillus thuringiensis</i> 'e Dirençliliği.....       | 22 |
| 1.5.           | Pamuk Yaprak Kurdu ( <i>Spodoptera littoralis</i> Boisd., Lepi.: Noctuidae)..... | 22 |
| 1.5.1.         | Tanımı ve Yaşayışı.....                                                          | 22 |
| 1.5.1.1.       | Ergin .....                                                                      | 22 |
| 1.5.1.2.       | Yumurta.....                                                                     | 23 |
| 1.5.1.3.       | Larva.....                                                                       | 23 |
| 1.5.1.4.       | Pupa.....                                                                        | 23 |
| 1.5.2.         | <i>Spodoptera littoralis</i> 'in Hayat Döngüsü .....                             | 24 |
| 1.5.3.         | Zarar Şekli, Ekonomik Önemi ve Yayılışı .....                                    | 25 |
| 1.5.4.         | <i>Spodoptera littoralis</i> ile Mücadele Yöntemleri .....                       | 27 |
| 1.6.           | Çalışmanın Amacı.....                                                            | 29 |
| 2.             | YAPILAN ÇALIŞMALAR.....                                                          | 30 |
| 2.1.           | Böceklerin Toplanması.....                                                       | 30 |
| 2.2.           | Bakteri İzolasyonu ve Karakterizasyonu.....                                      | 30 |
| 2.2.1.         | Bakteri İzolasyonu .....                                                         | 30 |
| 2.2.2.         | Saf Kültürlerin Hazırlanması ve Stoklanması .....                                | 31 |
| 2.2.3.         | İzolatların Boyanması .....                                                      | 31 |
| 2.2.3.1.       | Gram Boyama .....                                                                | 31 |
| 2.2.3.2.       | Endospor Boyama .....                                                            | 31 |
| 2.2.4.         | Bakteriyal İzolatların Fizyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi .....              | 32 |
| 2.2.4.1.       | Bakteriyal İzolatların Optimum Büyüme Sıcaklıklarının Belirlenmesi .....         | 32 |
| 2.2.4.2.       | Bakteriyal İzolatların pH Aralıklarının Belirlenmesi.....                        | 32 |
| 2.2.4.3.       | Bakteriyal İzolatların NaCl Toleranslarının Belirlenmesi.....                    | 32 |
| 2.2.5.         | Bakteriyal İzolatların Biyokimyasal Özelliklerin Belirlenmesi.....               | 32 |
| 2.2.5.1.       | Nişasta Hidroliz Testleri.....                                                   | 32 |
| 2.2.5.2.       | Katalaz Testleri .....                                                           | 33 |
| 2.2.5.3.       | Oksidaz Testleri .....                                                           | 33 |
| 2.2.6.         | API 20E Panel Test Sistemi .....                                                 | 33 |
| 2.2.7.         | API 50 CH Panel Test Sistemi .....                                               | 35 |
| 2.2.8.         | İzolatların Moleküler Karakterizasyonları .....                                  | 36 |
| 2.2.8.1.       | İzolatların Genomik DNA'larının Hazırlanması .....                               | 36 |

|          |                                                                                                                                                    |    |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.2.8.2. | 16S rRNA Geninin PCR ile Çoğaltılması .....                                                                                                        | 36 |
| 2.2.8.3. | 16S rRNA Geninin Baz Dizisinin Belirlenmesi ve Gen Bankasındaki Sıralarla Karşılaştırılması .....                                                  | 36 |
| 2.3.     | İnsektisidal Aktivite Testleri.....                                                                                                                | 38 |
| 2.3.1.   | <i>Spodoptera littoralis</i> Laboratuvar Kültürü .....                                                                                             | 38 |
| 2.3.2.   | Örneklerin Hazırlanışı .....                                                                                                                       | 39 |
| 2.3.2.1. | Bakteriyal İzolatların Hazırlanışı .....                                                                                                           | 39 |
| 2.3.2.2. | Spor ve Kristal Süspansiyonların Hazırlanması .....                                                                                                | 40 |
| 2.3.3.   | Biyotestler .....                                                                                                                                  | 40 |
| 2.3.3.1. | <i>Spodoptera littoralis</i> 'ten Elde Edilen İzolatların İnsektisidal Aktivitesi ....                                                             | 40 |
| 2.3.3.2. | Farklı Böceklerden Elde Edilen Yüksek İnsektisidal Etkiye Sahip <i>Bacillus</i> Cinsi İzolatlarının <i>S. littoralis</i> Üzerindeki Etkileri ..... | 40 |
| 2.3.3.3. | Farklı Böceklerden Elde Edilen Yüksek İnsektisidal Etkiye Sahip Mnd ve BnBt'nin Farklı Dozlarının İnsektisidal Etkileri.....                       | 40 |
| 2.3.3.4. | Mnd İzolatının Farklı Evreler Üzerine Etkisi .....                                                                                                 | 41 |
| 2.3.3.5. | Farklı Sıcaklıkların Mnd İzolatının İnsektisidal Aktivitesine Etkisi.....                                                                          | 41 |
| 2.3.3.6. | Farklı Besinlerin Mnd İzolatının İnsektisidal Aktivitesine Etkileri .....                                                                          | 41 |
| 2.3.3.7. | Mnd İzolatının Spor ve Kristal Süspansiyonların Hazırlanması.....                                                                                  | 42 |
| 2.3.3.8. | Mnd'nin Saksı Denemeleri .....                                                                                                                     | 42 |
| 3.       | BULGULAR.....                                                                                                                                      | 44 |
| 3.1.     | <i>Spodoptera littoralis</i> Larvalarından Bakteri İzolasyonu .....                                                                                | 44 |
| 3.2.     | İzolatların Karakteristik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Tür Tayinleri.....                                                                        | 44 |
| 3.2.1.   | İzolatların Morfolojik Özellikleri.....                                                                                                            | 44 |
| 3.2.2.   | İzolatların Fizyolojik Özellikleri.....                                                                                                            | 45 |
| 3.2.3.   | Bakteriyal İzolatların Biyokimyasal ve Metabolik Özellikleri.....                                                                                  | 46 |
| 3.2.3.1. | API20E Panel Test Sistemiyle Tespit Edilen Özellikler .....                                                                                        | 47 |
| 3.2.3.2. | API 50 CH Panel Test Sistemiyle Tespit Edilen Özellikler .....                                                                                     | 47 |
| 3.2.4.   | İzolatların Moleküler Karakterizasyonu.....                                                                                                        | 50 |
| 3.2.4.1. | İzolatların 16S rRNA Gen Sıraları.....                                                                                                             | 50 |
| 3.2.4.2. | İzolatların 16S rRNA Dizilerine Göre Benzerlik Oranları.....                                                                                       | 50 |
| 3.3.     | İnsektisidal Aktivite Çalışmaları.....                                                                                                             | 52 |
| 3.3.1.   | <i>Spodoptera littoralis</i> 'ten Elde Edilen İzolatların İnsektisidal Etkileri.....                                                               | 52 |
| 3.3.2.   | Farklı Zararlılarından İzole Edilen <i>Bacillus</i> Cinsi İzolatların İnsektisidal Etkileri .....                                                  | 53 |

|          |                                                                                                                                           |    |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.3.2.1. | Mnd ve BnBt izolatlarının Farklı Dozlarının İnsektisidal Etkileri .....                                                                   | 54 |
| 3.3.2.2. | Mnd ( <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> )’nin <i>Spodoptera littoralis</i> ’in Farklı Evrelerine Etkileri.....           | 55 |
| 3.3.2.3. | Farklı Sıcaklıkların Mnd ( <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> )’nin Virulansına Etkileri .....                            | 56 |
| 3.3.2.4. | Farklı Beslenme Rejimlerinin Mnd ( <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> )’nin Virulansına Etkileri .....                    | 56 |
| 3.3.2.5. | Spor ve Kristal Karışımların İnsektisidal Aktivitesi .....                                                                                | 57 |
| 3.3.2.6. | Mnd ( <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> )’nin Saksı Denemelerinde <i>S. littoralis</i> Larvaları Üzerindeki Etkisi ..... | 58 |
| 4.       | TARTIŞMA .....                                                                                                                            | 64 |
| 5.       | SONUÇLAR .....                                                                                                                            | 76 |
| 6.       | ÖNERİLER.....                                                                                                                             | 78 |
| 7.       | KAYNAKLAR .....                                                                                                                           | 79 |
| 8.       | EKLER. ....                                                                                                                               | 93 |

## ÖZGEÇMİŞ

ÖZET

*SPODOPTERA LITTORALIS*'İN KÜLTÜRE EDİLEBİLİR BAKTERİYAL FLORASININ  
BELİRLENMESİ VE BAKTERİYAL MÜCADELE ETMENİNİN ARAŞTIRILMASI

Filiz ÖZKAN

Karadeniz Teknik Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İsmail DEMİR  
2010, 89 Sayfa, Ek (9)

Mikrobiyal etmenlerin *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae)'in mücadelesinde kullanılmasına yönelik yapılan bu çalışmada, ilk olarak zararlıdan 10 adet bakteriyal izolat elde edildi ve bu izolatların morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler özellikleri belirlendi. Bakteriyal flora üyelerinin ve entomopatojenik organizma koleksiyonumuzda bulunan *Bacillus* cinsine ait 12 bakteriyal izolatın zararlı üzerindeki insektisidal etkileri araştırıldı. İki ayrı *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* izolatının (Mnd ve BnBt) 10 günde zararlı üzerinde %100'lük ölüm etkisine sahip oldukları tespit edildi. En verimli olduğu belirlenen Mnd izolatının zararlının 1, 2, 3 ve 4. evreleri üzerinde 10 günde sırasıyla %97, %27, %97 ve %97 ölüm etkisine sahip olduğu belirlendi. Bu izolatın farklı besinler de zararlı üzerindeki öldürücü etkisi; marulda %93, fasulyede %83, lahanada %70, pazıda %63, maydanozda %50 ve mısırdan %43 şeklinde tespit edildi. Mnd'den hazırlanan Bt spor-kristal karışımı *S. littoralis* larvaları üzerinde %100 öldürücü etki gösterdi.

Sonraki çalışmalarda bu izolatın uygun bir formülasyonda *Spodoptera littoralis* ve benzer zararlılara karşı uygulanması planlanmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Spodoptera littoralis*, Bakteriyal flora, Bakteriyal mücadele, *Bacillus thuringiensis*

SUMMARY

**Determination of the Culturable Bacterial Flora of *Spodoptera littoralis* and  
Investigation of Bacterial Control Agent of Its**

Filiz ÖZKAN

Karadeniz Technical University  
The Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Biology Graduate Program  
Supervisor: Assoc. Prof. İsmail DEMİR  
2010, 89 Pages, Appendix (9)

In order to find a significant microbial control agent against *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae), first of all we determined 10 bacterial isolates and identified these isolates based on morphological, physiological, biochemical and molecular characters. The insecticidal effects of 10 bacterial isolates from *S. littoralis* and 12 bacteria belonging to *Bacillus* genus from our culture collection were tested on the pest. Two *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* isolates (Mnd and BnBt) have 100% mortality on the pest within 10 days. The Mnd was studied more detail. It was detected that this isolate has 97%, 27%, 97% and 97% mortality effects on 1., 2., 3. and 4. instar larvae of the pest within 10 days, respectively. Lethal effect on larvae at different plants of this isolate was determined 93% on lettuce, 83% on bean, 70% on cabbage, 63% on chard, 50% on parsley and 43% on corn. *Bt* spore-crystal mix prepared from Mnd isolate was indicated 100% lethal effect on *S. littoralis* larvae.

In the further research, development of a suitable formulation from this isolate and its application against *S. littoralis* is planned.

**Key words:** *Spodoptera littoralis*, Bacterial flora, Insecticidal activity, Bacterial control, *Bacillus thuringiensis*

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

|                                                                                                                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. Böceklerin bir bitki üzerinde etkili olarak zarar oluşturduğu kısımlar .....                                                                                                                          | 7  |
| Şekil 2. <i>Bacillus thuringiensis</i> bakterisinin elektron mikroskopik görünümü. ....                                                                                                                        | 20 |
| Şekil 3. <i>Bacillus thuringiensis</i> 'in hedef böceklerdeki mekanizması.....                                                                                                                                 | 21 |
| Şekil 4. <i>Spodoptera littoralis</i> 'in biyolojisi .....                                                                                                                                                     | 24 |
| Şekil 5. <i>Spodoptera littoralis</i> 'in hayat evresi .....                                                                                                                                                   | 25 |
| Şekil 6. <i>Spodoptera littoralis</i> 'in zarar şekilleri .....                                                                                                                                                | 26 |
| Şekil 7. İnsektisidal aktivite deney düzeneği .....                                                                                                                                                            | 39 |
| Şekil 8. Mnd ( <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> )'nin <i>S. littoralis</i> larvaları üzerindeki etkinliğinin belirlendiği saksı deney düzeneği.....                                          | 43 |
| Şekil 9. PCR ile çoğaltılmış 16S rRNA ların agaroz jeldeki görüntüsü .....                                                                                                                                     | 51 |
| Şekil 10. <i>S. littoralis</i> 'in kültüre edilebilir bakteriyal flora üyelerinin zararlı üzerindeki insektisidal aktiviteleri.....                                                                            | 52 |
| Şekil 11. Farklı zararlılardan izole edilmiş <i>Bacillus</i> türlerinin <i>S. littoralis</i> larvaları üzerindeki insektisidal etkileri .....                                                                  | 53 |
| Şekil 12. Farklı böceklerden izole edilmiş Mnd ve BnBt nolu <i>Bacillus</i> türlerinin izolatlarının farklı doz oranlarının <i>S. littoralis</i> larvaları üzerindeki insektisidal etkileri .....              | 54 |
| Şekil 13. <i>Malacosoma neustria</i> 'dan izole edilmiş olan <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> Mnd' nin <i>S. littoralis</i> 'in farklı dönem larvaları üzerindeki insektisidal etkileri .... | 55 |
| Şekil 14. Farklı sıcaklıklarda Mnd ( <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> )'nin <i>S. littoralis</i> 'in larvaları üzerindeki insektisidal etkileri.....                                         | 56 |
| Şekil 15. Farklı besinlerin Mnd ( <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> )'nin <i>S. littoralis</i> virulansı üzerindeki etkileri .....                                                            | 57 |
| Şekil 16. Mnd ( <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> )'nin spor-kristal karışımının <i>S. littoralis</i> larvaları üzerindeki insektisidal etkisinin bakteri ile karşılaştırılması .....         | 58 |

|                                                                                                                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 17. Mnd ( <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> )’nin püskürtülmüş ve püskürtülmemiş marulların böceklerden etkilenmeleri .....                     | 59 |
| Şekil 18. Mnd ( <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> )’nin püskürtülmüş ve püskürtülmemiş marullarla beslenen larvaların 10.gün sonundaki görünümü ..... | 60 |

## TABLÖLAR DİZİNİ

### Sayfa No

|                                                                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 1. API 20 E panel sisteminin içerdği testler .....                                                                      | 34 |
| Tablo 2. API 50 CH panel sisteminin içerdği testler .....                                                                     | 35 |
| Tablo 3. Çeşitli böceklerden izole edilen ve konaklarında yüksek öldürücü etkiye sahip <i>Bacillus</i> cinsi bakteriler ..... | 37 |
| Tablo 4. İzolatların morfolojik özellikleri.....                                                                              | 45 |
| Tablo 5. İzolatların fizyolojik özellikleri .....                                                                             | 46 |
| Tablo 6. İzolatların klasik yöntemlerle belirlenen biyokimyasal özellikleri.....                                              | 47 |
| Tablo 7. İzolatların API20E Panel Test Sistemi ile belirlenen özellikleri .....                                               | 48 |
| Tablo 8. İzolatların API50CH Panel Test Sistemi ile belirlenen özellikleri .....                                              | 49 |
| Tablo 9. Belirlenen 16S rRNA dizinlerinin gen bankasındaki genler ile karşılaştırılmaları.....                                | 51 |

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|                  |                                                                     |
|------------------|---------------------------------------------------------------------|
| $\Delta T_m$     | : DNA'nın komplementer iki zincirinin birbirinden ayrılma sıcaklığı |
| ADH              | : Arginin dehidrolaz                                                |
| AMY              | : Amigdalın                                                         |
| ARA              | : Arabinoz                                                          |
| bp               | : Baz çifti                                                         |
| CIT              | : Sitrat                                                            |
| CFU              | : Koloni oluşturabilen birim                                        |
| DDT              | : Dikloro-difenil-trikloroetan                                      |
| DNA              | : Deoksiribonukleik asit                                            |
| EDWIP            | : Dünya böcek patojenleri ekolojik veritabanı                       |
| GEL              | : Jelatin                                                           |
| GLU              | : Glukoz                                                            |
| H <sub>2</sub> S | : Hidrojen sülfür                                                   |
| ICP              | : İnsektisidal kristal proteini                                     |
| IND              | : İndol                                                             |
| INO              | : İnositol                                                          |
| LDC              | : Lisin dekarboksilaz                                               |
| MAN              | : Mannitol                                                          |
| MEL              | : Melibiose                                                         |
| MK               | : Metil kırmızı1S1                                                  |
| NPV              | : Nukleopolihedrovirüs                                              |
| ODC              | : Ornitin dekarboksilaz                                             |
| PBS              | : Fosfat buffer salin                                               |
| PCR              | : Polimeraz zincir reaksiyonu                                       |
| RFLP             | : Restriksiyon fragmenti uzunluk polimorfizmi                       |
| RHA              | : Rhamnose                                                          |
| RNA              | : Ribonükleik asit                                                  |
| SAC              | : Sukroz                                                            |
| SDS              | : Sodyum dodesil sülfat                                             |
| SOR              | : Sorbitol                                                          |

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

## **1. GENEL BİLGİLER**

### **1.1. Giriş**

Tarım, artan dünya nüfusunun yeteri kadar beslenebilmesi açısından en önemli sektördür. Dünyamızda ortaya çıkan açlık sorunu, küresel bir felaket halini almıştır. Dolayısıyla, artan besin ihtiyacının karşılanması amacıyla tarımsal üretimde yüksek verim ve kalitenin hedeflenmesi gerekmektedir. Bu nedenle ürünlerimize ortak çıkan ve büyük kayıplara neden olan zararlılarla etkili bir mücadele stratejisi geliştirmek çok önemli bir durum haline gelmiştir. Bu süreçte son elli yıldır, kimyasal pestisitler kesin çözüm olarak görülmüştür. Yoğun ve bilinçsiz olarak yürütülen kimyasal pestisit uygulamaları, sadece insan sağlığını etkilemekle (karsinogen, mutajen ve teratojen) kalmamış, bitki ve hayvan türlerinin yok olmasına ve bu kimyasalların yer altı sularına karışarak hedef alınmayan diğer organizmaların etkilenmesine neden olmuştur.

Hızlı nüfus artışının beraberinde getirmiş olduğu kentleşmeyle birlikte, her geçen gün tarım alanları azalmakta ve kişi başına düşen tarım ürünü miktarın da düşüş olmaktadır. Geçmişte, tarımsal ürün bakımından kendi kendine yeten ülke konumunda olan Türkiye, şimdi birçok ülkeden tarımsal ürün ithal etmektedir. Bunun en önemli sebeplerinden biri ekonomik olarak önemli bitkilerde zararlı böceklerle mücadelenin bilinçli ve yeterli şekilde yapılmamasıdır (URL-1, 2011).

Dünya nüfusunun artışına paralel olarak, tarımda istenilen üretim artışını gerçekleştirmek için sürdürülebilir yöntemlerin ve kalıcı çözümlerin geliştirilmesi ve uygulanması zorunludur. Bu da ancak, organik tarım ile mümkündür. Organik tarım, çevrenin ve doğal tarım kaynaklarının korunmasını, bozulan ekolojik dengenin yeniden tesisini, biyolojik çeşitliliğin devamını, kimyasal kirlilik ile zehirli kalıntının sonlandırılmasını, olumsuz çevre koşullarını azaltıcı ve dünya nüfusunun sosyal ve ekonomik refahını geliştirecek sistem ve uygulamaları içermektedir. Her geçen gün hızla tükenen doğal kaynakların dengeli kullanımını ve doğal dengenin korunmasını hedefleyen bu sistemde, özellikle çevre kirliliğinin büyük boyutlara ulaştığı ve çevre bilincinin ön plana çıktığı günümüzde, organik tarım ve biyolojik mücadele daha büyük önem kazanmıştır (Lampkin,1994).

Tarım alanlarında zararlılara karşı mücadele amacıyla günümüze kadar kimyasal mücadele en fazla kullanılmakta olan yöntemdir. Ancak, kimyasal insektisitlerin istenilmeyen çeşitli yan etkileri de açıkça ortaya konulmuştur. Organik ürün yetiştiriciliği, sürdürülebilir tarım uygulamalarının yaygınlaştırılmasına ve biyolojik çeşitliliğin korunmasına yönelik faaliyetler de kimyasal insektisitlerden uzaklaşılmasını öngörmektedir. Bu gelişmelerin tümü kimyasal insektisitlerin en az düzeyde kullanımını sağlamak amacıyla, diğer mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi çabalarını arttırmıştır. Bu süreçte biyolojik mücadele büyük önem kazanmış ve bu konudaki çalışmalar yoğunlaşmıştır. Bu, alternatif yöntem arayışı içerisinde tek başına veya entegre programları dahilinde biyolojik mücadele ön plana çıkan yöntemler arasındadır.

Biyolojik mücadele, zararlı, hastalık ve yabancı otların diğer canlıların yardımıyla ekonomik zarar eşiğinin altında tutulmasıdır. Bir başka deyişle, doğada zararlı olan canlıları tamamen yok etmeden doğal dengeyi koruyucu, onarıcı ve destekleyici önlemlerin uygulamasıdır. Biyolojik mücadelede etkili olan doğal düşmanlar predatörler, parazitoidler ve patojenler olarak üç ana grupta toplanmıştır. Predatörler, zararlılar üzerinde doğrudan beslenerek etkili olan faydalı böceklerdir. Parazitoidler, yumurtalarını diğer bir böceğin ergin ya da ergin öncesi dönemleri dediğimiz yumurta, larva ve pupa gibi gelişme dönemleri içerisine bırakarak etkili olan genellikle arı grubundan faydalılardır. Patojenler ise diğer canlılarda olduğu gibi zararlılarda da hastalık yapan etmenlerdir. Hastalık oluşturan patojenler funguslar, bakteriler, virüsler ve nematodlar gibi canlılardır (Weeden et al., 2007). Biyolojik mücadelede üç temel yaklaşım vardır: (i) Mevcut doğal düşmanların korunması ve etkinliklerinin artırılması, (ii) doğal düşman popülasyonunun çoğaltılması ve desteklenmesi ve (iii) doğal düşmanların ithal edilmesi. Bu üç yöntem, birbirinden bağımsız olarak düşünülmemelidir. Çünkü, bu yöntemler birbirinin tamamlayıcısı durumundadır. Bunlar, aynı zamanda bir zararlıya karşı uygulanacak biyolojik mücadelenin aşamalarını teşkil eder.

Biyolojik mücadelede kullanılan etmenler bakteriler, virüsler, funguslar, nematodlar, protozoonlar ve rekombinant tekniklerle geliştirilen organizmalardan oluşmaktadır (Peter, 1984). Belirtilen gruplara ait etmenler zararlı böceklerde değişik hastalıklar oluşturarak böcek popülasyonlarının dengede tutulmasını ve zararlıların en az seviyeye inmesini sağlamaktadır. Bunların büyük bir çoğunluğu konağa özgü olduğu için yalnızca mücadele edilmek istenilen organizma üzerinde etkilidir. Bu özellikleriyle mikrobiyal etmenler, faydalı ve predatör böcekler, yüksek organizasyonlu ve insanlar gibi hedef dışı

organizmalar üzerinde herhangi bir risk oluşturmaz. Bunlar, tamamen doğal olmaları sebebiyle ekosistemde herhangi bir kirliliğe yol açmazlar. Bu özellikleri, kimyasal insektisitlerin yerini gelecekte biyolojik etmenlerin alacağını göstermektedir.

EDWIP (The Ecological Database of the World's Insect Pathogens) ve VIDIL (Viral Diseases of Insect in the Literature Database) verilerine göre, 2.285 farklı mikroorganizma türünün, 9.407 böcek türüyle ilişkili olduğu belirlenmiştir. Toplam 2.285 mikroorganizmanın 1.504'ünü protozoonlar, 411'ini funguslar, 168'ini virüsler, 146'sını nematodlar, 51'ini bakteriler ve 5'ini de diğer organizmalar oluşturmaktadır (Braxton vd., 2003). Bu verilerin sayısı her geçen gün yeni keşiflerle artmaktadır.

Zararlı böcekler, orman, tarla ve bahçe bitkilerinde, seralarda, süs bitkilerinde, koruma altına alınmış bölgelerde yetişen bitki türleri üzerinde, depolanmış ürünlerde, veterinerlik ve tıbbi alanlarda büyük zararlara yol açarlar (Lacey vd., 2001).

Tarım ürünlerinde, üretimin düşmesindeki en önemli nedenlerden birisi zararlı böceklerdir. Gerek pamuk ürünü ve gerekse de mısır, soya fasulyesi, ayçiçeği, tütün gibi Türkiye ekonomisinde önemli yere sahip ürünler üzerinde birçok tarımsal zararlı yaşamaktadır. Bunlar, ürünler üzerinde çeşitli derecelerde zararlar meydana getirerek büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

Pamuk yaprakkurdu (*Spodoptera littoralis* Boisd., Lep.: Noctuidae) tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de en önemli polifag tarım zararlılarından birisidir. Zararının mücadelesinde yaygın bir şekilde kimyasal insektisitler kullanılmakta olup, alternatif yöntemler araştırılmaktadır.

Farklı yöntemler de kullanılmasına rağmen, tüm dünyada olduğu gibi günümüzde ülkemizde de zararlı böceklerin mücadelesinde çeşitli kimyasal insektisitler hala etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Bu insektisitlerin ekolojik dengeyi bozarak doğal çevreye zarar vermesi, hedef organizmalar dışında yararlı böcekler üzerinde öldürücü etki göstermesi, insan sağlığını olumsuz etkilemesi gibi nedenlerle yasaklanmaya başlanmış ve hatta birçoğu da kullanımdan kaldırılmıştır. Kimyasal insektisitlerin yerine diğer birçok zararlıda olduğu gibi Pamuk yaprakkurduyla mücadelede de alternatif yollar araştırılmaya başlanmıştır. Böylece, biyolojik mücadele çalışmaları büyük önem kazanmış ve bu alanda çok önemli gelişmeler sağlanmıştır.

Dünyada, Pamuk yaprakkurdu ile kimyasallar, genetiği değiştirilmiş pamuk, çeşitli parazitler, predatörler ve mikroorganizmalar kullanılarak mücadele edilmeye çalışılmaktadır. Fakat, yapılan tüm bu çalışmalar bu böceğin popülasyonunun zarar

seviyesinin altında tutmak için yeterli olmamış ve zararlıyla mücadele halen etkin bir sorun olmaya devam etmektedir.

Pamuk yaprakkurduna karşı uygulanacak bir biyolojik mücadele etmeninin hangi dönem ve koşullarda, nasıl verileceğini belirlemek için öncelikle zararlıyı çok iyi tanımak ve biyolojisini bilmek gerekir. İkinci husus ise biyolojik mücadelede kullanılacak etmenin tespit edilmesidir. Böyle bir etmenin tespit edilebilmesi için ilk olarak mevcut biyolojik etmenlerin zararlı üzerinde test edilmesi ve zararlı böcekte muhtemel hastalık oluşturabilen yeni bir patojenin araştırılması gerekmektedir.

Bu bilgiler ışığında, ülkemiz ekonomisinde büyük bir yeri olan başta pamuk olmak üzere, çok sayıda tarım ürününde zarar oluşturan Pamuk yaprakkurdu (*Spodoptera littoralis*)'nun, uygulanmakta olan mücadele yöntemleriyle uyumlu hatta onlara alternatif oluşturabilecek bir bakteriyal mücadele etmeninin tespiti çok büyük önem taşımaktadır. Bu süreçte, çalışmada *S. littoralis*'e karşı mikrobiyal mücadelede kullanılabilmesi amacıyla zararlının kültüre edilebilir bakteriyal flora belirlendi. İzole edilen bakterilerin zararlı üzerindeki öldürücü etkileri test edildi. Ayrıca, farklı böceklerden izole edilmiş, öldürücü etkileri yüksek, KTÜ Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Laboratuvarı entomopatojen koleksiyonunda depolanan bakteriyal etmenlerden *Bacillus* cinsine ait 12 izolatın zararlı üzerindeki öldürücü etkileri tespit edildi.

## 1.2. Organik Tarım ve Biyolojik Mücadele

Tarımsal üretimde kullanılan kimyasalların (ilaç, gübre gibi) olumsuz etkilerinin insan ve toplum sağlığı üzerindeki zararları artarak kendini hissettirmeye başlamıştır. Tüm bu olumsuz etkilerin ortadan kaldırılması amacıyla kimyasal gübre ve tarımsal savaş ilaçlarının hiç ya da mümkün olduğu kadar az kullanılması, bunların yerini aynı görevi yapan organik gübre ve biyolojik mücadele yöntemlerinin alması temeline dayanan Ekolojik Tarım Sistemi geliştirilmiştir.

Organik tarımda, kimyasal mücadelede kullanılan pestisitlerin çevreye ve insan sağlığına olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak ve pestisit kullanımının azaltılması çabalarını doğurmuştur. Pestisitlere alternatif doğal metotlardan biri de organik tarımda doğal düşmanların kullanıldığı biyolojik mücadeledir. Organik tarım, çevresel ve ekonomik olarak sürdürülebilir tarımsal üretim sistemini oluşturmayı amaçlayan bir yaklaşım olarak tanımlanabilir. Organik tarımda biyolojik mücadele, uygun diğer mücadele yöntemleriyle birlikte uygulandığında çok etkilidir. Son yıllardaki biyolojik mücadele anlayışı, doğada mevcut olan faydalı organizmaların korunması ve

etkinliklerinin artırılması yönündedir. Doğal düşmanların yeterli yoğunluğa ulaşamadığı durumlarda etkinliğini arttırmak için laboratuvarlarda üretilerek doğaya salımı yapılmaktadır. Doğal düşman popülasyonunun çoğaltılması iki genel metot ile yapılmaktadır. Bunlar doğal düşmanların kitle üretimi ve periyodik kolonizasyonu veya doğal düşmanların genetik yolla çoğaltılmasıdır. Doğal düşmanlar insektaryumlarda üretilmekte ve kritik zamanda aşılama veya kitle halinde salım olmak üzere iki yol ile salımı yapılmaktadır. Klasik biyolojik mücadele yöntemi olarak da tanımlanan doğal düşmanların ithali, ekosistemde yeni olan ve bir salgın oluşturan zararlının o yörede bulunmayan doğal düşmanlarının zararlının anavatanından getirilip o alana yerleştirilmesi esasına dayanır. Organik tarımda biyolojik mücadele çevre dostu bir uygulama olup, diğer tarım sistemlerine göre daha kalıcıdır.

### **1.3. Türkiye’de Üretilen Çeşitli Tarım Ürünleri ve Bunların Ekonomideki Yeri**

İnsan nüfusunun devamlı artmasından dolayı, tarımsal üretime olan ihtiyaç da giderek artmaktadır. Çaprazlama deneyleri sonucu verimli ırkların üretilmesiyle bu dengelenmeye çalışılmaktadır. Fakat, bu çalışmalara rağmen, verim istenildiği kadar arttırılamamıştır (Aktaş ve Yurdakul, 2005). Burada tarımsal zararlıların etkisi oldukça önemlidir.

Pamuk bitkisi, yaygın ve zorunlu kullanım alanıyla insanlık açısından, yarattığı katma değer ve istihdam olanaklarıyla da üretici ülkeler açısından büyük ekonomik öneme sahiptir. Artan nüfus, doğal elyafa olan ilginin giderek artması ve yaşam standardının yükselmesi, pamuk bitkisine olan talebi de arttırmaktadır. Ülkemiz genelinde önemli bir yeri olan pamuk üretiminde verim azalması, kalitenin ve üretimin düşmesindeki en önemli nedenlerden birisi zararlı böceklerdir. Pamuk, gerek ürün, gerekse yaprak üzerinde birçok tarımsal zararlı böcek yaşayan bir bitkidir. Bunlar, pamuk üzerinde çeşitli zararlar meydana getirerek büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

Mısır, dünyada buğday ve çeltikten sonra en fazla tarımı yapılan tahıl bitkisidir. Mısır (değişik şekillerde insan hayatında yer almaktadır; yağ, nişasta, tane tüketimi, mısır gevreği ve slajik yem gibi) gerek insan gıdası ve hayvan yemi olarak kullanılması ve gerekse endüstri hammaddesi olarak işlenmesinden dolayı büyük önem taşıdığından, yetiştiriciliği de oldukça önemlidir. Karadeniz Bölgesinde ve ülkemiz genelinde önemli yeri olan mısır üzerinde verim azalması, kalitenin ve üretimin düşmesindeki en önemli nedenlerinden birisi zararlı böceklerdir. Mısır gerek ürün, gerekse gövde ve kökleri

üzerinde birçok tarımsal zararlı böcek yaşayan bir bitkidir. Bu zararlılar mısır üzerinde çeşitli zararlar meydana getirerek büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

Soyafasulyesi, ülkemiz insanının beslenmesinde çok önemli yeri olan sebzelerden biridir. Özellikle insanımızın protein ihtiyacının karşılanmasında önemli bir rol oynar. Taze, kuru, konserve, dondurulmuş, güneşte ve yapay yollarla yeşil olarak kurutularak kullanılabilir. Yağ içeriğide oldukça yüksektir. Üretimde büyük paya sahip olup, ülke ekonomisinde de önemli olan sebzelerdendir.

Ayçiçeği, dünyada ve ülkemizde en önemli yağ bitkilerinden biri olup, ülkemizde genellikle yağlık olarak yetiştirilir. İnsan beslenmesinde, özellikle bitkisel yağların önemi büyüktür. Ayçiçeği, ülkemiz bitkisel yağ üretiminde %50 ile en büyük payı olmakta ve yağ bitkileri üretiminde de başta gelmektedir.

Türkiye'nin başlıca tarımsal ihracat ürünleri arasında yer alan, yıllık ortalama 400-500 bin dolarlık ihracat getirisi olan tütün; üzüm, incir, zeytin ve pamuk gibi geleneksel ihraç tarım ürünleri arasında katma değeri en yüksek üründür. Ayrıca tütün Dünya'nın en önemli sanayi ürünlerindendir.

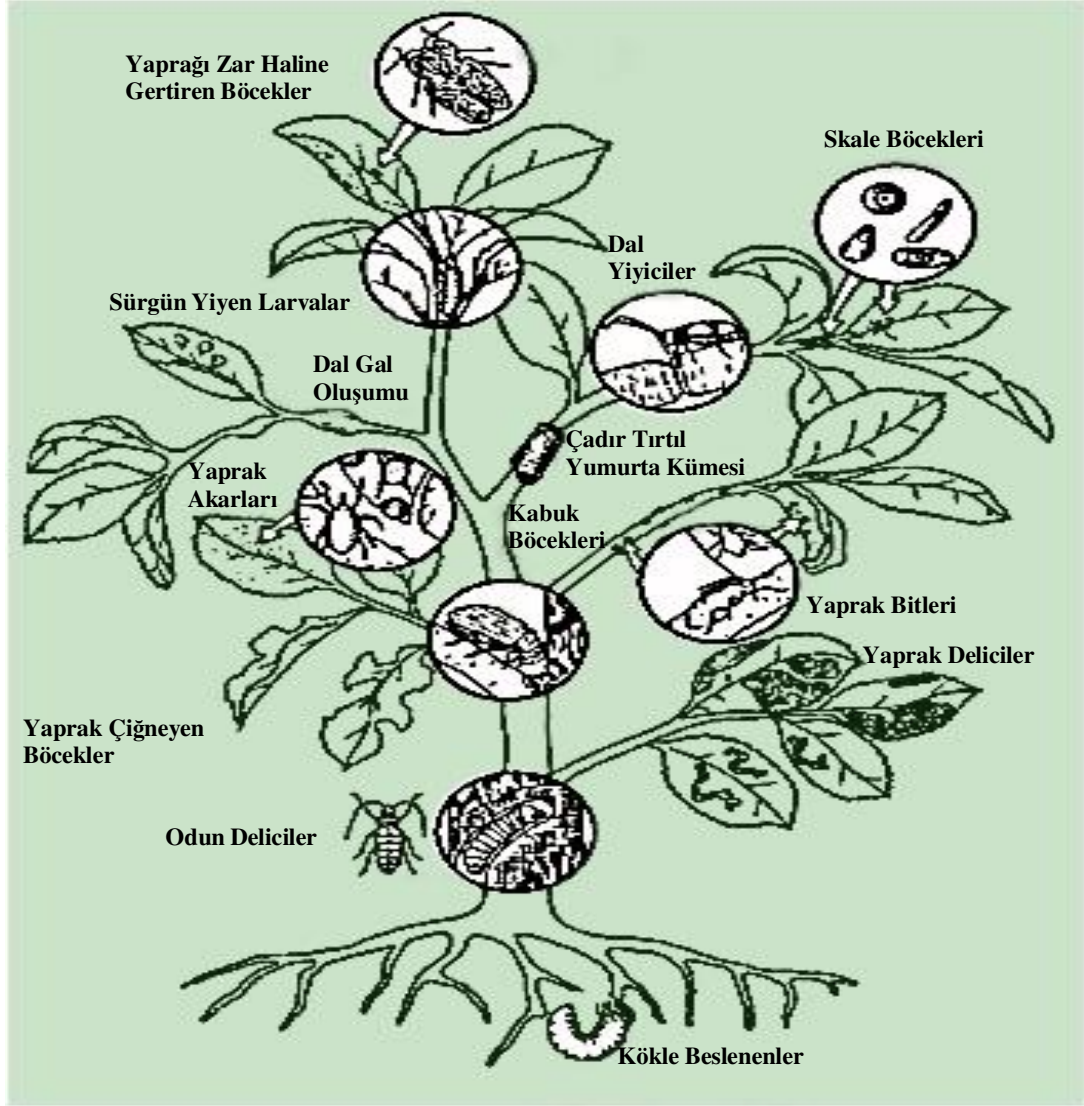
Yukarıda belirtilen önemli endüstriyel ürünlerin yanında ülkemizde çok sayıda sebze de üretilmektedir. Bunların da çeşitli ölçeklerde üretimleri yapılarak bölge ve ülke ekonomisine katkılar sağlamaktadır. Domates, soğan, patates başta olmak üzere çok sayıda sebze ihraç ürünlerimiz arasında yer almaktadır.

#### **1.4. Tarımsal Zararlılar**

Yukarıda belirtildiği gibi tarım alanlarında önemli miktarlarda çeşitli tarımsal ürünler üretilmektedir. Bunlar, değişik miktar ve oranlarda insan ve diğer canlılar için önemli besin kaynakları olarak tüketilmektedir. Ayrıca, bunların üretimlerini yapan üreticilere sağladıkları ekonomik katkılar da oldukça önemlidir. Özellikle bir tarım ülkesi olduğumuzu düşünecek olursak, bu üretimin bizim için ne kadar daha büyük bir öneme sahip olduğu ortaya çıkmaktadır. Çeşitli çevresel, iklimsel ve kültürel etkiler yukarıda belirtilen ve önemi vurgulanan tarım ürünlerinin üretiminde etkili olmaktadır. Bu etkiler zaman zaman önemli ürün kayıplarına da neden olmaktadır.

Zararlı böcekler de bitkisel ürün kayıplarında önemli bir yer tutmaktadır. Çevresel olarak bakıldığında bitkilerin farklı kısımlarını etkileyen çok sayıda zararlı vardır (Şekil 1). Bunlar, bitkilerin kök uçlarından başlayarak, yaprak, sürgün, tomurcuk, meyve gibi bütün kısımların üzerinde değişik miktar ve oranlarda zararlar oluşturmaktadır. Bu zarar ve etkinin yeri ve derecesine bağlı olarak da, bitki tamamen kuruyabildiği gibi, önemli

derecelerde bitkisel yapı ve ürün kayıpları ortaya çıkmaktadır. Sonuç olarak bundan üreticiler, tüketiciler ve ihracatçılara dolayısıyla, tüm ülke etkilenmektedir.



Şekil 1. Böceklerin bir bitki üzerinde etkili olarak zarar oluşturduğu kısımlar (Halkalar, bitkinin kök ucundan en uç noktaya kadar zararlının etkili olduğu muhtemel zararlı gruplarını ve zarar şeklini göstermektedir.)

Bu zararlılar, mücadele edilmesi gereken önemli sorunlar olarak bütün dünyanın karşısında durmaktadır. Zararlıların bulundukları yer ve etkili oldukları bölgelere göre değişik mücadele yöntemleri uygulanarak bu sorunun üstesinden gelinmeye çalışılmaktadır.

#### **1.4.1. Zararlılarla Mücadele Yöntemleri**

İnsanoğlu yaradılışından beri tarımla uğraşmaktadır. Tarım ürünlerinin azalmasındaki en önemli sebep yukarıda da belirtildiği gibi bitkilere zarar veren böcek popülasyonlarıdır. Bu böceklerin zarar seviyelerini en alt düzeyde tutmak için yapılan çalışmalar, zararlılarla mücadele yöntemleri olarak adlandırılmaktadır. Tarımda çeşitli zirai mücadele yöntemleri vardır.

#### **1.4.2. Kültürel Mücadele**

Toprak bakımı, işlenmesi ve gübrenmesi, yabancı ot ve atıkların temizlenmesi ve bitki nöbetleşmesi gibi toprakla ilgili yapılması gereken şeylerdir.

#### **1.4.3. Doğal Mücadele**

İnsanların herhangi bir yardımı olmadan doğal kuvvetlerle böcek popülasyonlarının kontrol altında tutulmasıdır.

#### **1.4.4. Yasal Mücadele**

Yasal yollardan yararlanılarak zararlıların yayılmalarını önlemektir. Karantina, ambargo, muayene veya sertifika uygulamak bunların başında gelmektedir.

#### **1.4.5. Mekanik Mücadele**

Böcekleri çeşitli yöntemlerle toplama işlemidir. Işık tuzaklarıyla pusuya düşürerek, yem ve feromon tuzakları kullanılarak gerçekleştirilir.

#### **1.4.6. Fiziksel Mücadele**

Sıcak ve nemden yararlanılarak böceklerin öldürülmesi, elektrik veya radyo dalgaları kullanılarak böceklerin kısırlaştırılmasını içeren mücadele yöntemleridir.

#### **1.4.7. Kimyasal Mücadele**

Çeşitli kimyasalların toz veya sulu halde kullanılması suretiyle yapılan mücadeledir. Ülkemizde çok yaygın bir şekilde kullanılmasına rağmen, gelişmiş ülkeler bu yöntemi terk etmektedir.

Zararlı popülasyonu oluştuğunda kimyasal mücadele tek çare olarak belirlenmiştir. (Anonim, 2008). Kimyasal insektisitlerin potansiyel olumsuz etkilerinden dolayı zararlıların mücadelesinde kullanılabilecek diğer yöntemlerin araştırılması yararlı olacaktır.

#### 1.4.7.1. Kimyasalların Çevreye Olan Etkileri

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de zararlı böceklerin mücadelesinde çeşitli kimyasal insektisitler kullanılmaktadır. Fakat, kullanılan bu insektisitler doğal çevre ve hedeflenmemiş organizmalar üzerinde olumsuz etkilere sahiptir (Ecevit, 1988; Ünal, 1998). Özellikle 1950’lerden sonra insektisitlerin olumsuz etkilerinin ortaya çıkarılması, zararlı böceklerin mücadelesinde yapılan çalışmaların daha etkili ve güvenli mücadele etmenleri bulmaya yönlendirmiştir.

Zararlı böceklerle mücadelede 1800’lü yılların ortalarına kadar, zararlıların toplanması veya yıkanması şeklinde mücadele ediliyordu. Bu tarihten sonra önce kükürt ve arsenik, daha sonraları ise kurşun asetat, cryolite ve borik asit gibi çok az kimyasal madde böceklerle karşı kullanıldı. Dikloro-difenil-trikloroetan (DDT)’nin 1938-1940 yıllarında insektisit özelliğinin keşfedilmesinden sonra kimyasal mücadelede yeni bir çağ açıldı.

Dünya Sağlık Örgütüne (WHO) göre insektisitlere dayanıklılık, “normal bir popülasyondaki bireylerin çoğunu öldürdüğü tespit edilen zehirli bir maddenin bir dozuna karşı, aynı türün diğer bir popülasyonundaki bireylerin tolerans kazanma yeteneğinin gelişmesi” olarak tarif edilmektedir. Başka bir tanıma göre ise dayanıklılık, “ bir arthropod türünün bir ırkının, aynı türün duyarlı popülasyonunda saptanmış olan LD<sub>100</sub> değerinin iki katı olan ilaç dozundan etkilenmemesi” olarak açıklanmaktadır.

Zararlı böceklerle ilgili toksisite denemelerinde her zararlının kendine has bir doz ölüm eğrisi vardır. Kullanılan ilaç dozu arttığında ölüm oranı da artar. İşte bu durumda eğer doz arttığında ölümdaki artış oranı yavaş yavaş azalıyorsa, o canlıya karşı kullanılan toksik maddeye karşı bir mukavemet başlamış demektir.

Arthropodların insektisitlere karşı dayanıklılığı ilk olarak 1908 yılında San Jose kabuklu biti (*Quadraspidiotus perniciosus*)’nde gözlenmiş ve her geçen yıl bu sayı artmıştır. DDT’nin piyasaya sürülmesiyle dayanıklı popülasyonların görülme oranı birden bire ve belirgin bir şekilde artış göstermiştir. Daha sonraki yıllarda (1984 yılında) yapılan çalışmalara göre 447 böcek türünün insektisitlere karşı dayanıklı olduğu belirlendi. Bu sayının her geçen yıl arttığı ve günümüzde 1000 türün üzerinde olduğu düşünülmektedir. Bu türlerin başta Diptera ve Coleoptera olmak üzere arthropodların 14 farklı takımına ait olduğu bilinmektedir.

Insektisitlere dayanıklılık sonucu, doz arttırımına gidilmekte ve uygulamalar arasındaki süre kısaltılmaktadır. Bu çabalar da sonuçsuz kaldığında daha etkili ve zehirli bir insektisit kullanımına ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun maddi bedeli ölçülemeyecek kadar

yüksek olmaktadır. Örneğin, Nikaragua’da pamuk tarımı 1950’li yıllarda başarı kazanmış ve 1965 yılında üst noktaya ulaşmıştır. Ancak, bu başarıda takip eden 5 yılda yanlış insektisit kullanımı sonucu %16’ya yakın azalma olmuştur. Hızla gelişen mukavemet sonucunda *Heliothis zea* ve *Spodoptera sunia* popülasyonunda patlama gerçekleşmiş ve mücadele imkansız hale gelmiştir. Ayrıca, sekonder zararlı konumdaki birçok tür önemli zararlara yol açmıştır. Sonuç olarak, uygulama dozu 2 katına çıkarılmış, bazen bir uygulama sırasında 5 farklı insektisitin birden kullanıldığı olmuştur. Bu da üretim maliyetlerini çok arttırmıştır. Benzer durum, Meksika’daki pamuk tarlalarında gerçekleşmiştir. Yüksek dozlarda ve daha zehirli insektisit kullanımı sonucu insan zehirlenmelerinde büyük artış olmuş ve pamuk tarlalarından sürüklenen ilaçların komşu turuncgil bahçelerindeki zararlıların biyolojik mücadelesine ters etkisi sonucu, turuncgillere daha yoğun pestisit uygulanması yapılmıştır. Sonuç olarak, çok fazla uygulamanın getirdiği maliyet ve ürün kaybı sonucu 1970’lerde pamuk üretimi bitme noktasına gelmiştir.

Aşırı dozda ilaç kullanımı zararlı üzerine etkili olmaktan daha çok, çevre kirliliği ve diğer yan etkileri ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca, insektisitlere dayanıklılığın sonucu olarak sosyal harcamalarda da artış görülmüştür. Zararlılarla mücadele için uygulanan kimyasallar, hedef zararlı böceğin haricinde diğer canlıları da olumsuz yönde etkilemektedir. Kimyasalların yoğun bir şekilde kullanılması, zaman içinde zararlı böceklerde insektisitlere karşı dayanıklılık mekanizmasının gelişmesine neden olmaktadır. Gerçekleşen bu dayanıklılık mekanizması, ilaçtan kaçma gibi davranışsal olabileceği gibi birbirine çok yakın akraba türler arasında dahi zararlıya direnç gösterebilecek ırkların oluşabilmesi şeklinde de gerçekleşebilir. Bazen de böceklerin vücut yapılarından kaynaklanan yapısal dayanıklılık söz konusudur. Örnek vermek gerekirse, böyle bir durumda böcek, kalın kutikula tabakası sayesinde uygulanan insektisite karşı dirençlidir. Gerçekleşen dayanıklılık davranışları arasında en önemlisi fizyolojik dayanıklılıktır. Çünkü, bu dayanıklılık kazanılmış ve kalıtsal hale geldiği için böceklerin yeni nesillerine aktarılır. Bir diğer dayanıklılık mekanizması ise bir böceğin bir insektisite karşı dayanıklılık kazandıktan sonra benzer insektisitlere karşı kendini koruyabilmesidir. Buna da çapraz dayanıklılık adı verilir (Ecevit, 1988).

Insektisitlerin etki tarzı bakımından zararlı ve faydalı böcekler arasında bir farklılık yoktur. Fakat, etkileri bakımından farklılık vardır. Faydalı böcekler olarak kabul edilen predatör ve parazitler insektisitlerden daha fazla etkilenmektedir. Ne yazık ki parazit ve

predatörlerdeki dayanıklılığın oluşumu, zararlı böceklerdeki kadar çabuk olmamaktadır. Bunun sonucu olarak, zararlı populasyonları üzerinde dengeleyici olan predatörler ve parazitler ortadan kalkmakta ve zararlılar daha çabuk yayılmaktadır (Ecevit, 1988).

Buna ilaveten, doğal denge bozulmakta, tür çeşitliliği azalmakta ve daha önce problem olmayan yeni bazı zararlılar ortaya çıkmaktadır. Bu durumda sekonder zararlılara karşı ilave ilaçlama yapma zorunluluğu meydana gelmektedir. Örneğin, Çukurova’da beyaz sineğin, doğal düşmanlarının insektisitlerden zarar görmesi nedeniyle sorun haline geldiği bilinmektedir (Ünal, 1998).

Insektisitlerin kullanıldığı alanlarda doğal olarak yaşayan polinatör canlılar da yok olduğu için bu alanlardaki zirai ürünlerde tozlaşma oranı azalmaktadır (Ecevit, 1988). Bitkilerde tozlaşmada önemli rol oynayan bal arıları ve yaban arıları insektisitlerden etkilenen önemli bir canlı grubunu oluşturmaktadır. Kimyasal insektisitler yalnızca böcek türlerine değil, doğada bulunan bitki örtüsüne de zarar vermektedir. Kimyasal insektisitlerin doğada toprak ve bitkilerde birikmelerinden dolayı yok olmaları çok uzun sürmektedir. Oluşan bu birikim topraktaki normal mikrobiyal populasyonu bozarak toprak veriminin düşmesine neden olduğu gibi bitkiler aracılığıyla besin zincirine dahil olarak besin zincirinin en üst seviyesindeki canlılara kadar ulaşmaktadır. Belli bir alana uygulansalar dahi kolayca yok olmadıklarından dolayı, rüzgar ve yağmur gibi doğal olaylarla çok daha geniş alanlara yayılabilmeleri insektisitlerin zararını daha da artırmaktadır (Ünal, 1998).

Herhangi bir yolla sulara erişen kimyasal maddeler balıklar tarafından alınır. Balıkların büyüme, üreme, kaçma ve saklanma gibi bazı yetenekleri, insektisitlerin bünyelerinde birikimlerine göre azalır veya tamamen yok olur. Rakipler karşısında daha kolay avlanmaları sonucu bazı türlerin bütünüyle ortadan kalkması söz konusu olabilir (Ünal, 1998). Ekonomik öneme sahip balık türlerinde biriken insektisitler beslenme yoluyla insanlara geçer. İnsektisitlerin balıkları öldürme etkilerinden başka sulardaki oksijen miktarını da düşürerek, su canlılarının yaşamını tehdit etmektedir.

Insektisitler kullanıldıkları alanlardaki bitkilerin çimlenmesi, vejetasyonu ve üremesi üzerine de olumsuz etkiler yapmaktadır. Bazen bitkilerin bilimli doku kısımlarında, özellikle yaprak ve sürgünlerinde yanma denilen bir takım lekeler ile renk değişimlerinin meydana gelmesine sebep oluşturmaktadır. Hatta bazen tüm bitkinin öldüğü görülür (Ecevit, 1988). Bitkilere bulaşan insektisitler, bitki üzerinde bıraktıkları kalıntılarla,

besinin tat ve kokusunu bozabildiği gibi, beslenme yoluyla insan vücuduna alınarak toksik etkilere de yol açmaktadır.

#### **1.4.7.2. İnsektisitlerin İnsanlar Üzerine Olan Etkileri**

İnsektisitler doğrudan doğruya veya dolaylı olarak insan sağlığını etkilemektedir. Bu etkiler akut ve kronik toksisite olarak iki grup altında toplanabilir (Ecevit, 1988).

Bir kimyasalın bir kez veya kısa bir zaman diliminde (Örneğin, 24 saat) birkaç kez alınması sonucunda vücutta oluşan hasar akut toksisite olarak tanımlanır (Ünal, 1998). Akut toksisite ilacın imali sırasında çalışanların ilaçlardan zehirlenmesi sonucu ortaya çıkabildiği gibi bu ilacın taşınması, depolanması ve kullanılması esnasında güvenli kullanım kurallarına uyulmaması sonucu da ortaya çıkabilir (Ecevit, 1988). Bursa’da 1963 yılında, parathionla ilaçlanmış şeftaliyi yiyen 32 kişiden 7’sinin aynı gün ölmesi akut toksisiteye örnek verilebilir. İnsektisitlerin üretim ve kullanımları sırasında meydana gelen iş kazaları, bu ilaçların insan sağlığına karşı olumsuz etkilerini çok çabuk bir şekilde göstermesine sebep olmaktadır. Örneğin, Hindistan’ın Bhopal kentinde 1984 yılında, ABD’ye ait Union Carbide Şirketi’nin bir fabrikasından çevreye yayılan yaklaşık 45 ton metil izosiyonat gazı, civardaki 2500 kişiyi uykularında öldürmüş ve fabrika çevresindeki çok geniş bir alanı yaşanmaz hale getirmiştir. Aradan 4 yıl geçtikten sonra bile, fabrika çevresindeki köylülerden her yıl ortalama 500 kişinin ölmesi, tehlikenin boyutlarını göstermesi açısından oldukça önemlidir (Ünal, 1998).

Kronik toksisite ise bir kimyasalın akut toksisiteye neden olmayacak kadar düşük dozlarda uzun süre alınması halinde sıcağanlılarda meydana getirdiği fizyolojik düzensizlik olarak tanımlanır (Ünal, 1998). İnsektisitlerle bulaşık veya bekleme süresi dolmadan insektisit kalıntısı içeren bitkisel besinlerin yenmesiyle de kronik toksisite meydana gelebilmektedir. Örneğin, Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde heksaklorobenzenli (HCB) insektisitle ilaçlanmış tohumluk buğdayı yiyen 3000 kişide Porfiria (Karayara) hastalığının görülmesi ve bunlarda %11 oranında ölüm meydana gelmesi, dünya çapında ilgi uyandıran bir zehirlenme olayıdır (Ünal, 1998). Ayrıca, düşük dozlarda alınan bu insektisitlerin insan vücudunda birikimi sonucu, gelecek kuşaklarda neler meydana getireceğini de şimdiden tahmin etmek oldukça zordur. İnsektisitlerin sinir sistemi üzerindeki enzimlere etkili oluşu, önemlerini bir kat daha arttırmaktadır. Bugün özellikle fazla miktarlarda kullanılan klorlandırılmış hidrokarbonların insan ve hayvanların beyin, karaciğer, böbrek ve yağ dokularında toplanarak toksik etkide bulunduğu bilinmektedir (Ecevit, 1988).

Dünya Sağlık Örgütü'nün 1985 yılı raporlarına göre, her yıl 1.000.000 kişi pestisitlerden zehirlenmekte ve bunların yaklaşık 20.000'i ölümlle neticelenmektedir. Dünya pestisit tüketiminin 1/3'ü az gelişmiş ülkelerde gerçekleşmesine rağmen, dünya pestisit ölümlerinin %75'i bu ülkelerde meydana gelmektedir (Ünal, 1998).

Zararlı böceklerle mücadelede kullanılan insektisitlerin anlatılan yan etkilerinden dolayı, kimyasal mücadelenin günümüzde mümkün olduğunca kısıtlanması ve bunun yerini çevresel açıdan daha güvenli olan biyolojik mücadelenin alması gerektiği düşünülmektedir.

Son 25 yılı aşkın bir süredir, zararlı böceklerle mücadelede yukarıda bahsedilen zararlı etkileri nedeniyle kimyasal insektisit kullanmanın yerine alternatif veya destek yöntemleri araştırmaya başlanmış (Bernard ve Jack, 2003) ve böylece biyolojik mücadele çağı başlamıştır.

#### **1.4.8. Biyolojik Mücadele**

“Biyolojik mücadele” sözcüğü ilk defa 1919 yılında Kalifornia Üniversitesi'nden Harry Smith tarafından ‘böcek popülasyonlarının tabii veya çeşitli uygulamalarla kontrol altına alınması’ için kullanılmıştır. Bununla birlikte, teknolojik gelişmelerle bu tanım önemli araştırmalara temel oluşturmuştur.

Günümüzde biyolojik mücadele, “zararlı böceklerin yapmış olduğu zararı en aza indirmek için bu böceklerin doğal düşmanlarını kullanma” olarak tanımlanabilir. Doğal düşman terimi, predatör ve parazitlerle birlikte hastalık oluşturan mikroorganizmaları da kapsamaktadır (Peter, 1984). Ancak, böceklerde hastalık oluşturan mikroorganizmaların kullanımı, genellikle mikrobiyal mücadele olarak adlandırılır.

Biyolojik mücadele, kimyasal mücadelenin tüm olumsuz yönlerini ortadan kaldırması bakımından son yıllarda tercih edilmesi gereken bir mücadele yöntemi haline almıştır .

Biyolojik mücadelenin bir alt kolu olan mikrobiyal mücadele, zararlı böceklerle mücadelede patojen mikroorganizmaların kullanılmasını kapsar. Entomopatojen olarak adlandırılan bu mikrobiyal mücadele etmenleri (bakteriler, virüsler, funguslar, nematodlar, protozoonlar) zararlı böceklerde hastalık oluşturarak böcek popülasyonlarının dengede tutulmasını ve zararlarının en aza indirilmesini sağlamaktadır. Bu entomopatojenlerin büyük bir çoğunluğu konağa özel olduğu için yalnızca mücadele yapılmak istenilen organizma üzerinde etkili olur. Bu özelliğiyle, faydalı ve predatör böcekler, hayvanlar ve insanlar gibi hedef dışı organizmalar üzerinde herhangi bir risk oluşturmazlar. Tamamen

doğal olmaları sebebiyle ekosistemde herhangi bir kirliliğe yol açmazlar. Bu özellikleri, gelecekte kimyasal insektisitlerin yerini bu biyolojik etmenlerin alacağını göstermektedir.

Biyolojik mücadele, diğer mücadele yöntemlerine göre doğal dengenin kurulmasına yardımcı olması, uzun vadede kalıcı sonuçlar vermesi ve nihai hedefe ulaştırabilmesi bakımından en çok tercih edilmesi gereken mücadele yöntemidir (Oğurlu, 2000).

Biyolojik mücadeleyi asıl önemli kılan, ekosistemi bozmaması ve zararlı türler üzerinde kalıcı ve dinamik bir etki meydana getirmesidir. Bu iki özellik diğer mücadele yöntemlerinde bulunmaz. Biyolojik mücadele diğer mücadele yöntemlerine göre yan etkilerinin olmayışı, başlangıçta masraflı olsa da ilerleyen yıllarda ilk kuruluş harcamalarını tolere ederek en az masrafla en iyi sonucun alınabilmesine imkan vermesi, etkisini uzun süre devam ettirebilmesi, zararlılarda dayanıklılığa ve bağışıklığa yol açmaması ve zararlıyı direkt olarak öldürmekten başka, üreme gücünü azaltma ve gelişiminde dengesizlikler yaratma gibi dolaylı faydalar sağlaması bakımından birçok avantajlara sahiptir. Buna karşın esaslı bilgi gerektirmesi, başlangıçta risk taşıması ve neticenin geç alınması gibi tolere edilebilecek dezavantajları bulunmaktadır.

Biyolojik mücadelenin ilk uygulama dönemleri çok eski tarihlere dayanmaktadır. Asya'da avcı karıncalardan bu hususta yararlanıldığı ve bu karıncaların M.S. 900-1200 yılları arasında narenciye zararlılarına karşı kullanıldığı bilinmektedir. Bin ikiyüzlü yıllarda Yemen'de palmiye ağaçlarındaki zararlılara karşı karıncaların kullanıldığı ve Arabistan'da her yıl dağlardan getirilen avcı karınca kolonilerinin, hurma ağaçlarında zarar yapan bir diğer karınca türüne karşı kullanıldığı kayıtlıdır (Oğurlu, 2000).

İngiltere'de (1770)'li yıllarda tarım arazileri ve seralardaki çeşitli bitkiler üzerinde zarar yapan afitlerle mücadelede gelin böceklerinden faydalanılmıştır. Fransa'da kavak ağaçlarında zarar yapan *Lymantria dispar* L. (Lep: Lymantriidae) tırtıllarıyla mücadelede (1840 yılında) koşucu böceklerden faydalanıldığı bilinmektedir. Bir kurbağa türü olan *Bufo marinus* L. (Anura: Bufonidae) (1844 yılında) zararlı böceklerle karşı kullanılmak üzere Jamaika'dan Barbados'a nakledilmiştir. *Poecilia reticulata* (Lepistes, Guppy), lepistes balıkları sivrisineklerle mücadelede bataklık bölgelerde halen kullanılmaktadır.

Biyolojik mücadelede elde edilen bu başarılar, uygulayıcıları cesaretlendirmiş ve günümüze kadar büyük bir gelişme göstererek ilerletilmiştir. Son yıllarda çalışmalar ağırlıklı olarak böceklerde hastalık oluşturan entomopatojenlerin izolasyonu, karakterizasyonu ve biyolojik mücadele de kullanımına yönelmiştir.

#### **1.4.8.1. Biyolojik Mücadelede Kullanılan Etkin Gruplar**

Biyolojik mücadelede etkili bir şekilde kullanılan organizmalar predatörler, parazitler ve mikroorganizmalar olarak 3 ana grup altında toplamak mümkündür. Zararlı böceklerin doğal düşmanları olan bu canlılar, zararlılarla mücadelede büyük potansiyele sahiptir.

##### **1.4.8.1.1. Predatörler**

Böcek predatörleri, böcekleri yakalayan ve besin kaynağı olarak yiyen hayvanlardır. Bu predatörleri balıklar, amphibiler, sürüngenler, kuşlar, böceklerle beslenen çeşitli omurgasız hayvan grupları ve karnivor böcekler oluşturur. Ormanlarda zarar yapan böcekler düşünüldüğünde, bu gruplardan kuşlar ve karnivor böceklerin biyolojik mücadelede kullanılma potansiyeli olduğu söylenebilir. Kuşlar için mutlak yararlı veya mutlak zararlı denilememekle birlikte, kuşları orman için genelde faydalı hayvanlar olarak saymak mümkündür. Zira, zararlı böceklerin erginlerini, pupalarını, larvalarını ve yumurtalarını yiyen pek çok kuş türü, bu yönleriyle doğal dengenin sağlanmasında önemli rol oynamaktadır (Oğurlu, 2000).

##### **1.4.8.1.2. Parazitler**

Böcek parazitleri, hayatını tek bir konukçu ferdi üzerinde tamamlayan ve konukçusunu zayıflatan, gerileten, gelişmesine mani olan veya öldüren organizmalara denir. Konukçu ise paraziti taşıyan canlıya verilen isimdir. Buna göre parazitin ya belirli bir süre ya da tüm hayat döngüsü boyunca, kendisinden daha gelişmiş başka bir canlının üzerinde veya içinde yaşaması gerekir. Bu süre zarfında parazit, konukçunun vücut ısısından, besininden ve hatta hormonlarından faydalanarak konukçu organizmanın zararına gelişmekte ve çoğalmaktadır. Böcek parazitleri kendi gelişimleri tamamlandığında her zaman böceği öldürürler.

Böcek parazitizmi oldukça sık rastlanılan bir durumdur ve birçok böcek kendisiyle bağlantılı bir veya çoğunlukla birkaç parazit türe sahiptir. Bütün parazit böcekler bağlandıkları konağın hayat döngüsü içindeki belli bir safhaya özelleşmiş durumdadır. Bu yüzden bazıları pupa ve yumurta safhası ile sınırlanmışken, bazıları da larval parazitlerdir.

##### **1.4.8.1.3. Mikroorganizmalar**

Mikroorganizmalardan üretilen insektisitlerin, hedef böcek türleri için oldukça spesifik olmaları, bakteriler sayesinde ayrıştırılabilir olmaları ve zararlı böceklerde bu bileşiklere karşı direnç gelişiminin yavaş olması bakımından oldukça avantajlıdır. Fakat, düşük tesirli olmaları ve yüksek üretim maliyetleri açısından bakıldığında farklı

uygulamalar için kullanımları kısıtlanmış olur. Ancak, rekombinant DNA teknolojisi bunun gibi birçok negatif özelliğin üstesinden gelebilmek için çeşitli imkanlar sağlar. Özellikle *Bacillus thuringiensis*'lerin insektisidal aktiviteleri ve böcek bakülovirüs sistemleri, etkili, güvenli ve spesifik olarak geliştirilmiş biyolojik mücadele etmenleridir.

Doğada, böceklerin hastalanmalarına ve ölümlerine neden olan orjini bakteri, virüs, mantar, nematod veya protozoa olan pek çok mikroorganizma mevcuttur (Lipa, 1975). Bu mikroorganizmalar entomopatojen olarak adlandırılır. Doğada bulunan entomopatojenler böcek populasyonlarının dengelenmesinde büyük öneme sahiptir. Birçok entomopatojen mikroorganizma, tarla ve bahçe bitkilerinde, seralarda, süs bitkilerinde, koruma altına alınmış alanlarda yetişen bitki türleri üzerinde, orman arazilerinde, depolanmış ürünlerde, veterinerlik ve tıbbi alanlarda zararlara yol açan vektör ve zararlı böceklerin biyolojik mücadelesinde kullanılır (Lacey ve Kaya, 2000; Lacey vd., 2001).

Entomopatojenlerin yakın gelecekte, mikrobiyal mücadele etmeni olarak, sadece fiyat ve etkinlik bakımından değerlendirildiğinde bile kimyasal pestisitlere göre daha kullanışlı hale geleceği düşünülmektedir. Buna ilave olarak, bu entomopatojenlerin mikrobiyal mücadele etmeni olarak kullanılmaları, ekosistemdeki biyolojik çeşitliliğin sürdürülmesi, zararlı türlerin doğal düşmanlarının korunması, besinler üzerinde kalıntı bırakmaması, hedeflenmemiş diğer organizmalar ve insanlar açısından güvenli olması gibi birçok avantajlara sahiptir (Lacey vd., 2001).

Zararlı böceklerin diğer doğal düşmanları gibi entomopatojenler de tek bir tür veya gruba spesifiktir ve bazıları zararlı böceklerin uzun zaman periyotları boyunca mücadelesini sağlayabilir (Lacey vd., 2001). Entomopatojenlerin zararlı böceklere karşı kullanım stratejileri temelde diğer biyolojik etmenlerinin kullanımlarıyla aynıdır (Hamm, 1984; Harger, 1987). *In vitro* koşullarda üretilip uygulanabildiği gibi uygun koşullarda saklanıp doğal ortamda tekrar aktif hale geçebilirler.

Birçok virüsün böceklerin hastalanmasına neden olarak böcek salgınlarını etkiledikleri bilinmektedir (Steinhaus, 1956). Çiğneyici ağız yapısına sahip böcekler, özellikle yaprak yiyenler, virüs enfeksiyonlarına karşı daha hassastır. Bu durumda yaprak yiyen Lepidoptera tırtıllarıyla, Hymenoptera'nın yalancı tırtılları viral etmenlerden daha fazla zarar görürler (Weiser, 1969). Bu virüsler genellikle 2-3 yılda bir meydana çıkan epidemilerde çoğalarak birçok larvayı öldürürler ve böylece afetlerini ortadan kaldırır (Lipa, 1975). Virüsler birçok böcek takımıyla ilişkilidir. Bununla birlikte büyük bir kısmı Lepidoptera (%83), Hymenoptera (%10) ve Diptera (%4) takımlarında bulunmaktadır.

Şimdiye kadar sınıflandırılan böcek virüslerinin büyük bir kısmı Baculoviridae, Reoviridae, Poxviridae, Picornaviridae, Densoviridae, Rhabdoviridae, Orthomyxoviridae ve Iridoviridae familyalarına aittir. Bu böcek virüslerinden, Baculoviridae familyası sadece artropodlar için spesifiktir (Demirbağ ve Beldüz, 1997). Çoğu baculovirüsler sadece bir veya yakından ilişkili birkaç böcek türünü enfekte edebilir (Arif ve Kurstak, 1991). İnsanlar ve diğer hedeflenmemiş organizmalar için güvenli bir mikrobiyal etmen olması, bu virüslerin biyolojik mücadelede kullanılma potansiyelini arttırmaktadır (Granados ve Federici, 1986; Gröner, 1986). Hastalanan larva önce uyuşuk bir hal alır ve sonra beslenmeyi bırakır. Ölmeden önce ağacın tepesine tırmanır ve arka bacaklarına asılı olarak ölür. Dokuları koyulaşır, ayrışır ve vücutları sıvı hale geçer (Lipa, 1975).

Entomopatojenik funguslar, değişik habitatlarda yaşayan birçok böcek türünü enfekte edebildikleri için farklı çevresel faktörlere uyum sağlamışlardır. Bu nedenle, entomopatojenik fungusların biyolojileri büyük çeşitlilik göstermektedir. Bazı gruplar zorunlu hücre içi parazitken, bazıları ortamda canlı konağın olmadığı durumlarda saprofit olarak hayatta kalabilen fırsatçı patojenlerdir (Hajek, 1997).

Böceklerde parazit olarak yaşayan ve bazı durumlarda ölümlerine yol açan birçok nematod türü bulunmaktadır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda birçok nematod familyasına ait türlerin, böcekler ve diğer omurgasız hayvanlarla ilişkili olduğu belirlenmiştir (Poinar, 1979, 1990; Kaya ve Stock, 1997). Yapılan çalışmalar, zararlı böceklerin biyolojik mücadelesinde kullanılma potansiyeli taşımaları bakımından 7 familya üzerinde yoğunlaşmıştır. Bunlar Mermithidae, Tetradenematidae, Allantonematidae, Phaenopsitylenchidae, Sphaerulariidae, Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarıdır (Kaya ve Stock, 1997). Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyaları günümüzde, özellikle toprak böceklerinin mikrobiyal mücadelesinde en sık kullanılan gruplardır (Glazer ve Lewis 2000; Liu vd., 2000; Lacey vd., 2001). Bu nematodlar, *B. thuringiensis*'den sonra, Amerika'da yıllık 2-3 milyon dolarlık market satışlarıyla en fazla kullanılan mikrobiyal mücadele etmenleridir (Georgis, 1997).

Protozoonların zararlı böcek populasyonlarında meydana getirdikleri salgınlar, az rastlanılan bir durum olmasına karşın, neden oldukları ferdi ve küçük gruplar halindeki ölümler, zararlı böcek populasyonlarının zarar eşiğinin altında tutulması bakımından önemlidir (Maddox, 1987; Brooks, 1988). Protozoa enfeksiyonları böcek populasyonlarını dengede tutması bakımından büyük bir öneme sahiptirler (Maddox, 1987; Brooks, 1988).

Entomopatojenik protozoonlar genellikle konağa spesifiktir. Böceklerde oluşturdukları hastalıklar yavaş ilerler. Virülansları düşüktür ve çoğu kez böceklerde kronik enfeksiyonlar oluştururlar. Virülanslarının düşük olması nedeniyle protozoonların enfekte ettiği böceklerin ölümü bazen haftalar sürebilir (Hoffman ve Frodsham, 1993). Çoğu entomopatojenik protozoonun hayat döngüsü komplekstir. Sadece canlı konak içersinde gelişebilirler ve çoğu türün gelişimini tamamlayabilmesi için bir ara konağa ihtiyacı vardır.

En yaygın şekilde kullanılan mikrobiyal mücadele etmeni *Bacillus thuringiensis* Berliner bakterisidir. Birçok böcek ordosuna ait türlere karşı aktif olan yeni suşların izole edilmesi ve yapılan genetik düzenlemeler, bu bakterinin kullanım alanlarını genişletmiştir (Lacey vd., 2001). Mikrobiyal insektisitlerin satışları son yıllarda büyük artış göstermiştir. Ancak, bu miktar, toplam ürün koruma satışlarının %1-1,5'lik kısmını teşkil etmektedir. Bunun çok büyük bir kısmını (%95) *Bacillus thuringiensis* kökenli insektisitler oluşturmaktadır (Gaugler, 1997; Georgis, 1997).

Mikrobiyal mücadele etmenlerinin geniş spektrumlu insektisitlere alternatif olarak kullanılma potansiyelleri vardır. Fakat daha yaygın olarak kullanılabilmeleri için;

- Virülanslarının ve öldürme hızlarının artırılması,
- Değişen çevre koşullarına karşı (soğuk havalar, kuraklık şartları gibi) dayanıklılıklarının artırılması,
- Ürettikleri toksinlerin etkinliklerinin artırılması,
- Uygulanan diğer mücadele yöntemleriyle uyumlarının daha iyi araştırılması,
- Diğer çevresel avantajlarının belirlenmesi gerekmektedir.

#### **1.4.8.1.3.1. Bakterilerin Mikrobiyal Mücadelede Kullanımı**

Entomopatojen bakteriler, günümüzde zararlı böceklerle karşı en fazla kullanılan mikroorganizmalardır. Spor oluşturanlar ve spor oluşturmayanlar olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Böceklerle mücadelede, daha çok spor oluşturan bakteriler kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalar, bunların sporlarının kuraklık ve yüksek sıcaklığa karşı dayanıklı olduğunu göstermiştir. Spor oluşturmayan bakteriler ise olağanüstü koşullar karşısında oldukça dayanıksız ve hassastır. Buna göre, böceklerle karşı yapılacak mücadelede, spor oluşturan ve fakültatif bakterilerin kristal taşıyanlarının kullanılması tavsiye edilmektedir (Oğurlu, 2000).

Son yıllarda patojenik potansiyeli hayli yüksek bir bakteri olan *Bacillus thuringiensis* üzerinde durulmaktadır. Bu bakterinin biyolojik mücadelede, diğer birçok bakteriye nazaran daha etkili olduğu bilinmektedir. *B. thuringiensis*'in çok sayıda varyetesi vardır.

Bunlar, başta Lepidoptera olmak üzere Diptera ve Coleoptera türlerine karşı da kullanılmaktadır. Bu bakterinin spor ve kristalleri piyasaya toz, ıslanabilir toz veya sulu karışım halinde sunulmaktadır. *B. thuringiensis*'den hazırlanan karışımların uygulandığı böcekler, bu karışımların ihtiva ettiği toksin sebebiyle ölürlür.

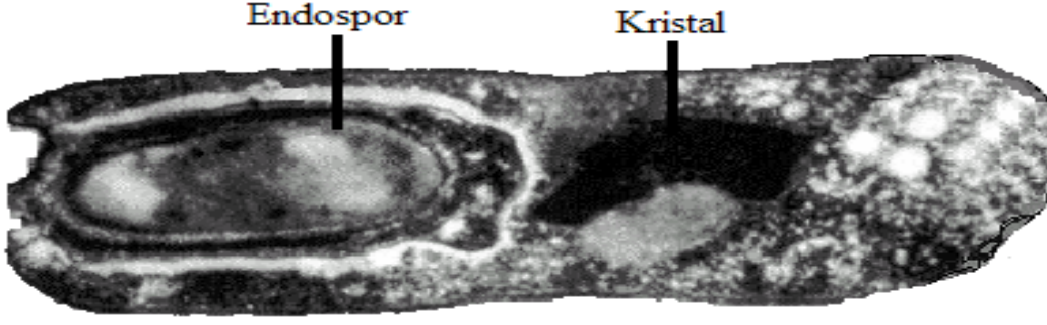
#### 1.4.8.1.3.1.1. *Bacillus thuringiensis*'lerin Genel Özellikleri

*Bacillus thuringiensis*, Bacillaceae familyası içerisinde yer almaktadır. Bacillaceae familyasının üyeleri endospor üreten Gram-olumlu hareketli ya da hareketsiz çubuk şekilli bakterilerdir. Bu familyanın *Bacillus* ve *Clostridium* olmak üzere iki önemli cinsi vardır. Bu cinsler birbirlerinden çoğunlukla oksijen ihtiyaçlarına göre ayrılırlar. *Bacillus* cinsine ait türler aerobik, *Clostridium* cinsine ait türler ise anaerobiktirler. Her iki cins de zincirler oluşturan çubuk şekilli hücrelere sahiptir (Tanada ve Kaya, 1993).

*B. thuringiensis*, *Bacillus* cinsi içinde *B. cereus* grubu içerisinde yer almaktadır. Bu grup altı türden oluşmaktadır. Bunlar, *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. anthracis*, *B. mycoides* (Turnbull vd., 1990), *B. pseudomycoides* (Nakamura, 1998) ve *B. weihenstephanensis* (Lechner vd., 1998) bakterileridir.

*B. thuringiensis* Lepidoptera, Diptera ve Coleoptera takımlarındaki böcekler için insektisidal özelliğe sahip kristal yapıda toksin üreten, spor oluşturan, gram-olumlu ve aerobik bir toprak bakterisidir (Beegle ve Yamamoto, 1992) (Şekil 2). Buna rağmen, hastalıklı ve sağlıklı böceklerden, bitkilerin yaprak yüzeylerinden ve depolanmış ürünlerden de izole edilmiştir (Carozzi vd., 1991; Burges ve Hurst, 1977; Kaelin vd., 1994).

Son zamanlarda yapılan araştırmalara göre *B.s thuringiensis*'in Hymenoptera, Homoptera, Orthoptera ve Mallophaga gibi böcek takımlarında ve ayrıca, nematodlar, keneler ve protozoonlar gibi canlılarda aktivitesi tespit edilmiştir (Feitelson,1993; Feitelson vd.,1992).



Şekil 2. *Bacillus thuringiensis* bakterisinin elektron mikroskopik görünümü (Waheed ve Kogan, 2003).

#### 1.4.8.1.3.1.2. İnsektisidal Kristal Proteinin Hedef Böceklerdeki Mekanizması

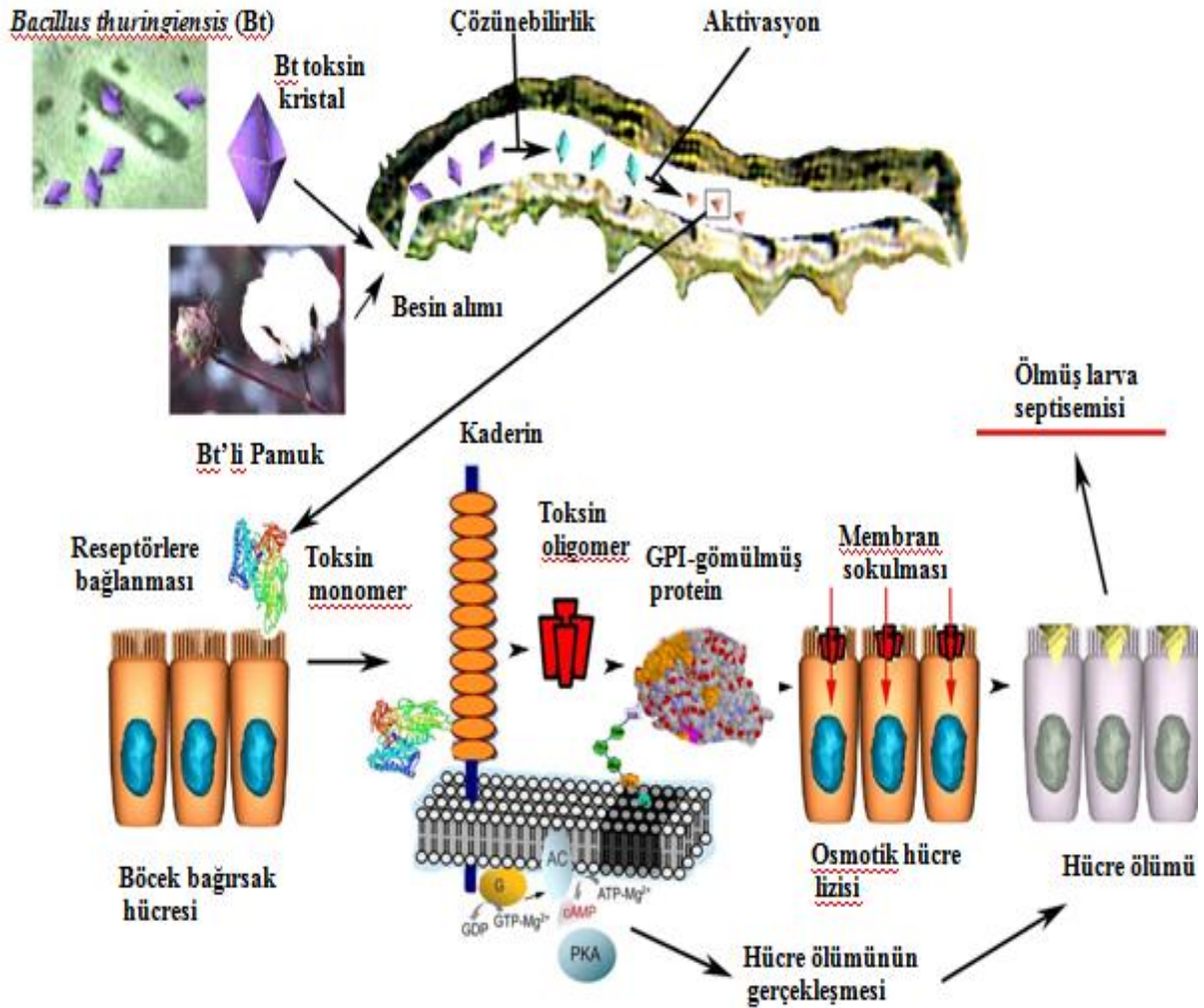
*B. thuringiensis*'in biyolojik aktivitesi Coleoptera, Diptera ve Lepidoptera gruplarındaki hassas böceklerle karşı kristal protein (*cry*) genlerinin oluşturduğu aktif insektisidal kristal proteinler (ICP) sayesinde. Bu proteinin etkili olabilmesi için sindirilmesi gerekmektedir (Visser vd., 1993). Farklı böcek takımları (Hymenoptera, Homoptera, Dictyoptera, Mallophaga), nematod (Strongylida, Tylenchida), kene (Acari), yassı kurt (Digenea) ve protozoonlara (Diplomonadida) karşı da etkili oldukları tespit edilmiştir (Feitelson, 1993; Zukowski, 1995).

ICP'ler, normal koşullar altında çözünmeden bulunur, bu nedenle insanlar ve diğer yüksek organizma grupları için bir risk oluşturmazlar. Buna karşılık pH 9,5'de çözünebilir özellik taşımaları, kristal proteinlerine yoğun bir insektisit özelliği kazandırmaktadır.  $\delta$ -endotoksinler bağırsakta çözünerek protoksine dönüşür. Daha sonra bağırsak enzimleri tarafından protoksinler parçalanarak aktif toksinler elde edilir. Aktif toksinler bağırsak epitel hücrelerinin reseptörlerine tutunarak böceğin bağırsak duvarını felce uğratar ve burayı tahrip ederek gözenekler oluşturur. Böylece, bağırsakta bulunan besin artıkları böcek vücuduna ve kana karışır (Şekil 3). Zehirlenen böcek, toksin aktivitesi sebebiyle hemen ölebileceği gibi 2-3 gün içerisinde kan zehirlenmesi sonucu da ölebilir. *B. thuringiensis*'in larvalar üzerinde sebep olduğu semptomlar, yavaş hareket etme, beslenmeyi bırakma, sıvı halde dışkı çıkarma, kusma ve vücut içeriklerinin kahverengiden siyaha dönüşmesi olarak sayılabilir (Knowles, 1994).

*B. thuringiensis*'in hedef böcek üzerindeki mekanizması Schnepf ve arkadaşları (1998) tarafından özetlenmiş olup, bu mekanizma aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır

- 1) Spor ve ICP'lerini taşıyan, *B. thuringiensis*'in larva tarafından alınması ve *cry* toksinlerinin sindirilmesi,
- 2) ICP'lerin orta barsakta çözünmesi,

- 3) ICP'lerinin proteazlar ile aktifleştirilmesi,
- 4) Aktif ICP'lerinin orta barsak hücre membranlarındaki özgün reseptörlere bağlanması,
- 5) Hücre membranlarının tahribatı ve barsak hücre membranında kanallar ve deliklerin oluşumu ve epitel hücrelerinin parçalanması (Lüthy ve Ebersold, 1981; Smedley ve Ellar, 1996),
- 6) Orta barsaktan açılan kanaldan barsak muhteviyatının hemosöle karışması,
- 7) Larvada fazla miktarda *B. thuringiensis*'in çoğalmasının ve oluşan kan zehirlenmesinin ölümü artırması.



Şekil 3. *Bacillus thuringiensis*'in hedef böceklerdeki etki mekanizması (URL-8, 2011) (Modifiye edilmiş).

ICP'lerin özgün reseptörlere bağlanmasının insektisidal spektrum ile ilgili olduğu tespit edilmiştir (Denolf vd., 1997). Van Rie ve arkadaşları (1989), tütün (*Heliothis virescens*) ve domates kurtlarının (*Manduca sexta*) fırça şeklindeki membran vesiküllerine bağlandıklarını göstermiştir. Fakat, bağlanma yerlerinin sayısı farklıdır ve değişik biyolojik aktiviteler gösterir. Bağlanma yerleri için bütün böceklerde toksin ilgisi aynı değildir.

#### **1.4.8.1.3.1.3. Böcek Populasyonlarının *Bacillus thuringiensis*'e Dirençliliği**

Laboratuvar koşullarında farklı böcek türlerinde *B. thuringiensis*'e karşı dirençlilik tespit edilmiştir (Schnepf vd., 1998). Dirençlilik tespit edilen böcek türleri *Plodia interpunctella*, *Cadra cautella*, *Leptonotarsa decemlineata*, *Chrysomela scripta*, *Trichoplusia*, *Spodoptera littoralis*, *Spodoptera exigua*, *Heliothis virescens*, *Ostrinia nubilalis* ve *Culex quinquefasciatus*'tur (Schnepf vd., 1998). Direnç oluşturan *B. thuringiensis* suşları, *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*, *B. thuringiensis* subsp. *israelensis*, *B. thuringiensis* subsp. *tenebrionis* ve diğer *B. thuringiensis* alt türleridir.

Bir çeşit güve olan *Plutella xylostella*'nın, *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* ve *B. thuringiensis* subsp. *aizawai*'ya karşı direnç geliştirdiği Hawaii, Filipinler, Endonezya, Malezya, Orta Amerika ve bazı Amerika şehirlerinde görülmüştür (Schnepf vd., 1998). *B. thuringiensis*'de dirençlilik ile ilgili yaygın görüş, zararlıyla mücadele *B. thuringiensis* ve *B. thuringiensis* toksin genlerini kullanma ile başarılabilmektedir. *B. thuringiensis*'lerin direnç mekanizması Schnepf ve arkadaşları (1998) tarafından ayrıntılı olarak incelenmiştir.

### **1.5. Pamuk Yaprakkurdu ( *Spodoptera littoralis*, Boisduval, Lep.: Noctuidae )**

Pamuk yaprakkurdu Lepidoptera takımına ait, Noctuidae familyasında yer alan çok önemli bir tarım zararlısıdır. Tarım ürünlerinin özellikle toprak üstü kısımlarıyla beslenirler. Bu nedenle genellikle bitki yaprakları üzerinde zararlı etkilerini gösterirler.

#### **1.5.1. Tanımı ve Yaşayışı**

##### **1.5.1.1. Ergin**

*Spodoptera littoralis*'in erginlerinde, ön kanatlar gri-kahverengi ve kanatları üzerinde karışık şekillerde açık sarı renkli çizgiler bulunan bir kelebeğdir (Şekil 4A). Ön kanatlarda yan kenarlara paralel, fakat uca doğru uzanan ve önden arkaya doğru daralan iki milimetre eninde kurşuni renkli bir şerit bulunur. Bu şeritten çıkan ve kanat ucuna kadar olan kısımda önden arkaya doğru uzanan sarı renkli üç çizgi bulunur. Arka kanatlar beyaz renkte olup, vücuda yakın kısımları hafif gridir. Kanat açıklığı 22-45 mm'dir. Arka kanatların yan kısımlarında koyu renkte ince bir çizgi bulunup, kanat uçları beyaz tüylüdür. Abdomen gri

veya grimsi kahverengidir. Dişi ile erkek kelebekler arasında dış görünüş ile renk bakımından fark yoktur. Sadece dişi kelebekler biraz daha büyüktür (URL-2, 2011).

#### **1.5.1.2. Yumurta**

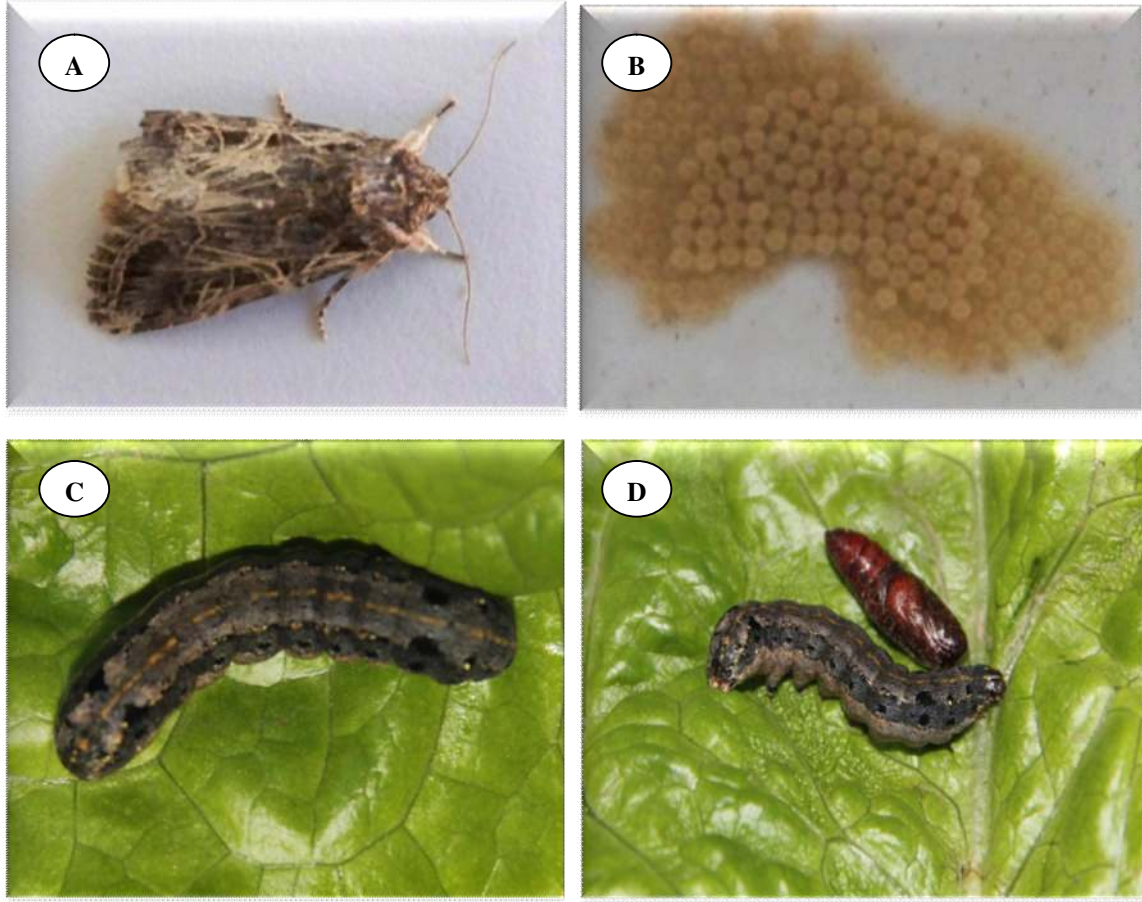
Kelebekler yumurtalarını konukçu bitkinin yapraklarının arka yüzeyine paketler halinde bırakır ve abdomeninden çıkardığı devetüyü rengindeki pullar ile örter. Paketlerde yumurtalar çoğunlukla iki sıralı ve düzenli olarak dizilir (Şekil 4B). Ayrıca, 1-3 katlı paketlere de rastlanabilmektedir. Her yumurta paketinde 80-360 yumurta bulunur. Dişi kelebekler bir kaç defada toplam olarak 1200 kadar yumurta bırakabilir. Tek bir yumurta incelendiğinde, yaklaşık 0.4 mm çapında, yuvarlak ve boyuna dilimli olduğu görülür. İlk bırakıldığında yeşilimsiye renkli iken, açılmaya yakın renkleri değişerek koyu kahverengiye döner (URL-2, 2011).

#### **1.5.1.3. Larva**

Yumurtadan yeni çıkan larvalar 1.0-1.5 mm uzunluğunda, yeşil renkli ve kıllıdır. Baş, vücuda göre büyük, koyu kahve veya siyah renklidir. Larva 6 dönem geçirir. Larvaların dönemleri değiştikçe boyuyla birlikte rengi de değişir. İleri dönemlerinde dördüncü ve onuncu vücut halkalarında dorsalde sağda ve solda olmak üzere iki adet kahverengimsi siyah leke oluşur. Larvalarda baş kısmı vücudun sonuna göre daha dardır (Şekil 4C). Olgun larva 4-5 cm boyunda gri-kahve ya da siyahımsiye renkli olabilir, deri kadife gibidir. Protoraks hariç, her segmentin dorsalinde her iki yanda çizgiyi andırır birer siyah leke vardır. Değişiklik göstermekle birlikte vücudun dorsali boyunca orta kısmında kirli sarı bir çizgi uzanır (URL-2, 2011).

#### **1.5.1.4. Pupa**

Son dönem larvalar toprağa inerek pupaya dönüşür. Pupa toprağın 2-8 cm derinliğinde bulunur ve 16-18 mm boyundadır (Şekil 4D). İlk oluştuğunda sarımsıye olan rengi daha sonra kahverengiye dönüşür (URL-2, 2011).



Şekil 4. *Spodoptera littoralis*'in biyolojisi A) Ergin, B) Yumurta, C) Larva, D) Pupa ve Larva

#### 1.5.2. *Spodoptera littoralis*'in Beslenmesi ve Hayat Döngüsü

*S. littoralis* kelekleri gündüzleri bitkisinin yaprakları arasında, gölgede, loş ve kuytu yerlerde gizlenerek istirahat halinde geçirir. Gece uçuşur ve ışığa gelirler. Erginlerin yumurta bırakmaları 7-8 gün sürmektedir. Bırakılan yumurtalar, yazın 2-4 günde açılır. Larvalar yeni çıktığında bir arada bulunur ve larvaların bu şekilde bir arada bulunmaları 'ocak' olarak adlandırılır. Yumurtadan çıkan larvalar önce yumurta kabuklarını yer, daha sonra yaprağın alt epidermisini yiyerek zar kısımlarına dağılırlar. Zararlının 6 larva dönemi vardır ve larva dönemi yazın 17-23 günde tamamlanır. Günün sıcak saatlerinde, özellikle de büyük dönem larvalar, daha serin olması nedeniyle bitkinin alt kısmına veya toprağa iner. Olgun larva toprağa girerek pupa olur. Yazın pupa dönemi 6-10 gün sürer (Şekil 5).



Şekil 5. *Spodoptera littoralis*'in hayat döngüsü (URL-3 ve 4, 2011).

Pamuk yaprakkurdu bir dölünü 25-30 günde tamamlar. Belirli bir kışlama dönemi yoktur. Kışın her döneminde zararlıya rastlamak mümkündür. Zararlı, pamukta temmuz başlarından itibaren bulunabilir. Ağustos ayından itibaren zararlı olabilecek yoğunluğa ulaşarak dölllerinin 2 veya 3'ünü pamukta geçirir. Yılda 5-6 döl verebilir (Anonim, 2008).

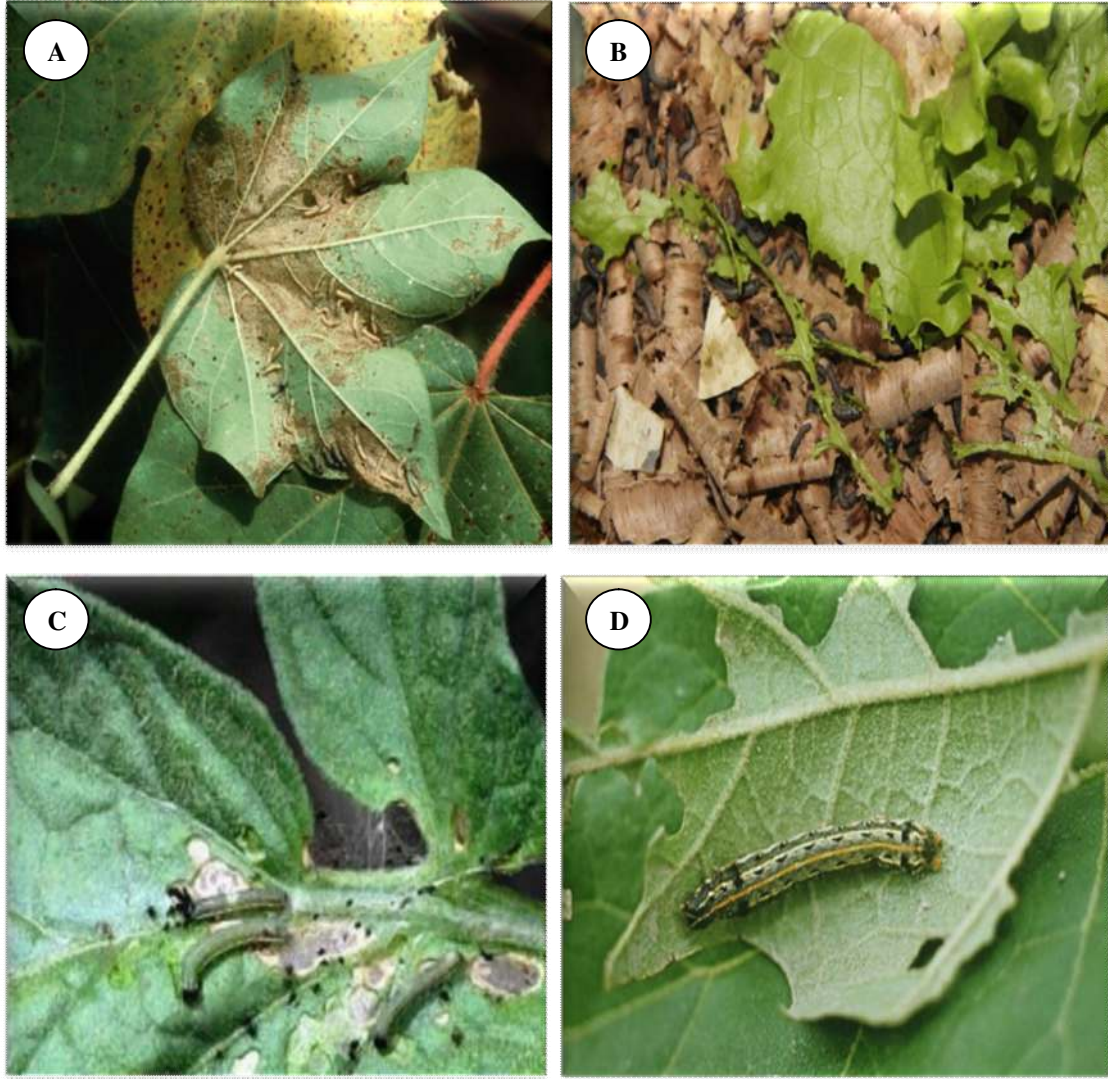
### 1.5.3. Zarar Şekli, Ekonomik Önemi ve Yayılışı

Zararlı, Akdeniz Bölgesi'nde yoğun olup, pamuk yetiştiriciliği yapılan tüm bölgelerde bulunmaktadır. Polifag bir zararlı olan *S. littoralis*'in diğer konukçuları arasında biber, domates, hayvan pancarı, şeker pancarı, ıspanak, yerbıstığı, börülce, maydanoz, ebegümeci, horozibiği, yonca, pirinç ve tıfıl yer almaktadır (Anonim, 2008).

Larvalar yumurtadan çıktıktan hemen sonra zarar yapmaya başlar ve önceleri toplu halde bir arada bulunurlar (Şekil 6). Yumurta kabuğunu yedikten sonra yaprağın alt yüzeyini kemirir ve yaprağın epidermisini yiyerek yaprağı zar gibi yaparlar. Daha sonra yaprak elek gibi bir hal alır. Larvalar birkaç gün sonra yaprağın ve bitkinin diğer kısımlarına dağılır. Bu sırada bitkinin bütün kısımlarına zarar verirler. Büyüdükçe diğer yapraklara geçerek beslenir ve yaprakları delik deşik ederler. Önemli olmamakla birlikte tarak ve çiçekler ile de beslenirler. Larvalar, özellikle üçüncü dönemden itibaren çok oburlaşır. Bu durumda, pamukta kozayı delerek içine girip beslenir. Populasyonun yüksek

olduğu tarlalarda yapraklar tamamen yenildiğinden bitkiler ‘karadal’ denilen bir görünüş alır. Zararlı pamuğun koza oluşturma döneminde mücadele eşiğine ulaştığında ilaçlama yapılmaz ise zarar oranı yüksek olur (Anonim, 2008).

Zararlı Adana, İçel, Antalya ve Hatay ve Muğla (Dalaman, Fethiye) illeri ve bu illere bağlı ilçelerde oldukça yaygındır (URL-2, 2011).



Şekil 6. *Spodoptera littoralis*'in zarar şekilleri A) Pamuktaki, B) Maruldaki, C) Domatesteki, D) Pirinç yaprağındaki zarar görüntüleri (URL-5, 6 ve 7, 2011).

#### 1.5.4. *Spodoptera littoralis* ile Mücadele Yöntemleri

Günümüze kadar, değişik yöntemler kullanılarak *S. littoralis* ile mücadele edilmeye çalışıldı ve bu uygulamalarla zararlı, zarar eşığının altında tutulmaya özen gösterildi.

*S. littoralis* ile kültürel mücadele zararlıının tercih ettiği nemli ve loş ortamı imkanlar ölçüsünde sağlamayarak gerçekleştirir. Bu nedenle, gerekmedikçe tarla sulanması yapılmamalıdır. Sık ekimden kaçınılmalıdır. Kültürel mücadelesinde ortam neminin yüksek olmaması için çaba gösterilmesi önerilmektedir.

*S. littoralis*'e karşı uygulanan kimyasal mücadelede tavsiye edilen ilaçlar şunlardır: Lufenuron 50 g/l EC 30 ml, Cyfluthrin 50 g/l EC 150 ml, Fenprothrin 185 g/l EC 150 ml, Mephospholan 250 g/l EC 300 ml, Thiodicarb % 80 DF , 90 g, Thiodicarb % 37.5 DF 190 g, Methomyl 270 +, Diflubenzuron 40 g/l EC 250 ml, Chlorpyrifos-ethyl 480 g/l EC 180 ml, Hexaflumuron 100 g/l EC 75 ml, Chlorfluazuron 50 g/l EC 75 ml, Beta-cyfluthrin 25 g/l EC 150 ml, Methomyl 360 g/l EC 200 ml. Zararlıyla kimyasal mücadelede halen daha kullanılmakta olan kimyasal insektisit isimleri ise Chlorpyrifos-ethyl EC 480, Chlorantraniliprole WG, Diflubenzuron SC 480, Diflubenzuron SC 480, Hexaflumuron EC, Indoxacarb EC, Indoxacarb SC, Lufenuron EC, Methoxyfenozide SC, Novaluron EC, Pyridalyl EC, Teflubenzuron SC, Thiodicarb DF'dir.

*S. littoralis* ile mekanik mücadelede feromen tuzağı olarak Spot-I Pherocon kit (Pamuk yaprakkurduna) 0.3038+0.0062 mg/kapsül Agromed 10/20.12.2002 (Z-9, E-11 Tetradeadienylacetate+Z-9, E-12 T Tetradeadienylacetate) İthal (imp.) kullanılmaktadır.

Zararlıının doğal düşmanları, *Chrysoperla carnea* (Steph.) (Neuroptera: Chrysopidae) ve *Nabis pseudoferus* Rm. (Hemiptera: Nabidae) olmak üzere iki predatör ve bir parazitoid, *Microplitis rufiventris* Kok. (Hymenoptera: Braconidae) tespit edilmiştir. Günümüzde doğal düşmanları da kullanılarak zararlıyla biyolojik mücadele yapılmaktadır.

Biyolojik mücadelenin bir alt kolu olan mikrobiyal mücadele, zararlı böceklerle mücadelede patojen mikroorganizmaların kullanılmasını kapsar. Mikrobiyal mücadele etmenleri virüsler, funguslar, nematodlar, protozoonlar, bakteriler zararlı böceklerde hastalık oluşturarak böcek popülasyonlarının dengede tutulmasını ve zararlılarının en aza indirilmesini sağlamaktadır. *S. littoralis* ile mikrobiyal mücadele etmenleriyle yapılan çalışmalar aşağıda açıklanmıştır.

Masetti vd., (2008), *Spodoptera littoralis*'in kısa dönemde mücadelesi yönünden yeni bir *S. littoralis*-SINPV içerikli formülasyonu ile *Bacillus thuringiensis* toksini içerikli bir ürünü karşılaştırmıştır. Uygulamadan 4 gün sonra, *B. thuringiensis* toksininin daha

fazla ölüme neden olduğu ancak, SI-NPV uygulamasıyla kontrol ünitesi arasında önemli farkın bulunduğu tespit edilmiştir. SI-NPV uygulamasında LT<sub>50</sub> değerinin 2. Dönem larvalarda 7.32 gün olduğunu belirlemişlerdir.

Farag (2008b), *Spodoptera littoralis*'in 3. evre larvalarına karşı *Metarhizium anisopliae* içerikli Bioranza, *Beauveria bassiana* içerikli Biovar, *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki içerikli Delfin WG ve Neem-Azal T/S'yi test etmiştir. En yüksek ölüm oranına Biovar'ın neden olduğunu, bunu Bioranza'nın takip ettiğini bulmuştur.

Maniania ve Fargues (1992), *Paecilomyces fumosoreseus*'a ait 10 izolat ve *Nomureae rileyi*'ye ait 6 izolatın *Mamestra brassicae* ve *Spodoptera littoralis* larvalarına karşı 20 ve 25°C sıcaklıklardaki etkisini değerlendirmiş ve *S. littoralis* larvalarına karşı tüm izolatların 20°C'de 25°C'den çok daha etkili olduğu saptanmıştır.

El-Husseini vd., (2008), şekerpancarı zararlılarına karşı *Beauveria bassiana* konidisporlarını toz ve sıvı olarak şekerpancarı alanlarına uygulamışlardır. Uygulama tekniğine bağlı olarak farklı zararlıların reaksiyonunda da farklılıklar olduğu saptanmıştır. Bu zararlılar arasında *Spodoptera littoralis* için her iki teknik de olumlu sonuç vermiştir.

Farag (2008a), *Metarhizium anisopliae* (Bioranza) ve *Beauveria bassiana* (Biovar)'nın ticari formülasyonlarını *Spodoptera littoralis* ve *Agrotis ipsilon*'a karşı laboratuvar koşullarında test etmiştir. Bioranza'nın *S. littoralis*'e karşı LC<sub>50</sub> değeri Biovara göre 1.63 kat daha yüksek bulunmuştur. LT<sub>50</sub> değerlerine göre ise Biovarın daha hızlı ölüme neden olduğu tespit edilmiştir.

Campos-Herrera ve Gutierrez (2009), zararlı mücadelesinde kullanımı yönünden 17 entomopatojen nematodu test etmiş ve bunlar arasında *Steinerneva feltiae* Riaja ırkının *Spodoptera littoralis*'de % 91 ölüme neden olduğunu tespit etmiştir. Nemetodun etkinliği üzerine toprak yapısının etkisini belirlemek için yapılan denemeler sonucunda ağır toprakların negatif etkisi olduğunu tespit etmişlerdir.

Osman ve Mahmoud (2009), sekiz biyoinsektisiti (Dipel 2x, Biofly, Agrin, Bioguart, Spinosad, Neemix, Mectin ve Match) önerilen doz, önerilen dozun yarısı ve 1/4'ü oranlarında laboratuvar koşullarında *Spodoptera littoralis* larvalarına karşı test etmişlerdir. Tüm biyoinsektisitlerin 1. dönem larvalara 3. ve 5. döneme göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Çalışmaların sonucunda Match, Mectin ve Spinosadın *S. littoralis* mücadelesi için potansiyel etkili insektisitler olduğu sonucuna varmışlardır.

### 1.6. Çalışmanın Amacı

Yukarıda belirtilen tüm çabalara rağmen, Pamuk yaprakkurdu (*Spodoptera littoralis* Boisd., Lepidoptera: Noctuidae)'nın pamuk ve çeşitli sebzelerdeki zararı ülkemiz ve tüm dünyada hala etkin bir şekilde devam etmektedir. Ayrıca, zararlının kültüre edilebilir bakteriyal flora ve bu flora üyelerinin zararlı üzerindeki patojenite çalışmaları da henüz yapılmamıştır.

Bu zararlının etkinliğini azaltmak veya ortadan kaldırmak elzem bir konu haline gelmiştir. Bu düşünceler ışığında yapılan bu tez çalışmasının amacı, ülkemiz ve dünyada önemli tarım zararlılarından biri olan *Spodoptera littoralis*'in kültüre edilebilir bakteriyal florasını belirlemek ve bunların, zararlıya karşı mikrobiyal mücadelede kullanılma potansiyellerini araştırmaktır. Ayrıca, değişik zararlılardan izole edilmiş ve çeşitli zararlılar üzerinde yüksek öldürücü etkiye sahip oldukları bilinen çeşitli *Bacillus* cinsi bakteriyal izolatların zararlı üzerindeki etkilerini tespit etmek ve bu etkileri karşılaştırarak *S. littoralis*'e karşı yeni bir mikrobiyal mücadele etmeni belirlemek amaçlanmıştır.

## **2. YAPILAN ÇALIŞMALAR**

### **2.1. Böceklerin Toplanması**

Bu çalışmada, bakteri izolasyonu için gerekli olan *Spodoptera littoralis* (Boisd., Lep.: Noctuidae ) (Pamuk yaprakkurdu) larvaları, 3-4 Eylül 2010 tarihlerinde Adana ilinin Ceyhan ve Doğanköy ilçelerinden toplandı. Larvalar, toplandıkları yer ve tarih not edildikten sonra, önceden steril edilmiş özel kaplara konularak laboratuara getirildi. Laboratuarda larvaların makroskopik incelemeleri yapılarak ölü ve hastalıklı olanlar ayrıldı.

### **2.2. Bakteri İzolasyonu ve Karakterizasyonu**

#### **2.2.1. Kültüre Edilebilir Bakteri İzolasyonu**

Laboratuara getirilen *S. littoralis* larvalarından 20 adet, steril petri kapları içerisine konularak %70'lik etil alkol ile 5 dk. yüzey sterilizasyonuna maruz bırakıldı. Sonra içerisinde steril saf su bulunan petrilere alınarak 2-3 kez yıkanıp, alkolden arındırıldı. Daha sonra homojenizatör tüpüne 1 ml nütrient sıvı besiyeri ilave edildi. Steril homojenizatör ile larvaların iyice ezilmesi sağlandı. Elde edilen karışım bir tülbent ile süzülerek, süzüntü başka bir tüpe alındı. Bu karışımdan 10 µl, 50 µl ve 100 µl alınarak üç ayrı nütrient agar besiyerine ekim yapıldı. Kalan karışım 30°C'de 5-6 saat inkübe edildi. Bu inkübasyonun amacı, karışımda çok düşük sayıda olabilecek mikroorganizmaların sayısını artırarak, sonraki ekimde tespit edilmelerini kolaylaştırmaktır. Bu inkübe edilen karışımdan da 10 µl ve 50 µl alınarak yine nütrient agar besiyerlerine ekim yapıldı. Ayrıca, bu inkübe edilen karışım seyreltildi ve her tüpten 10 µl, 25 µl ve 50 µl alınarak ayrı ayrı nütrient agar besiyerine ekim yapıldı.

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

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

### **2.2.2. Saf Kùltürlerin Hazırlanması ve Stoklanması**

İnkübasyonun ardından nùtrient agar besiyeri üzerinde büyüyen bakteriyel koloniler, binoküler mikroskop altında incelendi ve farklı koloni renk ve morfolojilerine sahip olanlar steril edilmiş platin özeyle dikkatlice seçilerek çizgi ekimleri yapıldı ve saf kùltürler elde edildi. Elde edilen kùltürler, numaralandırılarak, sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere %20'lik steril gliserol içersinde – 80 °C'de stoklandı.

### **2.2.3. İzolatların Boyanma Özellikleri**

#### **2.2.3.1. Gram Boyama**

Gram boyama, bakterilerin hücre duvarının içeriğı hakkında bilgi veren bir boyama yöntemidir. Gram negatif olarak boyanan bakterilerin hücre duvarındaki peptidoglikan tabaka, gram pozitif olarak boyanan bakterilere göre çok daha incedir. Gram boyama için herbir izolat nùtrient sıvı besiyerine ekildi ve 30°C'ye ayarlı su banyosunda 16-24 saat inkübasyona bırakıldı. Büyüyen kùltürlerden bakteriyal smear hazırlandı ve alevden geçirilerek tespit edildi. Hazırlanan smear, 1 dk kristal viole ile muamele edilerek dH<sub>2</sub>O ile yıkandı. Kuruması beklenmeden 1 dk lugol ile muamele edildi. Aseton-alkolle renk giderilinceye kadar yıkandıktan sonra renk kaybını durdurmak için hemen dH<sub>2</sub>O ile yıkandı. Safranin ile 30-60 saniye muamele edildi ve smear tekrar dH<sub>2</sub>O ile yıkandı. Açık havada kurutulduktan sonra mikroskop altında incelemeye alındı. Mor renkle boyanan bakterilerin gram pozitif, pembe renk ile boyanan bakterilerin ise gram negatif olduğuna karar verildi (Cappuccino ve Sherman, 1992).

#### **2.2.3.2. Endospor Boyama**

İzolatların endospor oluşturup oluşturmadığını ve varsa endosporun hücre içersindeki pozisyonunu belirlemek amacıyla, yalnız gram olumlu izolatlar nutrient sıvı besiyerine ekildi ve 48-72 saat 30°C'ye ayarlı su banyosunda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından bakteriyal smear hazırlandı ve alevden geçirilerek tespit edildi. Hazırlanan smearlar küçük bir filtre kağıdıyla kapatılarak, malaşit yeşiliyle 5 dk su buharı üzerinde boyandı. Daha sonra dH<sub>2</sub>O ile yıkandı ve 30-60 saniye safranin ile muamele edildi. Tekrar dH<sub>2</sub>O ile yıkanarak açık havada kurutuldu. Mikroskop altında incelenerek kırmızı renkli hücreler içersinde yeşile boyanmış sporların varlığı araştırıldı (Cappuccino ve Sherman, 1992).

## **2.2.4. İzolatların Fizyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi**

### **2.2.4.1. İzolatların Optimum Büyüme Sıcaklıklarının Belirlenmesi**

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

İzolatların optimum büyüme sıcaklıklarının belirlenmesi amacıyla nütrient sıvı besiyeri içinde yapılan 16-24 saatlik kültürlerden,  $OD_{600} = 0,1$  olacak şekilde yeniden nütrient sıvı besiyerine ekim yapıldı. Hazırlanan kültürler 10, 15, 30, 37, 45 ve 50 °C'lerde büyütüldü. Yapılan bu kültürlerden saat başı örnekler alınarak spektrofotometrede  $OD_{600}$ 'de absorbans değerleri ölçülerek bakterilerin optimum olarak büyüdüğü sıcaklıklar ortaya çıkarıldı (Cappuccino ve Sherman, 1992).

### **2.2.4.2. İzolatların pH Aralıklarının Belirlenmesi**

Büyüyebildikleri pH aralığının belirlenmesi için izolatlar değişik pH değerlerine (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) sahip nütrient sıvı besiyerlerine inoküle edildi ve 30°C'ye ayarlı etüvde üç gün inkübe edildi. İnkübasyon neticesinde üreme olup olmadığına spektrofotometrede ( $OD_{600}$ 'de) ölçümler yapılarak karar verildi.

### **2.2.4.3. İzolatların NaCl Toleranslarının Belirlenmesi**

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

## **2.2.5. İzolatların Biyokimyasal Özelliklerin Belirlenmesi**

### **2.2.5.1. Nişasta Hidroliz Testleri**

İzolatların nişastayı hidroliz edip etmediklerinin belirlenmesi için “nişasta agar besiyerleri” hazırlandı (Ek-1). Bu besiyerini içeren petrilere herbir izolattan çizgi ekim yapıldı ve 3 ve 7 gün boyunca 30°C'ye ayarlı etüvde inkübe edildi. İnkübasyondan sonra

petrilerin üzerine lugol ilave edildi ve koyu kahverengi rengin oluşumu nişastanın hidroliz olduğunu, mavi rengin oluşumu ise nişastanın hidroliz olmadığını gösterdi (Benson, 1985).

#### **2.2.5.2. Katalaz Testleri**

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

#### **2.2.5.3. Oksidaz Testleri**

İzolatların oksidaz enzimi üretilip, üretilmediğinin belirlenmesi amacıyla triptik soy agar besiyerleri hazırlandı. Herbir izolatın bu besiyeriye içeren petrilere çizgi ekim yapıldı ve  $30^{\circ}C$ 'de 24-48 saat inkübe edildikten sonra petrilere oksidaz testi ayırıcı ilave edildi. Oluşan siyah renge göre testin pozitif olduğuna karar verildi (Benson, 1985).

#### **2.2.6. API 20E Panel Test Sistemi**

Bu test uygulanırken nütrient agar üzerinde büyütülmüş gece kültürleri bir özeyle alınarak %0.85 NaCl içerisinde iyice karışması sağlanır. Burada aktarılabilecek olan kültür miktarı Mc Farland standardı kullanılarak belirlenir (Bak Ek 2.).

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

Daha sonra bu API panelleri 18-24 saat inkübasyona tabii tutuldu. Elde edilen sonuçlar Tablo 1'de tanımlandığı gibi renklerine bakılarak sonucun pozitif mi yoksa negatif mi olduğuna karar verildi.

Tablo 1. API 20 E panel sisteminin içerdği testler

| Testler               | Substrat       | Belirlenen Reaksiyon     | Negatif Sonuçlar        | Pozitif Sonuçlar        |
|-----------------------|----------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <b>ONPG</b>           | ONPG           | Beta-galaktosidaz        | Renksiz                 | Sarı                    |
| <b>ADH</b>            | Arginin        | Arginin dihidrolaz       | Sarı                    | Kırmızı / Turuncu       |
| <b>LDC</b>            | Lisin          | Lisin dekarboksilaz      | Sarı                    | Kırmızı / Turuncu       |
| <b>ODC</b>            | Ornitin        | Ornitin dekarboksilaz    | Sarı                    | Kırmızı / Turuncu       |
| <b>CIT</b>            | Sitrat         | Sitrat kullanımı         | Açık yeşil / Sarı       | Mavi-Yeşil / Mavi       |
| <b>H<sub>2</sub>S</b> | Na thiosulfate | H <sub>2</sub> S üretimi | Renksiz / Gri           | Siyah tortu             |
| <b>URE</b>            | Üre            | Üre hidrolizi            | Sarı                    | Kırmızı / Turuncu       |
| <b>TDA</b>            | Triptoofan     | Deaminaz                 | Sarı                    | Kahverengi / Kırmızı    |
| <b>IND</b>            | Triptofan      | İndol üretimi            | Sarı                    | Kırmızı (2 dk.)         |
| <b>VP</b>             | Na piruvat     | Aseton üretimi           | Renksiz                 | Pembe / Kırmızı (10 dk) |
| <b>GEL</b>            | Kömür jelatin  | Jelatinaz                | Siyah tabaka dağılmamış | Siyah tabaka dağılmış   |
| <b>GLU</b>            | Glukoz         | Ferm. / oks.             | Mavi / Mavi-Yeşil       | Sarı                    |
| <b>MAN</b>            | Mannitol       | Ferm. / oks.             | Mavi / Mavi             | Sarı                    |
| <b>INO</b>            | İnositol       | Ferm. / oks.             | Mavi / Mavi             | Sarı                    |
| <b>SOR</b>            | Sorbitol       | Ferm. / oks.             | Mavi / Mavi             | Sarı                    |
| <b>RHA</b>            | Ramnoz         | Ferm. / oks.             | Mavi / Mavi             | Sarı                    |
| <b>SAC</b>            | Sucrose        | Ferm. / oks.             | Mavi / Mavi             | Sarı                    |
| <b>MEL</b>            | Melibiose      | Ferm. / oks.             | Mavi / Mavi             | Sarı                    |
| <b>AMY</b>            | Amigdalın      | Ferm. / oks.             | Mavi / Mavi             | Sarı                    |
| <b>ARA</b>            | Arabinoz       | Ferm. / oks.             | Mavi / Mavi             | Sarı                    |

### 2.2.7. API 50 CH Panel Test Sistemi

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

Tablo 2. API 50 CH panel sisteminin içerdiği testler

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

## 2.2.8. İzolatların Moleküler Karakterizasyonları

### 2.2.8.1. Genomik DNA İzolasyonu

Genomik DNA'nın izolasyonu, Sambrook vd., (1989) göre gerçekleştirildi.

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

### 2.2.8.2. 16S rRNA Geninin PCR ile Çoğaltılması

16S rRNA genleri, herbir izolattan saflaştırılan genomik DNA'dan UNI16S-L (5'-ATTCTAGAGTTTGATCATGGCTCA-3') ileri ve UNI16S-R (5'-ATGGTACCGTGTGACGGGCGGTGTGTA-3') geri primerleri kullanılarak PCR yardımıyla çoğaltıldı. PCR reaksiyonlarının koşulları Beffa (1996)'ya göre oluşturuldu. PCR tüpüne 12 ng kalıp DNA, 5 µl 10 x PCR tamponu (100 mM Tris-HCl, pH 8,3; 500 mM steril KCl), 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,5 mM U Taq DNA polimeraz, 0,25 mM ileri primeri, 0,25 mM geri primeri, 170 mM dATP, 170 mM dCTP, 170 mM dGTP ve 170 mM dTTP karışımı ilave edildi ve steril saf su ile 50 µl'ye tamamlandı. Çoğaltma işlemi 200 µl'lik tüplerde, "Biometra Personal Cycler" cihazında gerçekleştirildi. Reaksiyon sıcaklıkları ve süreleri ise ilk denatürasyon basamağı 95°C de 2 dk olarak gerçekleştirildikten sonra, 94°C'de 1 dk (denatürasyon için), 56°C'de 1 dk (hibridizasyon için) ve 72°C'de 2 dk (polimerizasyon için) şeklinde 36 döngü olarak gerçekleştirildi. Elde edilen PCR ürünlerinin 5 µl'si

%1,1'lik agaroz jelde yürütüldü ve etidyum bromür boyası (0,5 µg/ml) ile boyandıktan sonra "BioDocAnalyze" sistemiyle görüntülendi.

### 2.2.8.3. 16S rRNA Geninin Baz Dizisinin Belirlenmesi ve Gen Bankasındaki Sıralarla Karşılaştırılması

Yukarıda açıklanan primerler kullanılarak genomik DNA'dan çoğaltılan 16S rRNA genleri PCR ile çoğaltıldı ve doğruluğu teyit edilen genlerin baz dizin analizi MacroGen firması (Kore) tarafından gerçekleştirildi. Elde edilen yaklaşık 1350 bp uzunluğundaki 16S rRNA dizileri Gen Bankasında var olan dizilerle karşılaştırılarak aralarındaki benzerlik oranları ortaya çıkarıldı.

Tablo 3. Çeşitli böceklerden izole edilen ve konaklarında yüksek öldürücü etkiye sahip *Bacillus* cinsi bakteriler

| Kodu  | Bakteri                             | İzole Edilen Konak             | Alınan Kaynak           |
|-------|-------------------------------------|--------------------------------|-------------------------|
| Lyd 6 | <i>Bacillus thuringiensis</i>       | <i>Lymantria dispar</i>        | Demir vd., (İncelemede) |
| Lyd 7 | <i>Bacillus thuringiensis</i>       | <i>Lymantria dispar</i>        | Demir vd., (İncelemede) |
| Ar 1  | <i>Bacillus circulans</i>           | <i>Anoplus roboris</i>         | Demir vd., 2002         |
| Lyd 8 | <i>Bacillus thuringiensis</i>       | <i>Lymantria dispar</i>        | Demir vd., (İncelemede) |
| Ar 4  | <i>Bacillus sphaericus</i>          | <i>Anoplus roboris</i>         | Demir vd., 2002         |
| Mnd   | <i>Bacillus thuringiensis</i>       | <i>Malacosoma neustria</i>     | Katı vd., 2005          |
| Xd 3  | <i>Bacillus thuringiensis</i>       | <i>Xyleborus dispar</i>        | Sezen vd., 2008         |
| As 3  | <i>Bacillus cereus</i>              | <i>Amphimallon solstitiale</i> | Sezen vd., 2005         |
| Mm 7  | <i>Bacillus weihentstephanensis</i> | <i>Melolontha melolontha</i>   | Sezen vd., 2007         |
| Mm 5  | <i>Bacillus sphaericus</i>          | <i>Melolontha melolontha</i>   | Sezen vd., 2007         |
| BnBt  | <i>Bacillus thuringiensis</i>       | <i>Balanus nukum</i>           | Sezen vd., 1999         |
| Mm 2  | <i>Bacillus thuringiensis</i>       | <i>Melolontha melolontha</i>   | Sezen vd., 2007         |

### 2.3. İnsektisidal Aktivite Testleri

*Spodoptera littoralis* üzerindeki insektisidal aktivite testleri için i) *Spodoptera littoralis*'ten izole edilerek karakterizasyonu gerçekleştirilen 10 bakteriyal izolat ve ii) değişik zararlılardan izole edilmiş ve farklı zararlılar üzerinde yüksek oranda öldürücü etkiye sahip 12 *Bacillus* cinsi izolat kullanıldı (Tablo 3). Bu izolatlar, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan sağlandı.

#### 2.3.1. *S. littoralis*'in Laboratuvar Kültürü

*Spodoptera littoralis* larvalarının kültürü Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü öğretim üyesi sayın Doç.Dr. M. Kubilay ER tarafından 27.07.2010 tarihinde laboratuvarımıza gönderilmiş olup *S. littoralis* kültürünün laboratuvara uyumunun sağlanması ve devam ettirilmesi aşağıda anlatılan şekilde tarafımızdan gerçekleştirildi.

*S. littoralis* 25±2 °C sıcaklık, % 65±5 nispi neme sahip karanlık ortamda iklim dolabında kültüre edildi. Zararlı erginleri % 20'lik bal solüsyonu ile beslendi. Erginlerin beslenmesi ve yumurtlaması için A4 kâğıdı daire haline getirilerek bantlanmış ve iki tarafı 11cmx7cmx4cm ebatındaki iki plastik saklama kabı ile kapatılmış düzenekler kullanıldı. Alt kısımda bulunan kabın tabanına peçete ve peçetenin üstüne içerisinde bal solüsyonu ile doyurulmuş pamuk bulunan küçük plastik petriye yerleştirildi. Kelebeklerin üzerine yapışma riskini düşürmek için bal solüsyonunun petri kabı içerisinde fazla olmamasına dikkat edildi. Bu şekilde hazırlanmış her bir düzenek içerisine 25 ergini geçmemek kaydıyla kelebekler konuldu, besinleri günlük olarak kontrol edildi. Düzenegin kağıt kısmı gün aşırı olarak değiştirildi ve kağıt üzerine bırakılmış yumurtalar kesilerek 90 mm çapındaki plastik petri kaplarına aktarıldı.

Günlük kontroller ile henüz yeni çıkmış olan 1. dönem larvalar doğal besinlerin bulunduğu ortamlara aktarıldı. Bu amaçla ilk dönem larvalar için petri kapları ve daha sonra plastik kutular kullanıldı. Bu kapların kapaklarında 1 adet 100 mm çapında tül ile kaplanmış açıklıklar havalandırma için oluşturuldu.

Kapların içine besin sulanmasını engellemek amacıyla talaş koyulup üzerine doğal besin olan marul küçük parçalar şeklinde yerleştirildi. Yumurtadan çıkış tarihi ile etiketlendikten sonra böceklerin günlük bakımı ve takibi yapıldı. Larva dönemleri ilerlediğinde bir kutuya en fazla 25-30 larva gelecek şekilde düzenleme yapıldı. Larvalarda

kanibalizm görülmesi nedeniyle kutular içerisinde sürekli ve yeterli besin olmasına özen gösterildi. İleri dönemlerde kutular sürekli kontrol edilerek ve prepupalar içerisinde steril toprak bulunan ayrı bir kutuya aktararak kanibalizmden korundular. Burada pupa olup ve daha sonra pupadan çıkan kelebekler dikkatli bir şekilde erginler için hazırlanmış düzeneklere aktarıldı.

### 2.3.2. Örneklerin Hazırlanışı

#### 2.3.2.1. Bakteriyal İzolatların Hazırlanışı

*S. littoralis*'ten izole edilen ve karakterizasyonları yapılan kültüre edilebilir izolatlardan spor oluşturmayanlar 24-48 saat, 30°C'ye ayarlı sallayıcıda 5 ml nütrient sıvı besiyeri içerisinde inkübe edildi. İnkübasyon neticesinde bakteri yoğunluğu, spektrofotometrede ölçülerek OD<sub>600</sub>'de 1,89 ( $1,8 \times 10^9$  bakteri/ml) olacak şekilde ayarlandı. Sonra 3000×g'de 10 dk santrifüj edilen hücrelerin oluşturduğu pellet, 5 ml steril PBS'de çözüldü (Ben-Dov vd., 1995).



Şekil 7. İnsektisidal aktivite deney düzeneği.

### 2.3.2.2. Spor- Kristal Süspansiyonların Hazırlanması

*B. thuringiensis* izolatları ‘nutrient agar’ besiyerlerinde beş gün büyütüldü. Besiyerlerinden toplanan spor-kristal karışımları soğuk 1 M NaCl’ de süspanse edildi. Daha sonra bu karışım 1300 x g’de 4°C’de 5 dk santrifüj edildi. Elde edilen pelte steril ddH<sub>2</sub>O ile iki kez yıkandı ve steril ddH<sub>2</sub>O’da çözüldü. Kullanılincaya kadar -20 °C’de muhafaza edildi. Test edilecek numuneler  $1.8 \times 10^9$  spor-kristal/ml olacak şekilde hazırlandı.

### 2.3.3. Biyotestler

#### 2.3.3.1. *Spodoptera littoralis*’ten Elde Edilen İzolatların İnsektisidal Aktivitesi

*S. littoralis*’den izole edilen 10 bakteriyal izolatın konağı üzerindeki virulansını belirlemek için insektisidal aktivite testleri yapıldı. İzolatlar 2.3.2.1’de anlatıldığı gibi hazırlanıp laboratuvar kültürü halindeki zararlı larvaları üzerindeki patojenitesi tespit edildi.

OD<sub>600</sub>’de 1,89 ( $1,8 \times 10^9$  bakteri/ml)’a ayarlanan izolatlar, larvalara verilecek olan uygun büyüklükteki marul yapraklarına emdirildi. Hazırlanan marul örnekleri üzerlerine 3. evre 4-6 saat aç bırakılmış 10’ar adet larva bırakıldı ve 25°C, %50-60 nem oranında 10 gün inkübe edildi (Şekil 7). Ölüler günlük kontrol edildi, uzaklaştırıldı ve kaydedildi. Denemeler üçer tekrarlı yapıldı ve ölüm oranları Abbott formülüne göre hesaplandı (Abbott, 1925).

#### 2.3.3.2. Farklı Böceklerden Elde Edilen Yüksek İnsektisidal Etkiye Sahip *Bacillus* İzolatlarının *S. littoralis* Üzerindeki Etkileri

Çeşitli zararlılardan izole edilen ve konaklarında yüksek öldürücü etkiye sahip 12 *Bacillus* türünün *S. littoralis* larvaları üzerindeki etkileri belirlendi. Bunun için 2.3.2.1.’deki gibi hazırlanan izolatlar OD<sub>600</sub>’de 1,89 yoğunluğunda plastik kutular içerisindeki uygun büyüklükteki marula bulaştırıldı. Her kutuya 10’arlı olmak üzere 3’er kutuya 3. evre 4-6 saat aç bırakılmış larvalar yerleştirildi.

#### 2.3.3.3. Farklı Doz Denemeleri

2.3.3.2 numaralı test sonucunda *Balanninus nucum*’dan izole edilen BnBt (*Bacillus thuringiensis* subs. *kurstaki*) ve *Malacosoma neustria*’dan izole edilmiş olan Mnd (*Bacillus thuringiensis* subs. *kurstaki*) izolatlarının *Bacillus* cinsi türler arasında *Spodoptera littoralis* üzerinde en yüksek öldürücü etkiye sahip oldukları belirlendi. Bunun için bu iki izolatın zararlı üzerinde doz denemeleri yapılmaya karar verildi. Mnd ve BnBt nolu izolatlar 2.3.2.1’de belirtildiği gibi hazırlandı.

Hazırlanan karışımın konsantrasyonları  $1,8 \times 10^9/2$ ,  $1,8 \times 10^9$  ve  $1,8 \times 10^9 \times 2$  bakteri olacak şekilde ayarlandı. Her dozdan plastik kutulardaki uygun büyüklükteki marullara bulaştırıldı. Her kutuya 4-6 saat aç bırakılmış 3. evre larvalar yerleştirilip, 25°C, %50-60 nem bulunan ortamda 10 gün inkübe edildi.

#### **2.3.3.4. Mnd İzolatının Farklı Evreler Üzerine Etkisi**

Bu deneyde, 2.3.3.3 numaralı basamakta gerçekleştirilen denemede kullanılan 2 izolattan *S. littoralis* üzerinde en yüksek öldürücü etkiye sahip olduğu belirlenen ve ileride zararlı üzerinde kullanılabilecek bakteri seçildi. Böylece, Mnd ile çalışmalara devam edildi.

Bu izolatın *S. littoralis* farklı evreleri üzerindeki öldürücü etkisi belirlendi. Bunun için izolat 2.3.2.1'deki gibi hazırlandı ve yoğunluğu OD<sub>600</sub>'de 1,89'a ayarlandı. Karışımdan plastik kaplar içerisinde bulunan uygun büyüklükteki marullara bulaştırıldı. Bu kutuların her birine ayrı ayrı 3'er tekrarlı olmak üzere 4-6 saat aç bırakılmış 1., 2., 3. ve 4. evre larvalar yerleştirildi ve 25°C, %50-60 nemli ortamda 10 gün inkübe edildi.

#### **2.3.3.5. Mnd İzolatının Farklı Sıcaklıklardaki Etkisi**

Bu deney, farklı sıcaklıkların Mnd nolu *Bacillus* izolatının zararlı üzerindeki öldürücü etkisine herhangi bir etkisinin olup olmadığını belirlemek amacıyla gerçekleştirildi. Bunun için izolat 2.3.2.1'deki gibi hazırlandı ve yoğunluğu OD<sub>600</sub>'de 1,89'a ayarlandı. Karışımdan plastik kaplar içerisinde bulunan uygun büyüklükteki marullara bulaştırıldı. Bu kutuların her birine ayrı ayrı 3'er tekrarlı olmak üzere 4-6 saat aç bırakılmış 10'ar adet 3. evre larva yerleştirildi. İki ayrı setten biri 20°C diğeri ise 30 °C'de %50-60 nem oranında 10 gün inkübe edildi

#### **2.3.3.6. Mnd İzolatının Virülansı Üzerine Farklı Besin Maddelerinin Etkisi**

*S. littoralis* polifag bir zararlı olduğu için bu çalışmada Mnd izolatının, farklı besinlerle beslenmekte olan larvalar üzerindeki virülanslarının belirlenmesi amaçlandı. İlk olarak izolat 2.3.2.1'de belirtildiği gibi hazırlandı. Yoğunluğu OD<sub>600</sub>'de 1,89'a ayarlandı. Karışımdan plastik kutular içerisindeki uygun ve eşit büyüklükteki mısır, fasulye, lahana, pazı, maydonoz ve marul yapraklarına bulaştırıldı. Bu kutuların her birine ayrı ayrı 3'er tekrarlı olmak üzere 4-6 saat aç bırakılmış 10'ar adet 3. evre larva yerleştirildi ve 25°C'de %50-60 nem oranında 10 gün inkübe edildi.

### 2.3.3.7. Mnd İzolatının Spor ve Kristal Karışımlarının *S. littoralis* Üzerindeki Etkisi

Mnd nolu *Bacillus thuringiensis* subs. *kurstaki* izolatının spor ve kristal karışımı 2.3.2.2'ye göre hazırlandı ve yoğunluğu OD<sub>600</sub>'de 1,89'a ayarlandı. Karışımdan plastik kaplar içerisinde bulunan uygun büyüklükteki marullara bulaştırıldı. Bu kutuların her birine ayrı ayrı 3'er tekrarlı olmak üzere 4-6 saat aç bırakılmış 10'ar adet 3. evre larva yerleştirildi ve 25°C'de %50-60 nem oranında 10 gün inkübe edildi.

### 2.3.3.8. Mnd İzolatının Saksı Denemeleri

Bu çalışma, 15 cm çapındaki saksılarda büyümekte olan marullar üzerinde gerçekleştirildi. Deney sonucunda büyümekte olan, marulla beslenen *S. littoralis* larvaları üzerinde Mnd (*Bacillus thuringiensis* subs. *kurstaki*) bakterisinin etkisi belirlendi.

İlk olarak Mnd (*Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki*) izolatı 2.3.2.1'e göre hazırlandı ve yoğunluğu OD<sub>600</sub>'de 1,89'a ayarlandı. İki farklı uygulama için 3 tekerrürlü 2 saksı seti kuruldu (Şekil 8-A). Bu saksı gruplarını oluşturmak için 15 cm çapında 6 adet saksı alındı. Her bir saksıya marul fideleri dikildi ve 8-10 gün bekletilerek deney için hazır hale getirildi. Birinci gruptaki 3 marula hazırlanan *B. thuringiensis* var. *kurstaki* süspansiyonundan OD<sub>600</sub>'de 1,89 konsantrasyonunda sprey aracılığıyla püskürtme yapıldı. Kuruduktan sonra üzerlerine 3. evre 4-6 saat aç bırakılmış 10'ar adet larvalar yerleştirildi ve 25°C'de %50-60 nem oranında 10 gün inkübe edildi. Daha sonra larvaların saksıdan çıkışını önlemek amacıyla saksıya 30 cm çapında, 40 cm uzunluğunda deney için yaptırılan demir kafesler geçirildi (Şekil 8A). Bu demirlerin etrafı tül ile çevrilip bantlandı (Şekil 8B). Kontrol olan 2. gruba ise sadece su püskürtüldü ve kuruduktan sonra marulların üzerine yine 10'ar adet 3. evre 4-6 saat aç bırakılmış larvalar yerleştirildi. Bu deneyin sonucunda, 10 gün içinde laboratuvar koşullarında 25°C'de ve 50-60 nem oranında *B. thuringiensis* var. *kurstaki* bulaştırılmış ve bulaştırılmamış marul yapraklarına *S. littoralis*'in verdiği zarar karşılaştırıldı.



Şekil 8. *B. thuringiensis* var. *kustaki*'nin *S. littoralis* larvaları üzerindeki etkinliğinin belirlendiği saksı deney düzeneği. A) Deney için hazırlanmış marul ve kafes sistemi, B) Saksı tülle kaplanmış görüntüsü

### 3. BULGULAR

Pamuk yaprakkurdu *Spodoptera littoralis* ile bakteriyal mücadelede yeni bir etmen belirlemeye yönelik olarak yapılan çalışmada, zararlının kültüre edilebilir bakteriyal florası belirlendi. Bakteriyal florayı oluşturan 10 izolat ve daha önce farklı zararlılardan izole edilmiş *Bacillus* cinsine ait 12 türün zararlı üzerindeki insektisidal etkileri araştırıldı. Yapılan çalışmalardan aşağıdaki sonuçlara ulaşıldı.

#### 3.1. *Spodoptera littoralis* Larvalarından Bakteri İzolasyonu

İzolasyon çalışmaları sonucunda *S. littoralis* larvalarından koloni şekli, rengi ve büyüklüğü gibi farklı morfolojik özelliklerinden yararlanarak 10 tane kültüre edilebilir bakteriyal izolatlar elde edildi ve bunlar SLTRB 1, SLTRB 2, SLTRB 3, SLTRB 4, SLTRB 5, SLTRB 6, SLTRB 7, SLTRB 8, SLTRB 9 ve SLTRB 10 olarak kodlandırıldı.

#### 3.2. İzolatların Karakteristik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Tür Tayinlerinin Yapılması

##### 3.2.1. İzolatların Morfolojik Özellikleri

İlk ayrımları koloni morfolojisine göre yapılan izolatların binoküler mikroskop incelemeleri sonucunda; SLTRB 1 numaralı izolatın sarı renkli düzgün-yuvarlak olduğu, SLTRB 2 numaralı izolatın krem renkli düzgün-yuvarlak, SLTRB 3 numaralı izolatın koyu krem renkli düzgün-yuvarlak, SLTRB 4 numaralı izolatın krem renkli düzgün-yuvarlak, SLTRB 5 numaralı izolatın sarı renkli dalgalı-yuvarlak, SLTRB 6 numaralı izolatın krem renkli düzgün-yuvarlak, SLTRB 7 numaralı izolatın kırmızı renkli düzgün-yuvarlak, SLTRB 8 numaralı izolatın yeşil renkli dalgalı-yuvarlak, SLTRB 9 numaralı izolatın koyu krem renkli düzgün-yuvarlak ve SLTRB 10 numaralı izolatın sarı renkli düzgün-yuvarlak koloni morfolojilerine sahip olduğu belirlendi (Tablo 4).

Yapılan basit boyama sonucunda SLTRB 1, SLTRB 2, SLTRB 3, SLTRB 4, SLTRB 5, SLTRB 6, SLTRB 7, SLTRB 8 numaralı izolatların basil, SLTRB 9 numaralı izolatın kokkobasil ve SLTRB 10 numaralı izolatın kokkus şeklinde olduğu tespit edildi (Tablo 4).

Gram boyama sonucunda SLTRB 5 ve SLTRB 10 numaralı izolatların gram (+) olduğu ve hiçbir izolatın ise spor ihtiva etmediği belirlendi.

Tablo 4. İzolatların morfolojik özellikleri

| İzolatlar | Morfolojik Özellikler |              |             |         |             |             |        |                 |
|-----------|-----------------------|--------------|-------------|---------|-------------|-------------|--------|-----------------|
|           | Koloni rengi          | Koloni şekli | Gram boyama | Hareket | Spor boyama | Hücre Şekli | Kaynak | NB'deki Görünüm |
| SLTRB 1   | Sarı                  | Düz.-Yuv.    | -           | -       | -           | Basil       | CL     | B               |
| SLTRB 2   | Krem                  | Düz.-Yuv.    | -           | +       | -           | Basil       | CL     | B               |
| SLTRB 3   | Koyu                  | Düz.-Yuv.    | -           | +       | -           | Basil       | CL     | B               |
| SLTRB 4   | Krem                  | Düz.-Yuv.    | -           | +       | -           | Basil       | CL     | B               |
| SLTRB 5   | Sarı                  | Dal.-Yuv.    | +           | -       | -           | Kokus       | CL     | B               |
| SLTRB 6   | Krem                  | Düz.-Yuv.    | -           | Z+      | -           | Basil       | CL     | B               |
| SLTRB 7   | Kırmızı               | Düz.-Yuv.    | -           | +       | -           | Basil       | CL     | B               |
| SLTRB 8   | Yeşil                 | Dal.-Yuv.    | -           | Z+      | -           | Basil       | CL     | B               |
| SLTRB 9   | Koyu krem             | Düz.-Yuv.    | -           | -       | -           | Kokkobasil  | CL     | B               |
| SLTRB 10  | Sarı                  | Düz.-Yuv.    | +           | -       | -           | Kokus       | ÖL     | B               |

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

### 3.2.2. İzolatların Fizyolojik Özellikleri

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

İzolatların pH toleranslarının belirlenmesi amacıyla yapılan testler sonucunda pH 3’te sadece SLTRB 4 ve SLTRB 9 numaralı izolatların, pH 4’te ise SLTRB 2, SLTRB 4, SLTRB 6 ve SLTRB 9 numaralı izolatların büyüdüğü tespit edildi (Tablo 5). pH 10’da ise izolatların hepsinin büyüdüğü belirlendi.

İzolatların NaCl’ye olan toleranslarının belirlenmesi amacıyla yapılan testler sonucunda tüm izolatların %3 oranında NaCl içeren besiyerlerinde büyüdüğü görüldü. %15 NaCl’li besiyerinde sadece 10 nolu izolatın büyüdüğü, diğerlerinin ise büyümediği tespit edildi (Tablo 5).

İzolatların sıcaklığa olan toleranslarının belirlenmesi amacıyla yapılan testler sonucunda hiçbir izolatın 10°C’de büyümediği 15-37°C arasında tüm izolatların büyüdüğü belirlendi. SLTRB 1, SLTRB 6 ve SLTRB 8 numaralı izolatların 45°C’de büyümediği belirlendi. Ayrıca, hiçbir izolatın 50°C’de büyümediği tespit edildi.

Tablo 5. İzolatların fizyolojik özellikleri

| İzolatlar | pH Testi |   |   |   |   |   |   |    | NaCl Testi (%) |   |   |    |    |    | Sıcaklık Testi (°C) |    |    |    |    |    |
|-----------|----------|---|---|---|---|---|---|----|----------------|---|---|----|----|----|---------------------|----|----|----|----|----|
|           | 3        | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 3              | 5 | 7 | 10 | 12 | 15 | 10                  | 15 | 30 | 37 | 45 | 50 |
| SLTRB 1   | -        | - | + | + | + | + | + | +  | +              | - | - | -  | -  | -  | -                   | +  | +  | +  | -  | -  |
| SLTRB 2   | -        | + | + | + | + | + | + | +  | +              | + | + | -  | -  | -  | -                   | +  | +  | +  | +  | -  |
| SLTRB 3   | -        | - | + | + | + | + | + | +  | +              | + | + | -  | -  | -  | -                   | +  | +  | +  | +  | -  |
| SLTRB 4   | +        | + | + | + | + | + | + | +  | +              | + | + | -  | -  | -  | -                   | +  | +  | +  | +  | -  |
| SLTRB 5   | -        | - | + | + | + | + | + | +  | +              | + | + | -  | -  | -  | -                   | +  | +  | +  | -  | -  |
| SLTRB 6   | -        | + | + | + | + | + | + | +  | +              | + | + | -  | -  | -  | -                   | +  | +  | +  | +  | -  |
| SLTRB 7   | -        | - | + | + | + | + | + | +  | +              | + | + | -  | -  | -  | -                   | +  | +  | +  | -  | -  |
| SLTRB 8   | -        | - | + | + | + | + | + | +  | +              | + | - | -  | -  | -  | -                   | +  | +  | +  | +  | -  |
| SLTRB 9   | +        | + | + | + | + | + | + | +  | +              | - | - | -  | -  | -  | -                   | +  | +  | +  | +  | -  |
| SLTRB 10  | -        | - | + | + | + | + | + | +  | +              | + | + | +  | +  | +  | -                   | +  | +  | +  | +  | -  |

### 3.2.3. Bakteriyal İzolatların Biyokimyasal ve Metabolik Özellikleri

Bazı enzimlerin varlığı veya yokluğu, bazı enzimlerin üretilip üretilmediği ve izolatların bazı organik maddeleri fermente edip, edemediklerini belirlemek bakteri sistematigi açısından büyük önem taşımaktadır. İzolatların bu enzimleri üretilip üretilmediklerinin belirlenmesi amacıyla bir dizi test yapıldı. Bu testler ve sonuçları Tablo 6'da verilmektedir.

Katalaz testi sonucunda SLTRB 1, SLTRB 2, SLTRB 4, SLTRB 7, SLTRB 8, SLTRB 9, SLTRB 10 numaralı izolatların katalaz enzimi üretilirken, diğerlerinin katalaz enzimini üretilmediği tespit edildi. Oksidaz testi sonucunda SLTRB 2, SLTRB 3, SLTRB 4, SLTRB 5, SLTRB 6, SLTRB 7 ve SLTRB 9 numaralı izolatların oksidaz aktivitesi göstermedikleri, diğer izolatların ise oksidaz aktivitesine sahip oldukları belirlendi.

Nişasta hidroliz testi sonucunda SLTRB 4, SLTRB 5 ve SLTRB 7 numaralı izolatlar nişastayı hidroliz ederken, diğer izolatların nişastayı hidroliz edemedikleri belirlendi.

Tablo 6. İzolatların klasik yöntemlerle belirlenen biyokimyasal özellikleri

| İzolatlar | Biyokimyasal Özellikler |               |               |
|-----------|-------------------------|---------------|---------------|
|           | Katalaz Testi           | Oksidaz Testi | Nişasta Testi |
| SLTRB 1   | +                       | +             | -             |
| SLTRB 2   | +                       | -             | -             |
| SLTRB 3   | -                       | -             | -             |
| SLTRB 4   | +                       | -             | +             |
| SLTRB 5   | -                       | -             | +             |
| SLTRB 6   | -                       | -             | -             |
| SLTRB 7   | +                       | -             | +             |
| SLTRB 8   | +                       | +             | -             |
| SLTRB 9   | +                       | -             | -             |
| SLTRB 10  | +                       | +             | -             |

### 3.2.3.1. API 20 E Panel Test Sistemiyle Tespit Edilen Özellikler

API 20 E test panellerine yapılan ekimler 1 gece 30°C’de inkübe edildikten sonra bazı test kuyucukları direk, bazıları ise ayıraç ilave edilerek incelendi ve izolatların bazı metabolik ve biyokimyasal özellikleri belirlendi. Büyümesi yavaş olan izolatlar McFarland standardına göre yoğunluğu 2 olacak şekilde, 2 gece inkübe edilerek sonuçlar kaydedildi (Tablo 7).

### 3.2.3.2. API 50 CH Panel Test Sistemiyle Tespit Edilen Özellikler

API 50 CH test panellerine yapılan ekimler 1 gece 30 °C’de inkübe edildikten sonra bazı test kuyucukları direk, bazıları ise ayıraç ilave edilerek incelendi ve izolatların bazı metabolik ve biyokimyasal özellikleri belirlendi. Büyümesi yavaş olan izolatlar McFarland standardına göre yoğunluğu 0,5 olacak şekilde, 2 gece inkübe edilerek sonuçlar kaydedildi (Tablo 11).

Tablo 7. İzolatların API 20 E panel test sistemi ile belirlenen özellikleri

| Testler          | Substrat       | Aktivite                  | SLTRB<br>1 | SLTRB<br>2 | SLTRB<br>3 | SLTRB<br>4 | SLTRB<br>5 | SLTRB<br>7 | SLTRB<br>8 | SLTRB<br>9 |
|------------------|----------------|---------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| ONPG             | ONPG           | Beta-galaktosidaz         | +          | +          | +          | +          | +          | +          | -          | -          |
| ADH              | Arginin        | Arginin dihidrolaz        | -          | -          | +          | -          | -          | -          | +          | +          |
| LDC              | Lisin          | Lisin dekarboksilaz       | -          | +          | -          | +          | +          | +          | -          | -          |
| ODC              | Ornitin        | Ornitin dekarboksilaz     | -          | -          | +          | +          | -          | +          | -          | -          |
| CIT              | Sitrat         | Sitrat kullanımı          | -          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| H <sub>2</sub> S | Na thiosulfate | H <sub>2</sub> S üretimi  | -          | -          | -          | +          | -          | +          | -          | -          |
| URE              | Üre            | Üre hidrolizi             | -          | +          | +          | -          | -          | -          | -          | -          |
| TDA              | Triptofan      | Deaminaz                  | -          | -          | -          | -          | -          | +          | -          | -          |
| IND              | Triptofan      | İndol üretimi             | +          | -          | -          | -          | -          | +          | -          | -          |
| VP               | Na piruvat     | Aseton üretimi            | -          | +          | +          | +          | +          | +          | -          | -          |
| GEL              | Kömür jelatin  | Jelatinaz                 | +          | -          | -          | -          | -          | +          | +          | -          |
| GLU              | Glukoz         | Fermantasyon / oksidasyon | -          | +          | +          | +          | -          | +          | -          | Z +        |
| MAN              | Mannitol       | Fermantasyon / oksidasyon | -          | +          | +          | +          | +          | Z +        | -          | -          |
| INO              | İnositol       | Fermantasyon / oksidasyon | -          | +          | -          | +          | +          | Z +        | -          | -          |
| SOR              | Sorbitol       | Fermantasyon / oksidasyon | -          | +          | -          | +          | +          | Z +        | -          | -          |
| RHA              | Ramnoz         | Fermantasyon / oksidasyon | -          | +          | +          | +          | +          | -          | -          | -          |
| SAC              | Sücrose        | Fermantasyon / oksidasyon | -          | +          | +          | +          | +          | Z +        | -          | -          |
| MEL              | Melibiose      | Fermantasyon / oksidasyon | -          | +          | -          | +          | +          | Z +        | +          | +          |
| AMY              | Amigdalın      | Fermantasyon / oksidasyon | -          | +          | +          | +          | +          | Z +        | -          | -          |
| ARA              | Arabinoz       | Fermantasyon / oksidasyon | -          | +          | +          | +          | +          | Z +        | +          | +          |

Z+:zayıf pozitif

Tablo 8. İzolatların API50CH Panel Test Sistemi ile belirlenen özellikleri

| Testler | Açık Adı                   | SLTRB 6 |   | SLTRB 10 |   |
|---------|----------------------------|---------|---|----------|---|
| GLY     | glycerol                   | -       | - | +        | + |
| ERY     | erythriol                  | -       | - | -        | - |
| DARA    | D-arabinose                | -       | - | -        | - |
| LARA    | L-arabinose                | -       | - | +        | + |
| RIB     | D-ribose                   | -       | - | +        | + |
| DXYL    | D-xylose                   | -       | - | -        | - |
| LXYL    | L-xylose                   | -       | - | -        | - |
| ADO     | D-adonitol                 | -       | - | -        | - |
| MDX     | methyl-βD-xylopyranoside   | -       | - | -        | - |
| GAL     | D-galactose                | -       | - | +        | + |
| GLU     | D-glucose                  | -       | + | +        | + |
| FRU     | D-fructose                 | -       | + | +        | + |
| MNE     | D-mannose                  | -       | + | +        | + |
| SBE     | L-sorbose                  | -       | - | -        | - |
| RHA     | L-rhamnose                 | -       | - | -        | - |
| DUL     | dulcitol                   | -       | - | -        | - |
| INO     | inositol                   | -       | - | +        | + |
| MAN     | D-mannitol                 | -       | - | +        | + |
| SOR     | D-sorbitol                 | -       | - | +        | + |
| MDM     | methyl-αD-mannopyranoside  | -       | - | -        | - |
| MDG     | methyl-αD-glucopyranoside  | -       | - | -        | - |
| NAG     | N-asetylglucosamine        | -       | - | +        | + |
| AMY     | amygdalin                  | -       | - | +        | + |
| ARB     | arbutin                    | -       | - | +        | + |
| ESC     | esculin-ferric sitrate     | +       | + | +        | + |
| SAL     | salisin                    | -       | + | +        | + |
| CEL     | D-celiobiose               | -       | + | +        | + |
| MAL     | D-maltose                  | -       | + | +        | + |
| LAC     | D-lactose(bovineorgine)    | -       | - | +        | + |
| MEL     | D-melibiose                | -       | - | +        | + |
| SAC     | D-saccharose(sucrose)      | -       | + | +        | + |
| TRE     | D-trehalose                | -       | + | +        | + |
| INU     | inulin                     | -       | - | -        | - |
| MLZ     | D-melezitoz                | -       | + | -        | - |
| RAF     | D-raffinose                | -       | - | -        | - |
| AMD     | amidon(starch)             | -       | - | -        | - |
| GLYG    | glycogen                   | -       | + | -        | - |
| XLT     | xylitol                    | -       | - | -        | - |
| GEN     | gentiobiose                | -       | + | -        | - |
| TUR     | D-turanose                 | -       | + | -        | - |
| LYX     | D-lyxose                   | -       | - | -        | - |
| TAG     | D-tagatose                 | -       | + | -        | - |
| DFUG    | D-fucose                   | -       | - | -        | - |
| LFUC    | L-fucose                   | -       | - | -        | + |
| DARL    | D-arabitol                 | -       | - | -        | + |
| LARL    | L-arabitol                 | -       | - | -        | - |
| GNT     | potassium gluconate        | +       | + | +        | - |
| 2KG     | potassium 2- ketogluconate | -       | - | -        | - |

### 3.2.4. İzolatların Moleküler Karakterizasyonu

#### 3.2.4.1. İzolatların 16S rRNA Gen Sıraları

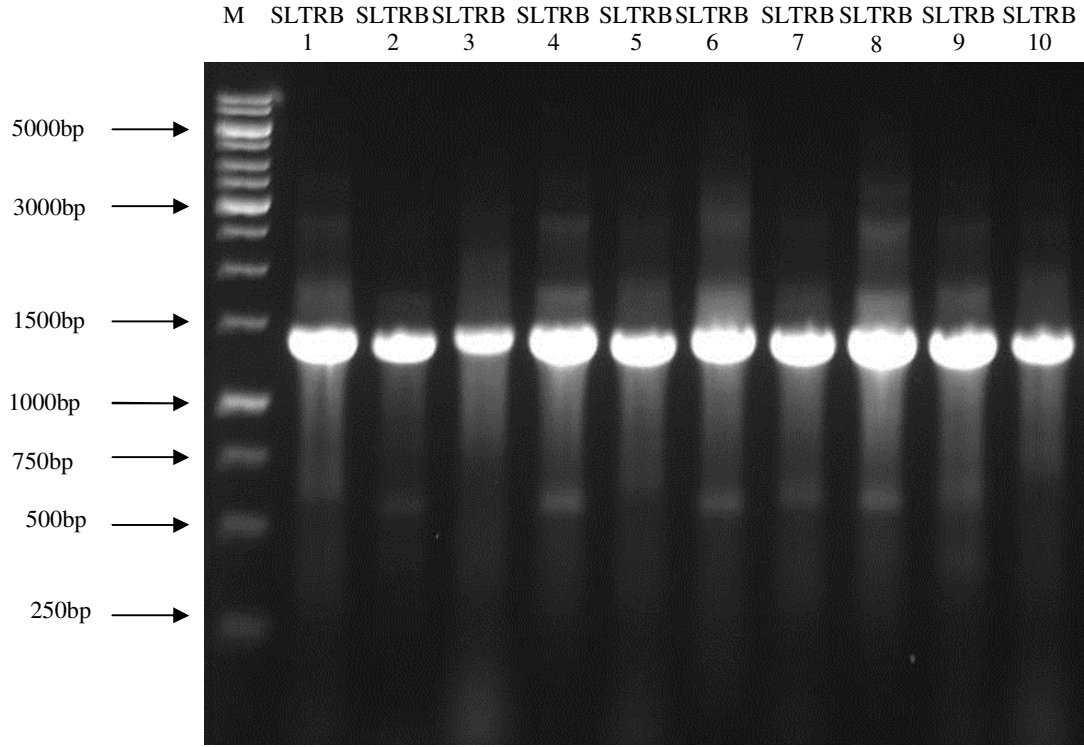
Bakteri sistematigi çalışmalarında 16S rRNA genlerinin baz dizilerinin ortaya çıkarılması önemli genetiksel özelliklerin başında gelir. Bu amaçla ilk olarak morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testler sonucunda birbirleriyle aynı tür olabilecek olan isolatlar dışındaki tüm bakteri isolatlarından elde edilen genomik DNA'dan PCR yardımıyla 16S rRNA geni çoğaltıldı. Şekil 9'da görüldüğü gibi tüm isolatlara ait 16S rRNA geninin PCR sonucunda yaklaşık 1400 bp büyüklüğünde olduğu agaroz jel elektrofozunda tespit edildi. Baz dizisini belirleyen bir şirket (Macrogen, Kore) aracılığıyla baz dizileri otomatik dizi analizörleriyle belirlendi (Ek 3).

#### 3.2.4.2. İzolatların 16S rRNA Dizilerine Göre Benzerlik Oranları

İzolatların 16S rRNA gen dizileri, gen bankasında var olan diğer bakteriyel 16S rRNA gen dizileriyle karşılaştırılarak, bu gen dizilerine en fazla benzer olan diğer bakteriyel 16S rRNA genleri arasındaki benzerlik oranları belirlendi (Tablo 9). Morfolojik, boyama, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerine bakıldığında birbirlerine çok benzeyen ama koloni büyüklükleri veya başka sebeplerden dolayı farklı bir alttür olabileceği tahmin edilen isolatlardan bazıları da yine 16S rRNA gen dizini karşılaştırmasına tabi tutuldu.

*S. littoralis*'ten izole edilen 10 bakteriyel isolatın morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler özelliklerinin araştırılmasıyla sağlanan sonuçlar değerlendirildi.

Bu sonuçlar 'Bergey's Manual of Determinative Bacteriology' kitabı ve gen bankasındaki sıralarıyla karşılaştırıldı ve sağlanan benzerlik ve farklılık sonucunda *S. littoralis*'in kültüre edilebilir bakteriyel florası *Flavobacterium* sp. (SLTRB 1), *Klebsiella variicola* (SLTRB 2), *Enterobacter hormaechei* (SLTRB 3), *Enterobacter* sp. (SLTRB 4), *Arthrobacter* sp. (SLTRB 5), *Klebsiella pneumoniae* (STRB 6), *Serratia marcescens* (SLTRB 7), *Pseudomonas aeruginosa* (SLTRB 8), *Acinetobacter* sp. (SLTRB 9) ve *Staphylococcus* sp. (SLTRB 10) olarak belirlendi.



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

Tablo 9. İzolatların 16S rRNA sekanslarının gen bankalarındaki sıralarla karşılaştırılmaları

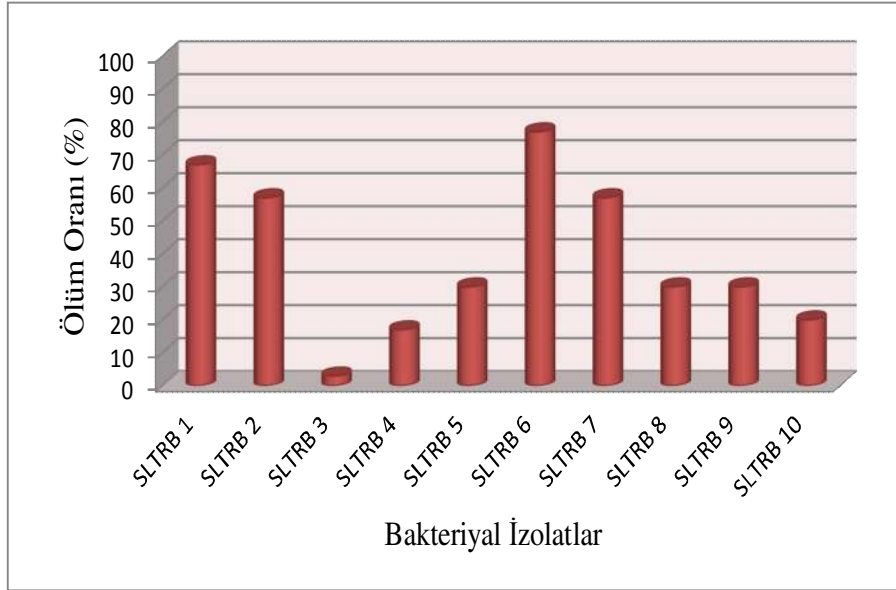
| İzolat   | Gen Bankasının 16 S rRNA Dizin Analizine Göre Önerdiği Tür ve Cinsler | Benzerlik Oranı (%) | Kullanılan Baz Sayısı |
|----------|-----------------------------------------------------------------------|---------------------|-----------------------|
| SLTRB 1  | <i>Flavobacterium</i> sp.                                             | % 99                | 1338                  |
| SLTRB 2  | <i>Klebsiella variicola</i>                                           | % 99                | 1348                  |
| SLTRB 3  | <i>Enterobacter hormaechei</i>                                        | % 99                | 1353                  |
| SLTRB 4  | <i>Enterobacter</i> sp.                                               | % 99                | 1349                  |
| SLTRB 5  | <i>Arthrobacter</i> sp.                                               | % 98                | 1630                  |
| SLTRB 6  | <i>Klebsiella pneumoniae</i>                                          | % 99                | 1354                  |
| SLTRB 7  | <i>Serratia marcescens</i>                                            | % 99                | 1349                  |
| SLTRB 8  | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                                         | % 99                | 1345                  |
| SLTRB 9  | <i>Acinetobacter</i> sp.                                              | % 100               | 1320                  |
| SLTRB 10 | <i>Staphylococcus</i> sp.                                             | % 99                | 1348                  |

### 3.3. İnsektisidal Aktivite Çalışmalar

İnsektisidal aktivite çalışmaları laboratuvar kültürü haline dönüştürülmüş *Spodoptera littoralis* larvaları üzerinde ve laboratuvar koşullarında gerçekleştirildi.

#### 3.3.1. *Spodoptera littoralis*'ten Elde Edilen İzolatların İnsektisidal Etkileri

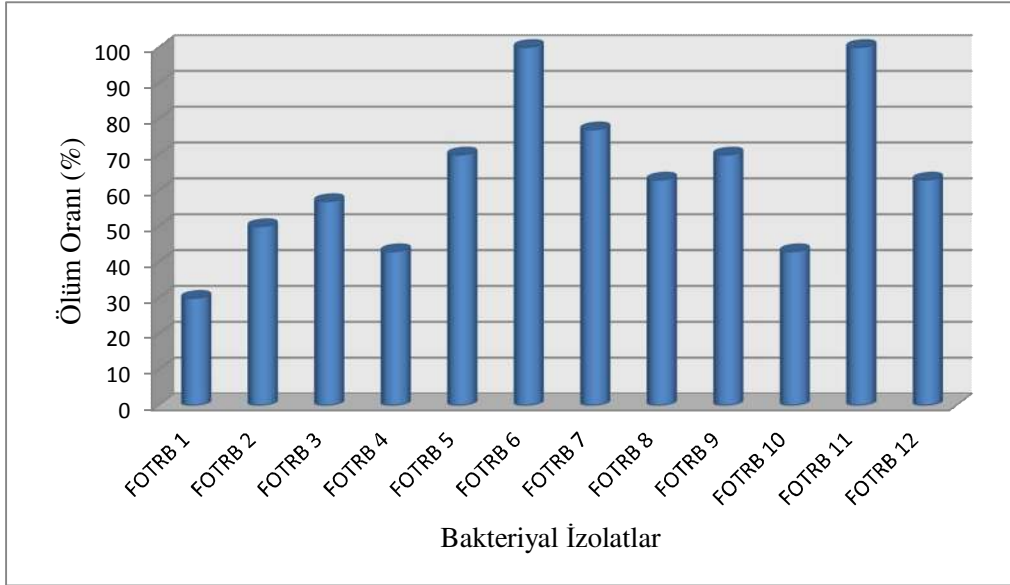
İlk olarak kültürler hazırlandı ve aynı boyutlarda marul yapraklarına bulaştırıldı. Bu marulları ihtiva eden plastik kutuların her birine 10'ar adet 3. evre larvalar bırakıldı. Her bir izolatın insektisidal etkisi 10 gün boyunca araştırıldı ve 10. gün sonunda sonuçlar kaydedildi. Şekil 10'de görüldüğü gibi *Klebsiella pneumoniae* (STRB 6) izolatı %77 ile en yüksek öldürücü etki gösterdi. Bunu %67 ile *Flavobacterium* sp. (SLTRB 1) ve %57 ile *Klebsiella variicola* (SLTRB 2) ve *Serratia marcescens* (SLTRB 7) izolatları takip etti. *Arthrobacter* sp. (SLTRB 5), *Pseudomonas aeruginosa* (SLTRB 8) ve *Acinetobacter* sp. (SLTRB 9) izolatları ise %30'luk bir insektisidal etki gösterdi. Geri kalan izolatlardan *Staphylococcus* sp. (SLTRB 10) %20, *Enterobacter* sp. (SLTRB 4) %17 ve *Enterobacter hormaechei* (SLTRB 3) %3'lük ölüm oranları ortaya koydu.



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

### 3.3.2. Farklı Zararlılarından İzole Edilen *Bacillus* Türlerinin İnsektisidal Etkileri

Farklı zararlılardan izole edilmiş *Bacillus* türlerinin *S. littoralis* larvaları üzerinde farklı ölüm oranlarına sahip oldukları tespit edildi. Şekil 11’de görüldüğü gibi larvalar üzerinde *Malacosoma neustria* ve *Balaninus nucum*’dan izole edilmiş *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* izolatlarının (Mnd ve BnBt) zararlı üzerinde her ikisinin de %100 ölüm etkisine sahip oldukları belirlendi. Geri kalan izolatlardan Xd 3’ün %77, Ar 4 ve Mm 7’nin %70, As 3 ve Mm 2’nin %63, Ar 1 izolatı %57, Lyd 7 %50, Lyd 8 ve Mm 5 izolatları %43 ve Lyd 6 % 30 öldürücü etkiye sahip olduğu tespit edildi.

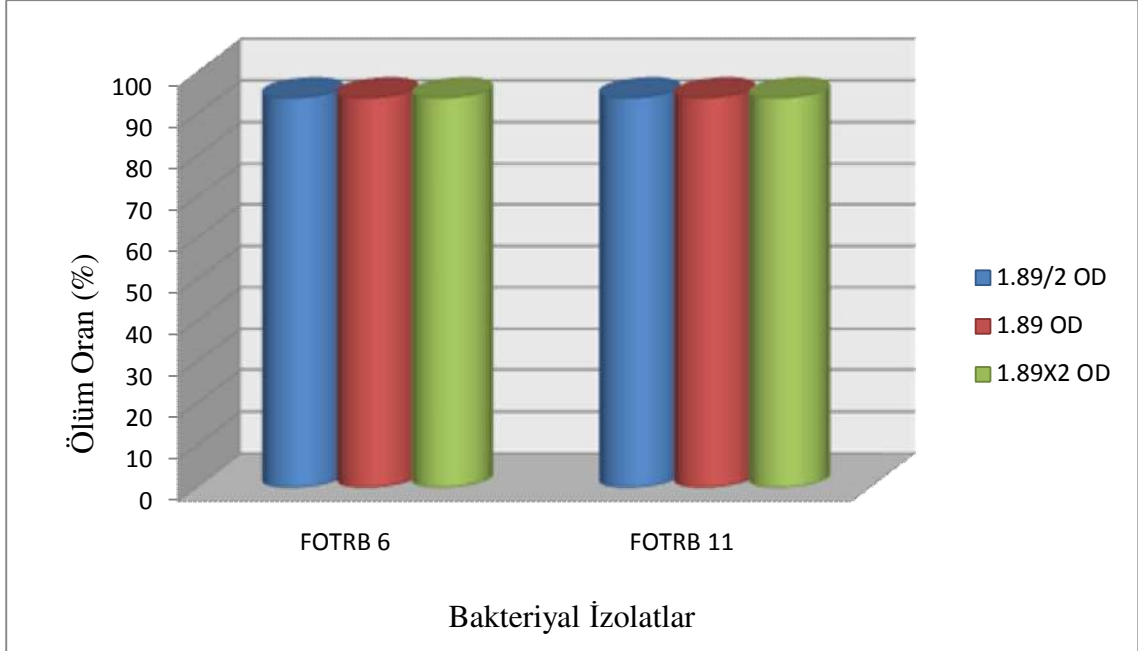


Şekil 11. Farklı zararlılardan izole edilen *Bacillus* türlerinin *S. littoralis* larvaları üzerindeki insektisidal etkileri X eksen: Yerel izolat numaraları, Y eksen: ölüm oranı (%). Testler üçer tekrarlı olup, sonuçlar Abbot formülüne göre hesaplanmıştır.

### 3.3.2.1. Farklı doz denemeleri

İnsektisidal aktivite çalışmaları sonucunda *Bacillus* türlerinin *S. littoralis* larvaları üzerinde *S. littoralis*'ten elde edilen izolatlara göre daha yüksek ölüm etkisi gösterdiği belirlendi. Bu izolatlardan (daha önceki çalışmalardan *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* olduğu bilinen) Mnd ve BnBt kodlu izolatların *S. littoralis* larvaları üzerinde doz denemeleri yapıldı.

Deneme sonucunda her iki izolatın da  $1,8 \times 10^9/2$ ,  $1,8 \times 10^9$ ,  $1,8 \times 10^9 \times 2$  konsantrasyonların zararlı üzerinde %94'lük ölüm etkisine sahip olduğu belirlendi. 10 günlük deney süresinde  $1,8 \times 10^9 \times 2$  konsantrasyonunda Mnd (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*) izolatının *S. littoralis* larvalarını 4. günde tamamen öldürdüğü tespit edildi.



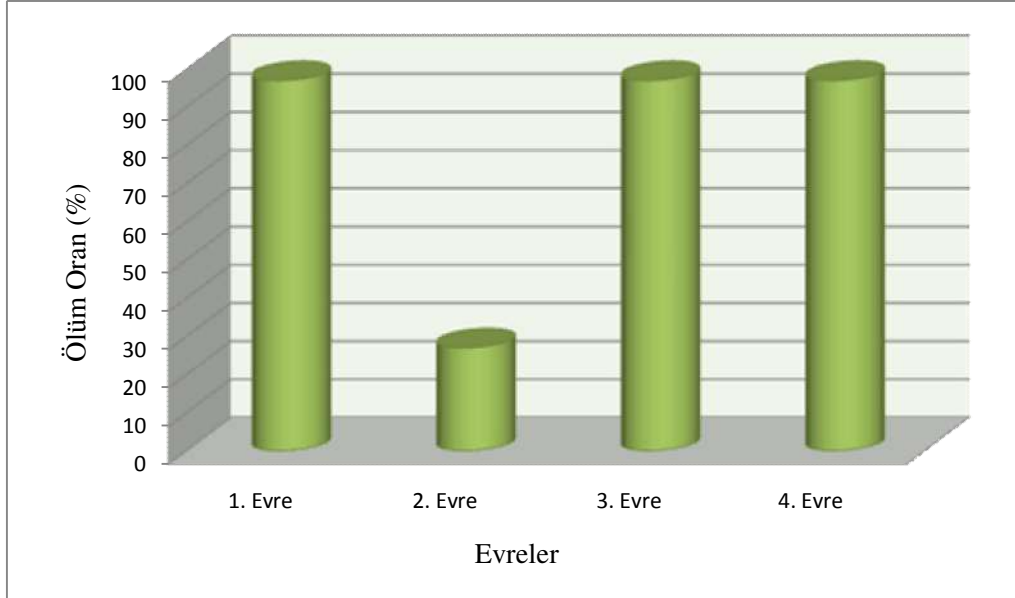
Şekil 12. Farklı böceklerden izole edilmiş Mnd ve BnBt kodlu *Bacillus* türlerinin izolatların farklı doz oranlarının *S. littoralis* larvaları üzerindeki insektisidal etkileri X eksen: Yerel izolat numaraları, Y eksen: Ölüm oranı (%). Testler üçer tekrarlı olup, sonuçlar Abbot formülüne göre hesaplanmıştır.

Bu deneyler sonucunda, *Spodoptera littoralis*'in Lepidoptera takımına ait bir zararlı olması ve Mnd nolu izolatın da *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* olup, hem Lepidopter olan *Malacosoma neustria*'dan izole edilmesinden hem de Lepidopter üzerinde etkili suşu olmasından dolayı çalışmalara bu izolat ile devam edildi. Bu izolatın zararlının farklı larval dönemler üzerindeki etkisi belirlenerek, farklı sıcaklıklarda ve farklı beslenme

rejimlerindeki etkinliği ortaya çıkartıldı. Daha sonra kristal spor karışımlarının larvalar üzerindeki insektisidal aktivitesi araştırıldı. Son olarak da bu izolatin saksı denemeleri yapıldı.

### 3.3.2.2. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin *Spodoptera littoralis*'in Farklı Evrelerine Etkileri

Bu deney sonucunda önceki testlerde *S. littoralis* zerinde etkili *Malacosoma neustria*'dan izole edilmiş Mnd (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*) izolatının  $1,8 \times 10^9$  yoğunluğuunda zararlının 1, 2, 3 ve 4. evreleri üzerinde 10 günlük test süresinde sırasıyla %97, %27, %97 ve %97 ölüm etkisine sahip olduğu tespit edildi (şekil 13).

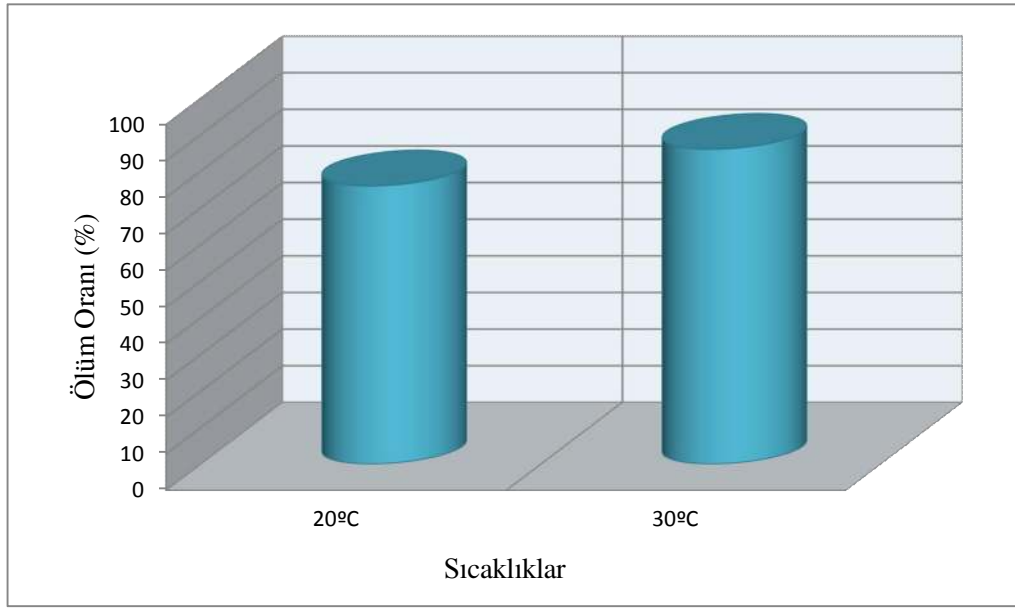


şekil 13. *Malacosoma neustria*'dan izole edilmiş olan *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Mnd) 'nin *S. littoralis*'in farklı dönem larvaları üzerindeki insektisidal etkileri  
X eksenı: Yerel izolat numaraları, Y eksenı: Ölüm oranı (%).Testler er tekrarlı olup, sonuçlar Abbot formülüne göre hesaplanmıştır.

Bu alışma sonucunda, şekil 13'de de grldğu gibi *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin *S. littoralis*'in 1., 3. ve 4., dönem larvaları üzerinde %97 gibi oldukça yüksek öldürme etkisine sahip olurken, 2. dönem larvaları üzerinde ise oldukça düşük bir etkiye sahip olduğu tespit edildi.

### 3.3.2.3. Farklı Sıcaklıkların *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin Virülansına Etkileri

Bu çalışmada *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin 20 ve 30°C'lerde *S. littoralis* larvaları üzerindeki etkisi belirlendi. Deney sonucunda bakterinin  $1,8 \times 10^9$  bakteri/ml konsantrasyonunda *S. littoralis* larvaları üzerinde 20°C'de %76 oranında ölüm etkisine sahipken, 30°C'de bu etki % 86'ya çıkmıştır (Şekil 14). Deneyin 1. gününde larvalar sıcaklığın oda koşullarına oranla artması etkisiyle hızlı hareket ettiği gözlenmişken ilerleyen günlerde larvaların hareketlerinin yavaşlayarak ölümün meydana geldiği gözlenmiştir.

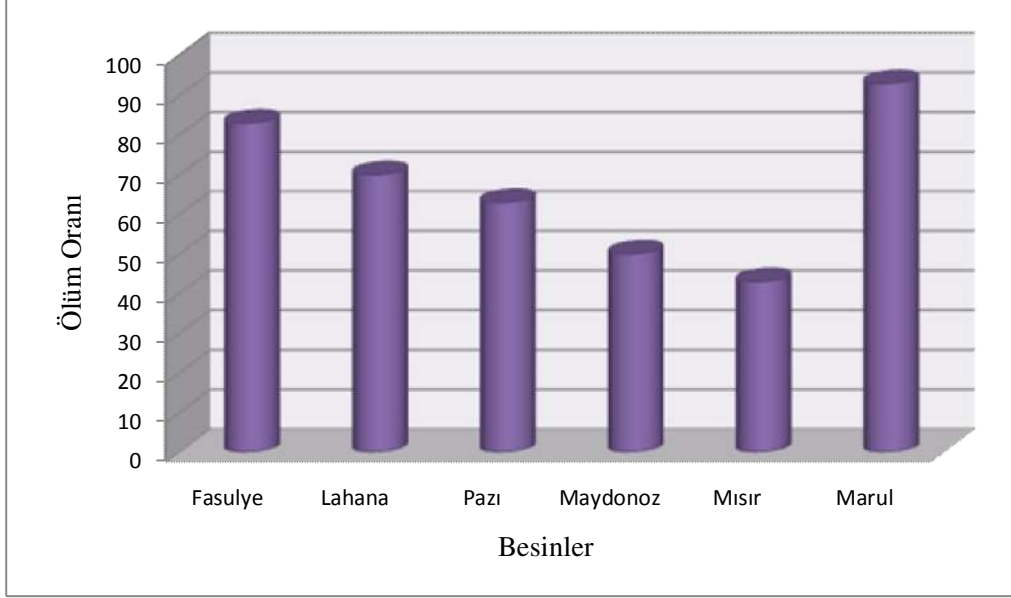


Şekil 14. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin 20 ve 30°C'de *S. littoralis*'in 3. Evre larvaları üzerindeki insektisidal etkileri X eksen: Yerel izolat numaraları, Y eksen: Ölüm oranı (%)

### 3.3.2.4. Farklı Beslenme Rejimlerinin *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin Virülansına Etkileri

*Spodoptera littoralis*'in beslendiği farklı besinlerin bakterinin virülansı üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla *B. thuringiensis* var. *kurstaki*  $1.89 \times 10^9$  konsantrasyonunda mısır, fasulye, lahana, pazı, maydonoz ve marul gibi farklı besinlere bulaştırılarak larvalara verildi. Bu deney sonucunda en yüksek ölüm %93 ile marul denemesinde gözlemlendi. Bunu sıra ile %83, 70, 63, 50 ve 43 ile fasulye, lahana, pazı, maydonoz ve mısır denemeleri takip etti (Şekil 15).

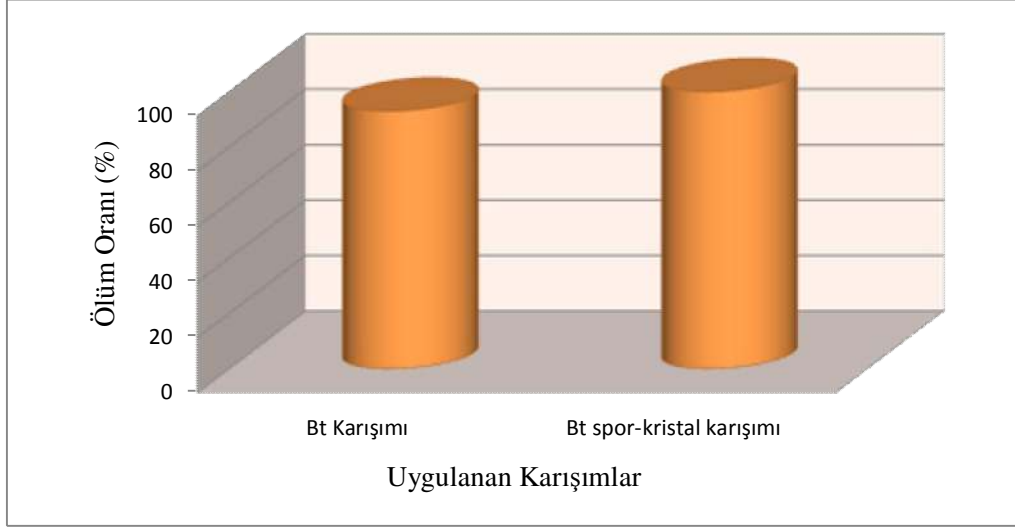
*S. littoralis* larvaları *B. thuringiensis* var. *kurstaki*'li besinleri yedikten sonra davranışlarında yavaşlama, beslenmelerinde azalma ve bunu takiben büyümelerinin yavaşladığı gözlenmiştir.



Şekil 15. Farklı besinlerin *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin *S. littoralis* 3. Evre larvaları üzerindeki virulansına etkileri X eksen: Yerel izolat numaraları, Y eksen: Ölüm oranı (%). Testler üçer tekrarlı olup, sonuçlar Abbot formülüne göre hesaplanmıştır.

### 3.3.2.5. Spor ve Kristal Karışımların İnsektisidal Aktivitesi

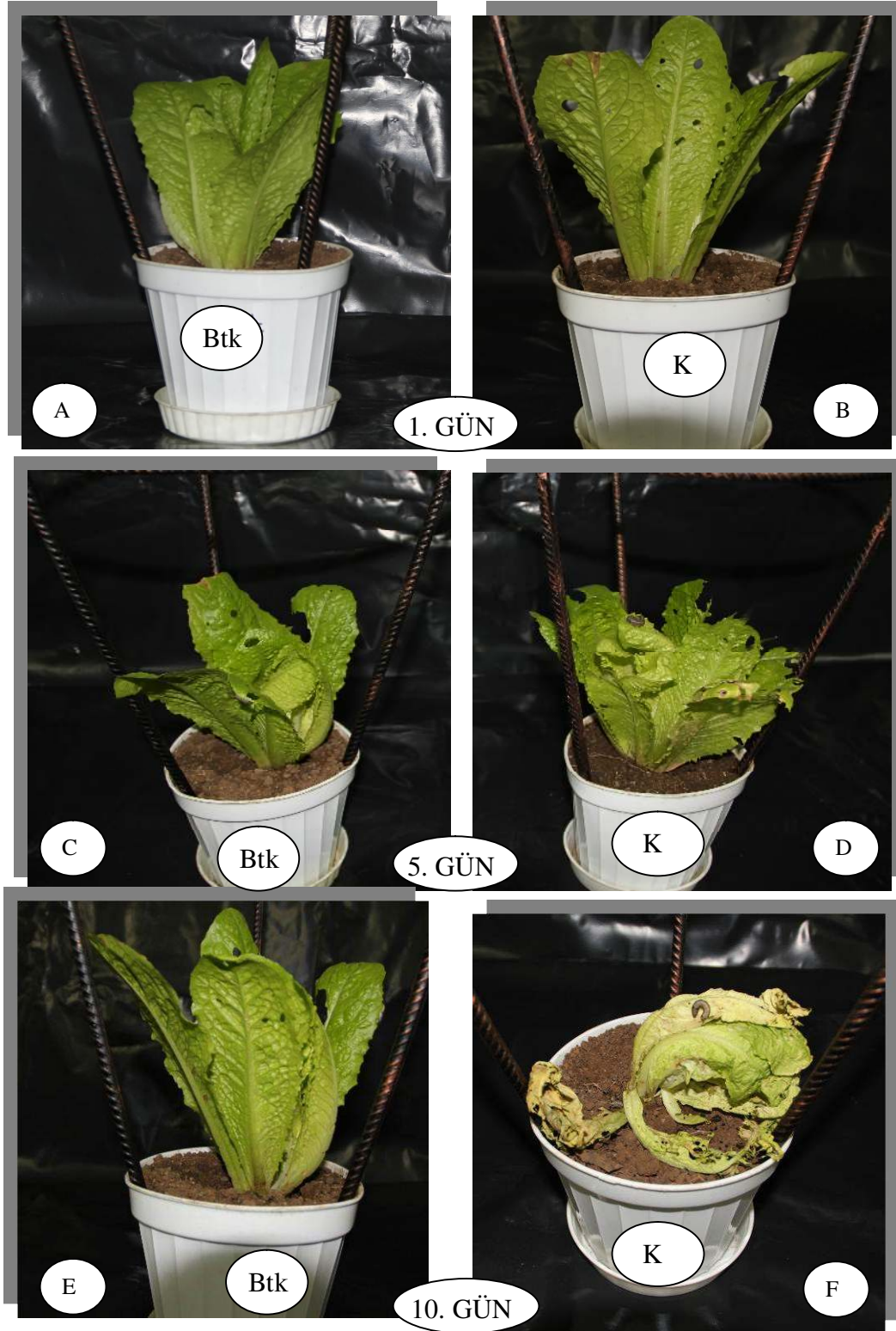
*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* spor-kristal karışımının  $1,8 \times 10^9$  konsantrasyonunda *S. littoralis* larvaları üzerinde %100'lük ölüm etkisine sahip olduğu tespit edildi. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin normal karışımından hazırlanan biyosey sonucu ile spor-kristallerinden hazırlanan biyosey sonuçları karşılaştırıldığında ikisinde de %100 ölüm gözlenmiştir (Şekil 16). Fakat, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin normal karışımından hazırlanan biyoseyin kontrol grubunda ölüm gözlemediği için bu oran %93'e düşmüştür. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin hem normal karışımı hem de spor-kristal karışımı *S. littoralis* larvaları üzerinde kısa sürede etkili bir patojenitenin meydana gelmesine neden olmaktadır.



Şekil 16. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin spor-kristal karışımının *S. littoralis* 3. evre larvaları üzerindeki insektisidal etkisinin bakteri ile karşılaştırılması X eksen: Yerel izolat numaraları, Y eksen: Ölüm oranı (%). Testler üçer tekrarlı olup, sonuçlar Abbot formülüne göre hesaplanmıştır.

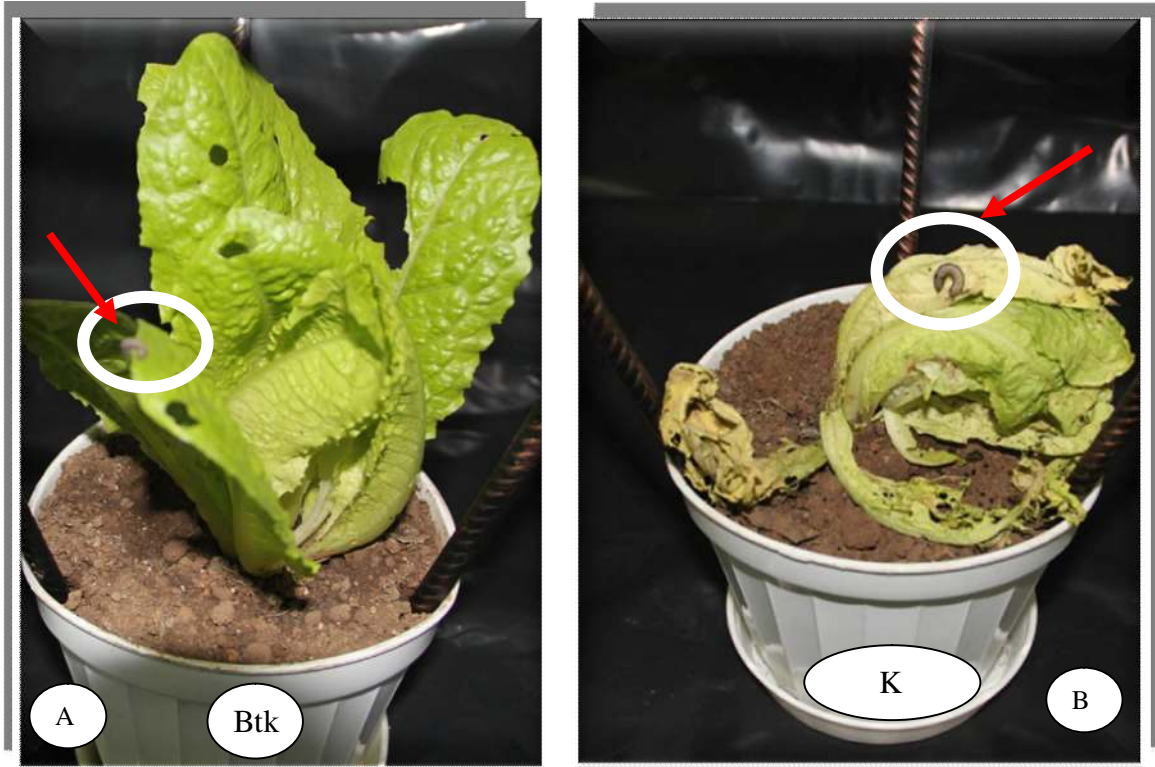
### 3.3.2.6. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*'nin Saksı Denemelerinde *S. littoralis* Larvaları Üzerindeki Etkisi

Saksı denemelerinde  $1,8 \times 10^9$  bakteri/ml konsantrasyonunda *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* bulaştırılmış ve bulaştırılmamış marul üzerindeki *S. littoralis* larvalarının üzerinde 1. gün, 5. gün ve 10. gün sonundaki etkileri karşılaştırıldı. Birinci gün (Şekil 17 A ve B) iki grupta da fazla bir zarar ve farklılık gözlenmemişken, 5. gün (Şekil 17 C ve D) *B. thuringiensis*'in zararlı üzerindeki etkisini göstermeye başlaması nedeniyle, zararlının beslenmesinin de yavaşlamasıyla birlikte bitki üzerindeki zararı belirgin bir şekilde azalmıştır. Onuncu gün sonunda *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* bulaştırılmış marulda larvanın tahribat ve zararının oldukça düşük olduğu gözlenirken, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* bulaştırılmamış (kontrol) marul, zararlıdan büyük oranda etkilenmiş ve kullanılmaz hale gelmiştir (Şeki 17 E ve F).



Şekil 17. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* bulaştırılmış ve bulaştırılmamış marulların 1, 5 ve 10. gün görüntüleri Btk: *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* bulaştırılmış, K: *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* bulaştırılmamış.

Yapılan 10 günlük saksı denemeleri sonucunda, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* bulaştırılmış saksılardaki böceklerin beslenmelerinin yavaşlayarak büyümelerinin durduğu, bunun sonucunda da Bt yemiş ve yememiş larvaların arasında belirgin bir şekilde fark olduğu tespit edilmiştir (Şekil 18 ).



Şekil 18. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* bulaştırılmış ve bulaştırılmamış marullarla beslenen larvaların 10.gün sonundaki görünümü Btk: *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* püskürtülmüş, K: *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* püskürtülmemiş.

Bu deney sonucunda zararlının hedef bitki üzerindeki hasarının *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* etkisiyle gözle görülür derecede azaldığı tespit edilmiş olup, bu bakterinin *S. littoralis* üzerinde etkili bir mikrobiyal mücadele etmeni olarak kullanılabileceği bu testler sonucunda da belirlenmiştir.

#### 4. TARTIŞMA

İnsan nüfusunun sürekli artmasıyla birlikte tarımsal üretime olan ihtiyaç da giderek artmaktadır. Çaprazlama deneyleri sonucu verimli ve dayanıklı ırkların üretilmesiyle bu durum dengelenmeye çalışılmaktadır. Fakat, bu çalışmalara rağmen, tarımsal zararlılardan dolayı üretim istenildiği kadar artmamaktadır.

Ekonomisi tarıma dayalı olan Türkiye, son yıllarda sanayi toplumu olma yolunda da büyük mesafe almıştır. Ancak yinede tarım, ülke ekonomisinde önemli yer tutmaktadır. Tarımsal alanlardaki en büyük problem, toplumun ihtiyacı olan tarımsal ürün artışlarını toplumun ihtiyacı ölçüsünde yeterli miktarda arttıramamaktır. Geçmiş yıllarda tarım üretiminde kendi ihtiyaçlarını karşılayan birkaç ülkeden biri olmasına rağmen ülkemiz, şu anda önemli bir tarım ithalatçısı durumundadır. Bunun temel sebeplerinden biri sanayi toplumuna geçişte tarım alanlarının azalması ve nüfus artışına paralel olarak sağlanan ürün ve birim alana düşen tarım miktarının arttırılamamasıdır. Birim alandaki ürün miktarını arttırma koşullarının başında, bitki ve ürünlerinin zararlı böceklerden korunması gelmektedir. Bu böceklerin zarar seviyelerini en alt düzeyde tutmak için yapılan çalışmalar zararlılarla mücadele yöntemleri olarak adlandırılmaktadır. Tarımda çeşitli zirai mücadele yöntemleri vardır. Tarımsal üretimde bitki koruma alanında kullanılan teknikler, insan ve çevre sağlığı açısından özel bir öneme sahiptir. Genel olarak bitki hastalık ve zararlılarıyla, zamanında ve doğru mücadele yapılmadığında, ürün kaybının %30-35 civarında olduğu kabul edilmektedir. Bu kaybı önlemek amacıyla en fazla kullanılan yöntem, kimyasal mücadeledir. Ancak, bilinçsizce pestisit uygulandığında, tarım ilaçları sadece zararlıları değil, bunları baskı altında tutan faydalı böcekleri de doğrudan ve dolaylı olarak etkilemektedir. Böylece, doğal denge bozulmakta, tür çeşitliliği azalmakta, daha önceden problem olmayan potansiyel zararlılar sorun olmakta ve bu zararlılara karşı ek ilaçlama yapma zorunluluğu ortaya çıkmaktadır.

Bir ekosistemdeki zararlıları tamamen yok etmek yerine ekonomik zarar eşiğinin altında tutma prensibine dayanan “entegre mücadele” bugün Türkiye’de zararlılara karşı başarıyla kullanılabilir şekilde geliştirilmiştir. Ancak, maalesef birçok üreticisi bu yöntemi uygulayamamaktadır. Tarım ürünlerinde görülen hastalık, zararlı ve yabancı otlarla mücadelede, entegre mücadele prensiplerine uyulması sürdürülebilir bir tarım yaklaşımı açısından mutlaka gereklidir. Tarlalarda uygulanacak entegre mücadele programlarında,

tarlada mevcut bütün hastalık, zararlı ve yabancı otların mücadelesi birlikte düşünülmeli ve mücadelenin yönetimi, ana zararlıların mücadelesi esas alınarak yapılmalıdır. Tarlada bulunan diğer hastalık, zararlı ve yabancı otların mücadelesi ise bunlara entegre edilmelidir. Entegre mücadele programında, zararlılara karşı belirlenen tüm mücadele yöntemleri birlikte değerlendirilmeli, öncelikle bitkinin sağlıklı yetiştirilmesi için kültürel önlemler alınmalıdır. Böylece, bitkinin zararlı ve hastalıklara karşı dayanıklılığının artırılması sağlanmış olacaktır. Kültürel önlemlerin alınmasına rağmen, ürün tarlasına zararlı, hastalık ve yabancı ot bulaşması halinde, insan ve çevreye en az olumsuz etkisi olan mücadele yöntemlerine öncelik verilmelidir. Bunlar, mekanik mücadele ve biyolojik mücadele yöntemleridir. Bu yöntemlerin uygulanmasına rağmen, zararlı ve hastalıkların artışı engellenemiyorsa, ürün kaybı meydana gelmeden önce son çare olarak kimyasal mücadeleye başvurulmalıdır. Kimyasal mücadele zorunlu ise çevre dostu, insan sağlığına ve doğal düşmanlara olumsuz etkisi en az olan spesifik ilaçlar kullanılmalı, etkili en düşük dozda ve en uygun zamanda uygulanmalıdır. Tarım ürünlerini zararlıdan kurtarma yolu ise çeşitli mücadele yöntemlerinden geçmektedir.

Lepidoptera takımında yer alan *Spodoptera littoralis* Boisduval (Pamuk yaprakkurdu) gerek dünya ve gerekse ülkemiz açısından çok önemli bir tarım zararlısıdır. Zararlı, pamuk ve mısır gibi ürünlerin yoğun ekildiği bölgelerde özellikle çok etkisi olmaktadır. Polifag bir zararlı olan *S. littoralis*'in diğer konukçuları arasında biber, domates, hayvan pancarı, şeker pancarı, ıspanak, yerbıstığı, börülce, maydanoz, ebegümeci, horozibiği, yonca ve tırfıl yer almaktadır. Yumurtadan çıkan larvalar önceleri yaprak alt yüzeyinde toplu olarak epidermis kısmıyla beslenmek suretiyle yaprağın zar gibi kalmasına neden olurlar. Daha sonraları bitkinin diğer kısımlarına yayılarak tüm kısımlarda zarara neden olur. Üçüncü döneminden itibaren daha hızlı beslenen larvaların zarar oluşturma potansiyeli bu dönemden sonra artar. Populasyonun yüksek olduğu yerlerde yeşil aksamın tamamen kaybolmasına neden olabilirler (Anonim, 2008). Zararlı, bitkiler üzerinde çeşitli tahripler oluşturarak hastalık yapan çeşitli mikroorganizmaların bitkilere taşınmasına ve ürün kayıplarına neden olarak önemli ekonomik sorunlar oluşturmaktadır.

*Spodoptera littoralis*'in mücadelesinden tam bir başarı alınabilmesi için tırtılların dağılmadan ve henüz üst yapaklarda toplu olarak yaşadıkları devrede mücadelesinin yapılması gerekir. Zararlı larvaları dağıldıktan ve alt yapraklara geçtikten sonra her ilâcın oralara tam nüfuz etmemesi sebebiyle mücadelesi de oldukça güç olmaktadır. Ayrıca *S.*

*littoralis* larvaları son dönemler oldukça dirençli olmaktadır. Bununla birlikte bu devreden sonra beslenmez ve bir gün sonra da toprağa inerek pup olurlar.

Günümüze kadar kültürel, kimyasal ve biyolojik mücadele yöntemlerine ait çeşitli uygulamalarla zararlıyla mücadele edilmeye çalışılmıştır. Ancak, mücadelede tam bir başarı sağlanamamıştır. Birçok böcek türü bireysel ya da populasyon seviyesinde bakterilerle çok yakından ilişki içindedir (Bour saux-Eude ve Gross, 2000). Bazı bakteriler böcekler için patojendir. Zararlı böceklerin patojenleri çalışılırken, bakteriler arasındaki zorunlu simbiyotik ilişkiler büyük önem taşımaktadır (Baerwald vd., 1968; Helmuth, 1956; Rubio vd., 1966; Hagen, 1966; Sezen vd., 2007; İnce vd., 2008; Sevim vd., 2010; Gökce vd., 2010). Böcek ve patojenleri arasındaki ilişkiye dikkat edildiğinde patojenitenin çoğunlukla bağırsaklarda başladığı görülür (Autori, 1941; Kemarrec vd., 1986). Bu, bakterilerin ürettiği çeşitli maddelerin bağırsak yüzeyini parçalamasıyla başlayan bir süreçtir. Patojen bakterinin konak içinde çoğalması, konağın hastalanması ya da ölümüyle sonuçlanır. Zararlı böceklerin biyolojik mücadelesinde bu organizmaların kullanılması birçok bilimsel araştırmaya temel oluşturmuştur (Haiwen vd., 2005). Simbiyotik bakterilerin zararlının barsağında patojeniteyi oluşturacak proteinleri üretmesi sağlanabilir.

Simbiyotik bakterilerin önemine binaen bütün bakteriyal floranın tespit edilmesi de oldukça önemlidir. Bu nedenle, *Spodoptera littoralis*'e karşı bir bakteriyal mücadele etmeni tespit etmek maksadıyla yapılan bu çalışmada, sadece sağlıklı larvalardan elde edilen izolatlarla yetinilmedi, sağlıklı bireylerin mikrobiyal florası da çalışmaya dahil edildi. Bu çalışma sayesinde zararlı böceklerle karşı kullanılabilecek insektisidal aktivitesi yüksek, güvenilir ve ülkemize ait bir mikrobiyal mücadele etmenlerinin geliştirilmesi yolunda yeni adımlar atılmış oldu.

Böcekler, taşıyıcı vektörler olarak bünyelerinde birçok bakteri bulundurur ve bunların bir kısmı bitkiler ve insanlarda çeşitli hastalıklara neden olurken, bazıları ise böceklerde çeşitli sorunlar oluşturur. Mikrobiyal etmen geliştirmenin temelinde zararlı böcekleri hastalandıran, zayıflatan veya öldüren mikroorganizmaların keşfedilmesi yatar. Bu amaç doğrultusunda yapılması gereken ilk iş, zararlıların bakteriyal floraları taranmalı ve öldürücü etkisi yüksek olan izolatların belirlenmesidir.

Yapılan literatür araştırması sonucunda daha önce *Spodoptera littoralis*'in mikrobiyal florasıyla ilgili herhangi bir çalışma tespit edilememiştir. Dolayısıyla, bu çalışma, *S. littoralis*'in mikrobiyal florası üzerine yapılan ilk çalışmadır.

Çalışmada *S. littoralis*'ten 10 adet kültüre edilebilir bakteriyal izolat elde edildi. İzolatların tür tayininde rutin olarak kullanılan konvansiyonel testlerin (morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal) dışında, son yıllarda tür tayinlerinin daha ve etkin doğru bir şekilde yapılabilmesi için geliştirilmiş 16S rRNA dizi analizi, API 20 E ve API 50 CH identifikasyon sistemleri de kullanıldı. Bakterilerin tür tayinleri için Bergey's Manual of Systematic Bacteriology kaynak kitabından yararlanıldı ve yapılan tanımlar API 20 E ve API 50 CH sistemleri analiz sonuçlarıyla desteklendi (Halda-Alija, 2004; Lian, 2004).

Bu sistemler sayesinde izolatlarımızın sahip olduğu metabolik aktiviteler ve biyokimyasal özellikleri hakkında çok geniş miktarda bilgi edinildi. Rutin çalışmalarla elde edilen veriler tür tayini için yetmediği durumlarda bu test sistemlerinden elde edilen veriler sayesinde tür tayinleri yapılabildi.

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

16S rRNA alt ünitelerinin genlerine göre gerçekleştirilen moleküler identifikasyon tekniklerinin gelişimiyle karmaşık yapıya sahip mikrobiyal komuniteleri anlamak daha da kolay olmuştur. 16S rRNA genlerinin analizi bütün bakterileri tanımlamada kullanılabilecek bir yöntemdir. Bu yöntem klasik mikrobiyal metotların aksine çok önemli iki avantaj sağlar. Bu avantajlardan ilki oldukça hızlı bir metot olması, ikincisi ise identifikasyon doğruluğunun oldukça gelişmiş olmasıdır (Springer vd., 1996).

*Spodoptera littoralis*'in mikrobiyal mücadelesinde yeni ve daha etkin bir bakteriyal mücadele etmeni tespit etmeye yönelik yapılan bu çalışmada, *S. littoralis*'ten 10 kültüre edilebilir bakteriyal izolat elde edildi. İzolatların moleküler, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler özellikleri belirlenere tanımlandı. Böylece, *S. littoralis*'in kültüre edilebilir bakteriyal florası 5'i cins ve 5'i tür seviyesinden belirlenerek zararlının kültüre edilebilir bakteriyal florasının *Flavobacterium* sp. (SLTRB 1), *Klebsiella variicola* (SLTRB 2), *Enterobacter hormaechei* (SLTRB 3), *Enterobacter* sp. (SLTRB 4), *Arthrobacter* sp. (SLTRB 5), *Klebsiella pneumoniae* (STRB 6), *Serratia marcescens* (SLTRB 7), *Pseudomonas aeruginosa* (SLTRB 8), *Acinetobacter* sp. (SLTRB 9) ve *Staphylococcus* sp. (SLTRB 10) şeklinde olduğu ortaya çıkarıldı. Bu izolatlar *S. littoralis*'ten ilk kez izole edilirken bazıları (*Flavobacterium* sp., *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter* sp., *Arthrobacter* sp., *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*,

*Acinetobacter* sp., *Staphylococcus* sp.) farklı tarımsal zararlılardan çok kez izole edilmiştir. Bu tespitlere karşın *Klebsiella variicola* (SLTRB 2) izolatının ilk kez böcekten izole edildiği düşünülmektedir.

SLTRB 1 (*Flavobacterium* sp. ) kodlu izolatın gram (-), spor üretmeyen, hareketsiz, katalaz ve oksidaz üretebilen ve basil formda bakteriler olduğu belirlendi. Oksidaz üretebilmeleri ile *Acinetobacter*'lerden, glukozu fermente edemeyişleri ile *Enterobacter* ve *Pasteurellaceae* üyelerinden ayrılan bu izolatın, *Flavobacter* cinsine ait olduğuna karar verildi. Ayrıca, bu bakterinin nitrata indirgeyebildiği; sitratı ve mannitolu kullanamadığı; nutrient agar üzerinde oluşturduğu kolonilerin sarı renkli olduğu ve kolonilerinin oldukça yavaş geliştiği tespit edildi. Beta galaktosidaz üretebilmeleri ve üreyi parçalayamamaları ile *Flavobacter* türleri arasında *F. meningosepticum*a benzemesine rağmen, indol üretememesi ve glukozu fermente edememesi ise bu tür olmadığını göstermektedir. Bu sonuçlar, bir arada değerlendirildiğinde bu izolatın tür seviyesinde karakterizasyonunda 16S rDNA dizin analizi ve API20E test sistemlerinin de yetersiz kaldığı, bunlarında sadece cins seviyesinde güvenilebilir sonuçlar verdiği görüldü. *Flavobacterium* sp.'nin literatür taraması yapıldığında daha önce Bahar ve arkadaşları tarafından *Oberea linearis* larvalarından izole edildiği tespit edilmiştir.

SLTRB 2 (*Klebsiella variicola*) kodlu izolatın gram (-), spor üretmeyen, hareketli, basil formda bir bakteri olduğu belirlendi. Bu özellikleri ile birlikte glukozu fermente edip gaz üretebildikleri dikkate alındığında, izolatın *Enterobacter* cinsine ait olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalar, 16S rRNA dizin analizi ve API 20E sistemlerinin analiz sonuçları, bu izolatın *Klebsiella variicola* olduğunu desteklemektedir. Bugüne kadar bu izolatın böceklerden izole edildiğine dair literatürde herhangi bir kayda rastlanmamıştır.

SLTRB 3 (*Enterobacter hormaechei*) kodlu izolatın gram (-), oksidaz (-) ve fermantatif özelliklere sahip olduğundan *Enterobacter* cinsine ait olduğu görülmektedir. Biyokimyasal testler karşılaştırıldığında *Enterobacter taylorae* ile *Enterobacter hormaechei* subsp. *steigerwaltii*'ye benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. *Enterobacter hormaechei* subsp. *steigerwaltii*'nin üreyi parçalayabilmesi ile *Enterobacter taylorae*'den ayrılmıştır (C.M.O'H vd.,1989). Yapılan çalışmalar, 16S rRNA dizin analizi ve API 20E sistemlerinin analiz sonuçları bu izolatın *Enterobacter hormaechei* olduğunu desteklemektedir. *Enterobacter hormaechei*, 1989 yılında O'Hara ve arkadaşları tarafından *Rhynchites bacchus* larvalarından izole edilirken daha sonra 2010 yılında bu izolat Gökçe ve arkadaşları tarafından aynı zararlı larvalarında bir kez daha tespit edilmiştir.

SLTRB 4 (*Enterobacter* sp.) kodlu izolatın gram (-), spor üretmeyen, hareketli ve basil formda bakteriler olduğu belirlendi. Ayrıca bu iki bakterinin katalaz enzimi ürettiği; sitratı kullandığı; nişastayı hidroliz ederken, jelatin ve üreyi hidroliz edemedikleri; %5 oranında NaCl'ye toleranslı oldukları ve glukoz ve laktozu fermente edebildikleri belirlendi. Morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal özellikler ve metabolik enzim profilleri dikkate alındığında bu izolatın, *Enterobacter* cinsine dahil olduklarına karar verildi. Bu sonuçlar, bir arada değerlendirildiğinde izolatın tür seviyesinde karakterizasyonunda 16S rDNA dizin analizi ve API20E test sistemlerinin de yetersiz kaldığı, bunlarında sadece cins seviyesinde güvenilebilir sonuçlar verdiği görüldü. *Enterobacter* genusu içinde yer alan, *E. aerogenes*, *E. agglomerans*, *E. sakazakii* ve *E. gergoviae* türleri daha önce böceklerden izole edilmiş ve patojeniteleri çalışılmıştır (Bucher, 1961, 1981; Martinez vd., 1994; Klein ve Kaya, 1995; Demir vd., 2001; Kuzina vd., 2001, 2002). *Enterobacter* sp. izolatı Gökçe ve arkadaşları tarafından *Rhynchites bacchus* larvalarından izole edilmiştir.

SLTRB 5 (*Arthrobacter* sp.) kodlu izolatın gram (+), spor üretmeyen ve kokus formda bakteriler olduğu belirlendi. Glikozu fermentlemesi nedeniyle *Actinobacteria* ailesine dahil edilmiştir. Tür seviyesinde karar verilemediği için *Arthrobacter* sp. olarak cins seviyesinde bırakılmıştır. İnce ve arkadaşlarının (2008) *Thaumetopoea pityocampa*'dan türünü tespit edemedikleri bir *Arthrobacter*'i elde ettiler.

SLTRB 6 (*Klebsiella pneumoniae*) kodlu izolatın gram (-), spor üretmeyen ve basil formda bakteriler olduğu belirlendi. Bu özellikleri ile birlikte glukozu fermente edip gaz üretebildikleri dikkate alındığında bu izolatın *Enterobacter* cinsine ait olduğu görülmektedir. *Klebsiella pneumoniae* ve *Enterobacter aerogenes* birbiriyle çok sık karşılaştırılan iki türdür (Sneath, 1986). *Klebsiella pneumoniae* hareketsiz, üreyi parçalayabilmeleri ve ornitin dekarboksilaz testinin sonucunun negatif olması sebebiyle *Enterobacter aerogenes* türünden ayrılmıştır. Yapılan çalışmalar, 16S rRNA dizin analizi ve API 20E sistemlerinin analiz sonuçları bu izolatın *Klebsiella pneumoniae* olduğunu desteklemektedir. Bu izolat Lyudmila ve arkadaşları tarafından 2000 yılında Meksika meyve sineği, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae)'ten izole edilmiştir.

SLTRB 7 (*Serratia marcescens*) kodlu izolatın spor oluşturmeyen, katalaz enzimi üreten, gram (-), glikozu fermentlemesiyle *Serratia* cinsine dahil edildi. Kırmızı renkte pigmentlere sahip olması, arginin ve arabinoz negatif, ornitin, glukoz ve VP pozitif olmasıyla diğer *Serratia* türlerinden ayrılan izolatın *Serratia marcescens* olduğuna karar verildi. *Serratia* genusu içersinde yer alan türler böceklerde oldukça yaygındır. Bu cinsten

yer alan *S. marcescens*, *S. entomophila*, *S. proteamaculans*, *S. liquefaciens*, *S. rubidea* ve *S. fonticola* daha önce yapılan birçok çalışmada böceklerden izole edilmiştir (Lepesme, 1937; Steinhaus, 1951, 1959; Steinhaus ve Marsh, 1962; McLaughlin ve Keller, 1964; Bell, 1969; Lipa ve Wiland, 1972; Sikorowski, 1985; Krieg, 1987; O'Callaghan ve Jackson, 1993; Martinez vd., 1994; Klein ve Kaya, 1995; Sezen ve Demirbağ, 1999; Jackson vd., 2001; Kuzina vd., 2001; Osborn vd., 2002; Jeyaprakash vd., 2003; Sezen vd., 2004, 2005 2007; Bahar vd., 2007; İnce vd., 2008; Sevim vd., 2010; Gökce vd., 2010).

SLTRB 8 (*Pseudomonas aeruginosa*) kodlu izolatın gram negatif, katalaz enzimi üreten, oksidaz reaksiyonu gösteren, nişastayı hidrolizlemeyen, yeşil renk pigment üreten, basil şeklinde bir bakteriler olduğu için *Pseudomonadaceae* ailesinin *Pseudomonas* cinsine dahil edildi. İzolatın 40°C'de büyümesi, sukrozu fermentleyememesi, jelatini hidrolizleyebilmesi, arginin dehidrolaz pozitif olması, glikozu fermentleyememesi, inositol negatif olması ile diğer *Pseudomonas* türlerinden ayrılarak *Pseudomonas aeruginosa* olduğuna karar verildi. Yapılan çalışmalar, 16S rRNA dizin analizi ve API 20E sistemlerinin analiz sonuçları bu izolatın *Pseudomonas aeruginosa* olduğunu desteklemektedir. *Pseudomonas* cinsine ait birçok tür böceklerle ilişkilidir. *P. aeruginosa*, *P. chlororaphus*, *P. fluorescens*, *P. maltophilia* ve *P. melophthora* türleri böceklerden izole edilmiştir (Gumpert ve Schwartz, 1962; Lysenco, 1963; Ivanov ve Gukasjan, 1966; Baerwald vd., 1968; Lipa ve Wiland, 1972; Lipa, 1975; Dorn, 1976, 1977; Bucher, 1981; Fitt ve O'Brien, 1985; Martinez vd., 1994; Sezen ve Demirbağ, 1999; Demir vd., 2001; Kuzina vd., 2001; Sezen vd., 2001; Sezen vd., 2007; Bahar vd., 2007; İnce vd., 2008; Sevim vd., 2010; Gökce vd., 2010).

SLTRB 9 (*Acinetobacter* sp.) kodlu izolatın hareketsiz, spor oluşturmeyen, gram (-), katalaz enzimi üreten, kokkobasil şeklinde bakteriler olduğu için Moraxellaceae familyasına dahil edildi. Oksidaz enzimi üretmedikleri için de bu familya içindeki diğer cinslerden ayrılarak *Acinetobacter* cinsine dahil olduğuna karar verildi. Tüm bu sonuçlar bir arada değerlendirildiğinde, izolatın tür seviyesinde karakterizasyonunda 16S rDNA dizin analizi ve API 20 E test sistemlerinin de yetersiz kaldığı, bunların da sadece cins seviyesinde güvenilir sonuçlar verdiği görülmektedir. Yapılan literatür çalışması sonucunda *Acinetobacter calcoaceticus*'un daha önce böceklerden izole edildiği tespit edildi (Sramova vd. 1992).

SLTRB 10 (*Staphylococcus* sp.) kodlu izolatın gram (+), spor üretmeyen, hareketsiz, katalaz ve oksidaz enzimi üretebilmeleriyle *Staphylococcus* cinsine dahil edildi. Yapılan

rutin çalışmaların yanında, 16S rDNA dizin analizi ve API 20 E sistemlerinin analiz sonuçlarının da bu tanıyı desteklemesinden dolayı, 10 numaralı izolatın *Staphylococcus* sp. olduğuna karar verildi. Daha önceki çalışmalar sonucunda *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae)’den 3 adet *Staphylococcus* sp. (*S. aureus*, *S. carnosus* ve *S. xylosus*), *Hylesia metabus* (Lep.: Saturniidae)’dan 3 farklı *Staphylococcus* sp. (*S. gallinarum*, *S. sciuri* ve *S. warneri*) ve *Hepialus gonggaensis* (Lep.:Saturniidae)’ten de *S. kloosii* izole edilmiştir (Kuzina vd., 2001; Osborn vd., 2002; Yu vd.).

Yukarıda da belirtildiği gibi Lyd 1, Ar 1, Lyd 8, Ar 4, Mnd, Xd 3, As 3, Mm 7 ve Mm 5 nolu izolatlar daha önce farklı zamanlarda değişik böceklerden izole edilmiştir. Dolayısıyla, bu çalışmamızla birlikte bu izolatların böceklerde simbiyont olarak yaşadığı bir kez daha tespit edilmiş oldu. Ayrıca, Lyd 7 nolu izolatın da ilk kez bu çalışmayla böceklerde simbiyont olarak bulunduğu belirlenmiş oldu.

Ülkemiz açısından oldukça önemli bir polifag bir tarım zararlısı olan *S. littoralis*’e karşı mikrobiyal mücadelede kullanılabilecek bir bakteriyal mücadele etmeni tespit etmeye yönelik insektisidal aktivite çalışmaları gerçekleştirildi. Bu çalışmalarda *S. littoralis*’ten izole edilen 10 adet kültüre edilebilir bakteriyal flora üyesi ve farklı zararlıda değişik zararlılardan izole edilmiş ve konakları üzerinde yüksek öldürücü etkiye sahip oldukları bilinen 12 *Bacillus* türü kullanıldı (Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü kültür koleksiyonu). Tüm izolat ve türlerin *S. littoralis* üzerinde farklı derecelerde insektisidal etkiye sahip oldukları belirlendi.

Bakteriyal flora üyelerinden SLTRB 6 kodlu izolat zararlı üzerinde %77 ile en yüksek öldürücü etkiyi gösterirken, bunu %67 ile SLTRB 1 kodlu izolat takip etti. *Bacillus* türlerinden *Malacosoma neustria*’dan izole edilen FOTRB 6 (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*) numaralı izolatın *S. littoralis* üzerinde %93 ve *Balanninus nucum*’dan izole edilmiş olan FOTRB 11 (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*) %90 patojenik etkisi olduğu tespit edildi.

SLTRB 6 (*Klebsiella pneumoniae*) kodlu izolatın literatür taraması yapıldığında daha önce Lyudmila ve arkadaşları tarafından 2000 yılında Meksika meyve sineği, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae)’ten izole edildiği bilinmekte olup, konağı üzerindeki insektisidal etkisi tespit edilmemiştir. *Spodoptera littoralis* larvaları üzerinde % 77 öldürücü etkisi tespit edildi. Bu biyosey sonuçlarına göre, simbiyotik ve patojenik bakterilerin farklı böcekler üzerinde farklı virülanslar gösterdiği tespit edilmiştir.

SLTRB 1 (*Flavobacterium sp.*) kodlu izolatın literatür taraması yapıldığında daha önce Bahar ve arkadaşları tarafından (2007) *Oberea linearis* larvalarından izole edildiği tespit edildi. Bu izolatın *O. linearis* larvaları üzerinde herhangi bir insektisidal etki göstermediği belirlenmiştir. Ancak, bu çalışmada izole edilen *Flavobacterium sp. S. littoralis* larvaları üzerinde % 67 oranında öldürücü etki gösterdi. Bu durum *Flavobacterium* türlerinin böceklerde simbiyont olarak yaşamasının yanında farklı böcek popülasyonlarında patojen olabileceğini de göstermektedir. Bakterinin virülansı türden türe ve konaktan konağa da değişebilir.

Böceklerin doğal düşmanları düşünüldüğünde bütün mikroorganizmalar arasında, *B. thuringiensis* önemli bir yer tutmaktadır. *B. thuringiensis* gram-olumlu, spor oluşturan ve farklı habitatlarda yaşayabilen bir bakteridir (Goldberg ve Margalit, 1977; Heimpel, 1967; Martin ve Travers, 1989; Meadows vd., 1992; Smith ve Couche, 1991). Bu bakteri yakın ilişki içerisinde bulunduğu bakterilerden spor oluşumu esnasında ürettiği kristal yapıları sayesinde ayrılmaktadır. *Bacillus thuringiensis* bilinen en yaygın böcek patojenidir ve bu bakteri biyolojik mücadelede büyük önem taşımaktadır (Lacey vd., 2001). Dünyadaki biyopestisit satışlarının %95'ini *B. thuringiensis* kökenli ürünler oluşturmaktadır (Gaugler, 1997). Bu tür ve suşları şimdiye kadar yapılan birçok çalışmada böceklerden izole edilmiş ve çeşitli insektisidal aktivite testlerinde kullanılmıştır. *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* özellikle Lepidoptera takımına ait zararlılar üzerinde yüksek insektisidal etkiye sahiptir. Bu takım içerisinde yer alan Noctuidae familyasına ait *Agrotis segetum* (Krieg, 1961; Lipa ve Wiland, 1972), *Agrotis exclamationis* (Lipa ve Wiland, 1972), *Busseola fusca* (Steinhaus ve Marsh, 1962), *Heliothis armigera* (Majumder vd., 1955), *Peridroma margaritosa* (Steinhaus, 1951), *Prodenia praefica* (Steinhaus ve Marsh, 1962) ve *Trichoplusia ni* (Tanada, 1956; Krieg, 1961; Steinhaus ve Marsh, 1962) türleri, *B. thuringiensis*'in izole edildiği örneklerden bazılarıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda *Balaninus nukum* (Sezen ve Demirbağ, 1999), *Melolontha melolontha* (Coleoptera: Scarabidae) (Sezen vd., 2001a), *Malacosoma neustria* (Lepidoptera: Lasiocampidae) türlerinden *B. thuringiensis* izole edilmiş ve izole edildikleri konaklar üzerinde sırasıyla, %45, 80, 68, 66 ve 56 insektisidal etkiye sahip oldukları belirlendi. Ayrıca, *Hyphantria cunea*'dan izole edilen *B. thuringiensis* izolatının *Gypsonoma dealbana* (Lepidoptera: Tortricidae), *Melolontha melolontha* (Coleoptera: Scarabidae) ve *Agelastica alni* (Coleoptera: Chrysomelidae) üzerinde insektisidal aktiviteleri çalışılmış ve sırasıyla, %93, 44 ve 24 insektisidal etkiye sahip oldukları hesaplanmıştır.

Belirtilen alışmalar ve bizim yaptığımız testler *B. thuringiensis* bakterisinin böcekler için patojen olduğunu ve virülansının böcekten böceğe değiştiğini göstermektedir. *B. thuringiensis* bakterisinin kristal proteinleri özellikle Lepidoptera, Diptera ve Coleoptera takımlarındaki böceklere karşı toksik aktivite göstermektedir (Höfte ve Whiteley, 1989). Cry1Ab, Cry 1B, 1C, 1D, Cry 2A, 2B toksin gruplarını içeren *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, *aizawai* ve *thuringiensis* gibi *Bacillus* suşları dünyada etkin bir şekilde tarım zararlılarıyla mücadelede kullanılmaktadır.

Test bceğimizin Lepidoptera takımına ait olması, tarama testleri sonucunda bunun üzerinde en yüksek öldürücü etkiyi gösteren *Bacillus* türü olması ve bu türün yine Lepidopter takımına ait bir zararlıdan izole edilmiş olması nedeniyle daha sonraki çalışmalarda FOTRB 6 (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*) kullanıldı.

En verimli olduğu belirlenen Mnd izolatının *Spodoptera littoralis* larvaları üzerinde  $1,8 \times 10^9/2$ ,  $1,8 \times 10^9$  ,  $1,8 \times 10^9 \times 2$  dozları oranlarında %94 ve BnBt (*Balanninus nucum*'dan) izolatu %94 oranında öldürücü etki gösterdi.  $1,8 \times 10^9 \times 2$  konsantrasyonunda Mnd (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*) izolatının *S. littoralis* larvalarını 4. günde tamamen öldürdüğü tespit edildi.

Zararlının 1, 2, 3 ve 4. evreleri üzerinde 10 günde sırasıyla %97, %27, %97 ve %97 ölüm etkisine sahip olduğu tespit edildi. *Spodoptera littoralis* zerinde *Bacillus thuringiensis*'in öldürme potansiyeli biyolojik testlerle belirlenmiştir (Amos ve Meir (1989). Yapılan biyosey sonucunda *Bacillus thuringiensis*'in *Spodoptera littoralis*'in 1., 3. ve 4., dönem larvaları üzerinde yüksek öldürücü etkisi gözlenmişken, 2.dönem larvaları üzerinde fazla öldürücü etkisi olmadığı tespit edilmiştir (Amos ve Meir, 1989).

Laboratuar koşullarında farklı böcek türlerinde *B. thuringiensis*'e karşı dirençlilik tespit edilmiştir. Dirençlilik tespit edilen böcek türleri *Plodia interpunctella*, *Cadra cautella*, *Leptonatarsa decemlineata*, *Chrysomela scripta*, *Trichoplusia ni*, *Spodoptera littoralis*, *Spodoptera exigua*, *Heliothis virescens*, *Ostrinia nubilalis* ve *Culex quinquefasciatus* türleridir (Schnepf vd., 1998). Direnç oluşturan *B. thuringiensis* suşları; *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*, *B. thuringiensis* subsp. *israelensis*, *B. thuringiensis* subsp. *tenebrionis* ve diğer *B. thuringiensis* alt türleridir (Schnepf ve ark. (1998)).

Amos ve Meir (1989), *Spodoptera littoralis* zerinde *Bacillus thuringiensis*'in öldürme potansiyelini biyolojik testlerle belirlemişler. Yapılan bioassay sonucunda *B. thuringiensis*'in *S. littoralis*'in 1., 3. ve 4., dönem larvaları üzerinde %100'lk öldürücü

etkisi gözlenirken, 2. dönem larvaları üzerinde bu oran %20'lere kadar düştüğü gözlenmiştir.

Mohamed ve arkadaşları tarafından, Pamuk yaprakkurdu *Spodoptera littoralis*'in *Bacillus thuringiensis*'e dirençlilik 4 suşu ile belirlendi. Bu çalışmada, *B. thuringiensis* var. *entomocidus*, *B. thuringiensis* var. *fintimus*; El-Mansoura'da pamuk tarlasından toplanan *Pectinophora gossypiella*'nın ölü larvalarından izole edilmiş lokal izolat olan C<sub>12</sub> ve Shalateen alanından Sudanese sınırına kadar olan sınırdaki mısır çöllerinden alınan toprak örneklerinden izole edilen DI<sub>29</sub> izolatları kullanılmıştır. Bu izolatların etkinliğinin belirlenmesi için Mısır Bitki Koruma Araştırma Enstitüsü koleksiyonunda bulunan *Spodoptera littoralis* larvaları kullanılmıştır. *B. thuringiensis*' in farklı suşlarına larvanın duyarlılığı seçim, çapraz direnç ve kalıtım direnç uygulamaları yöntemleri ile tespit edilmiştir. Bu çalışma sonucunda DI<sub>29</sub>, Ent, Fin ve C<sub>12</sub> izolatlarının *S. littoralis* larvalarına karşı yüksek patojenik etki gösterdiği tespit edilmiş olup DI<sub>29</sub> suşunun en etkili izolat olduğu gözlenmiştir.

Mnd nolu izolatın *S. littoralis* larvaları üzerinde 20°C' de %76 oranında ölüm gözlenirken 30°C'de %86 oranında ölüm tespit edilmiştir. Farklı sıcaklık uygulamasında 30°C'de *B. thuringiensis* var. *kurstaki*'nin virülansının en yüksek olduğu gözlenmiştir. Farklı sıcaklık uygulamasında 30°C'de *B. thuringiensis* var. *kurstaki*'nin virülansının en yüksek olduğu gözlenmiştir. 10°C'den daha düşük ve 30°C'den daha yüksek sıcaklıkların uzun bir süre aralığında bakteriyal patojenlerin aktivitesi üzerinde zararlı etkilere sahip olabildiği gözlemlenmiştir (Ignoffo, 1992). Bunun sebebi sıcaklıktan veya yüksek veya düşük sıcaklık ekstremelerinden dolayı böceklerin beslenmelerindeki azalmadan kaynaklanıyor olabilmektedir (Han, 2000). Daha yüksek sıcaklıklarda özellikle 30°C üzerinde olduğu tropik bölgelerde bu durum *B. thuringiensis* ürünlerinin aktivitesinde düşüşe neden olur (Morris, 1983). Toksinin olası inaktivasyonuna ek olarak yüksek sıcaklıklar pek çok böcek için beslenme oranlarının düşmesi anlamına gelmiştir ve pH'nın zararlı etkilerini arttırmıştır (Nishiitsutsuji-Uwo ve ark., 1976)

Yapılan farklı besin uygulaması testinde; marulda %93, fasulyede %83, lahanada %70, pazide %63, maydonozda %50 ve mısırdaki %43 oranında ölüm tespit edilmiştir. Farklı besin uygulamasında izolatın marul üzerinde zararlıya verildiğinde patojenitesinin en yüksek olacağı tespit edilmiştir. Bu besinler yapısında bulunan çeşitli kimyasallar Bt'nin etkinliğini etkileyebilir. Yapraklarda üzerinde mevcut olan aldehitler, ketonlar, karboksilik asitler ve onların türevleri gibi uçucular *B. thuringiensis* sporları üzerinde

önemli bir antibiyotik etkiye sahiptir ve bazen inaktivasyonuna veya normal büyüme periyodunda gecikme sebebi olabilirler (Smirnoff, 1972; Ferry ve ark., 2004).

İzolatin, laboratuvar koşullarındaki saksı denemeleri de zararlı üzerindeki etkinliğinin önemli derecede olduğu gösterildi. Yapılan 10 günlük saksı denemeleri sonucunda *Bacillus thuringiensis* bulaştırılmış saksılardaki böceklerin beslenmelerinin yavaşlayarak büyümelerinin durduğu ve hedef bitki üzerindeki hasarının gözle görülebilir derecede azaldığı tespit edilmiş olup, *B. thuringiensis*'nin etkili bir mikrobiyal mücadele etmeni olarak kullanılabileceği bu testler sonucunda da belirlenmiştir.

Yapılan bu çalışmalarla *S.littoralis*'ten izole edilen bakteriler ile farklı zararlılardan izole edilen bakterilerin öldürücü etkileri karşılaştırıldı. Farklı zararlılardan izole edilen bakterilerin öldürücü etkisinin daha yüksek olduğu gözlemlendi.

Her bölge, ekolojik çevre koşulları açısından kendine özgü özelliklere sahiptir. Bu çevre koşulları hem mikroorganizmalar hem de konakları üzerinde değişik seviyelerde etkili olur. Bir bölgeden izole edilen yüksek öldürücü özelliğe sahip olan bakterilerin, farklı bölgelerdeki etkisi az olabilir veya hiç etki göstermeye bilir. Bu özellikler göz önünde bulundurulduğunda, zararlının bulunduğu bölgeden uygun konaklardan elde edilen mikrobiyal mücadele etmeni o zararlıyla mücadele için en iyi çözüm olabilir. Bu etmenin bulunabilmesindeki en iyi yol ise zararlının bakteriyal florasının araştırılması ve elde edilen isolatların zararlı üzerinde test edilmesidir.

Çalışma sonucunda, böcek orjinli yerel bir izolat olan *B. Thuringiensis* var. *kurstaki*'nin önemli bir Lepidoptera zararlısı olan *Spodoptera littoralis* üzerinde oldukça etkili olduğu tespit edildi. Özellikle saksı denemesi ve farklı besin uygulamasıyla da etkinliği tescil edildi. Sonraki çalışmalarda bu etmenin başta *S. littoralis* olmak üzere Lepidoptera zararlılarına karşı bir mikrobiyal mücadele etmenine dönüştürme çalışmaları yapılacaktır.

## 5. SONUÇLAR

Bu çalışma sonucunda, dünyada ve ülkemizde başta pamuk olmak üzere bir çok tarım bitkisinde ciddi zararlara yol açan *Spodoptera littoralis*'in kültüre edilebilir bakteriyal florası belirlendi. Bakteriyal flora üyeleri ve farklı zararlılardan izole edilmiş *Bacillus* türlerinin zararlı üzerindeki insektisidal etkileri belirlendi. Çalışmada ulaşılan sonuçlar aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- 1) *S. littoralis* larvalardan 10 farklı bakteriyal izolat elde edildi. Bunların morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler özelliklerine göre karakterizasyonları yapıldı ve tanımlanmaları gerçekleştirildi.
- 2) Yapılan karakterizasyon çalışmaları sonucu, izole edilen bakterilerin 5'i tür ve 5'i de cins seviyesinde tanımlandı. Böylece, *S. littoralis*'in kültüre edilebilir bakteriyal florası *Flavobacterium* sp. (SLTRB 1), *Klebsiella variicola* (SLTRB 2), *Enterobacter hormaechei* (SLTRB 3), *Enterobacter* sp. (SLTRB 4), *Arthrobacter* sp. (SLTRB 5), *Klebsiella pneumoniae* (STRB 6), *Serratia marcescens* (SLTRB 7), *Pseudomonas aeruginosa* (SLTRB 8), *Acinetobacter* sp. (SLTRB 9) ve *Staphylococcus* sp. (SLTRB 10) olarak belirlendi.
- 3) Bakteriyal flora üyelerinden SLTRB 1 ve SLTRB 6 nolu izolatların sırasıyla % 77 ve % 66 oranlarıyla zararlı üzerinde en yüksek ölüm etkisine sahip oldukları belirlendi.
- 4) Farklı zararlılardan izole edilen ve değişik zararlılar üzerinde yüksek öldürücü etkiye sahip olduğu bilinen *Bacillus* türlerinde Mnd ve BnBt'nin *S. littoralis* larvaları üzerinde % 100 öldürücü etkiye sahip oldukları belirlendi.
- 5) İnsektisidal aktivite çalışmaları sonucunda en verimli olduğu belirlenen Mnd izolatının *Spodoptera littoralis* larvaları üzerinde  $1,8 \times 10^9/2$ ,  $1,8 \times 10^9$ ,  $1,8 \times 10^9 \times 2$  dozlarının %94 oranında öldürücü etki gösterdi.
- 6) Mnd kodlu izolatın zararlının 1, 2, 3 ve 4. evreleri üzerinde 10 günde sırasıyla %97, %27, % 97ve %97 ölüm etkisine sahip olduğu tespit edildi.
- 7) Aynı izolatın *S. littoralis* larvaları üzerinde 20°C'de %76 ve 30°C'de % 86 oranında ölüm etkisi olduğu tespit edilmiştir.

- 8) Mnd kodlu izolatın farklı besinlerle uygulaması sonucunda; fasulye ile %83, lahana ile %70, pa zi ile %63, maydono z ile %50 ve mısır ile %43 oranında zararlı üzerinde ölüm tespit edildi.
- 9) Aynı izolatın laboratuvar koşullarındaki saksı denemelerinde de zararlı üzerinde oldukça etkin oldu ğu ve bakteri bulaştırılmamış marulların büyük bir kısmının 10 günlük test süresinde zararlı tarafından yenildi ği ve devamında bitkinin pörsüdü ğü ve kullanılmaz bir hale geldi ği tespit edildi.

## 6. ÖNERİLER

Bu çalışmada, *Spodoptera littoralis*'ten 10 farklı kültüre edilebilir bakteri izole edildi ve bunların zararlı üzerindeki insektisidal etkileri araştırıldı. Ayrıca, farklı böceklerden izole edilen yüksek insektisidal etkiye sahip 12 *Bacillus* türünün *S. littoralis* üzerindeki etkileri çeşitli testlerle belirlendi. Çalışmada ulaşılan sonuçlardan hareketle, gelecek çalışmalara yönelik olarak aşağıdaki hususlar belirlenmiştir.

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

## 7. KAYNAKLAR

- Abbott, W. S., 1925. A Method of Computing of Effectiveness of on Insecticide, J. Econ. Entomol., 18, 265–267.
- Aktaş, E. ve Yurdakul, O., 2005. Destekleme ve Teknoloji Politikalarının Çukurova Bölgesinde Mısır Tarımı Üzerine Etkisi, Köy Hizmetleri Tarsus Araştırma Enstitüsü, Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü.
- Anonim, 2008. Zırai Mücadele Teknik Talimatları Cilt 2. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Ankara, 104-107.
- Anonim, 2008. Zırai Mücadele Teknik Talimatları Cilt 2. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Ankara, 104-105.
- Anonim, 2008. Zırai Mücadele Teknik Talimatları Cilt 2. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Ankara, 106.
- Arif, B. ve Kurstak, E., 1991. Viruses of Invertebrates, Kurstak, E. (Ed.), Marcel Dekker, Inc., 179, New York, USA.
- Autuori, M., 1941. Contribuicao para o conhecimento da sauva (*Atta* spp.). I. Evolucao do sauveiro (*Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908), Arq. Inst. Biol., 12, 197–228.
- Baerwald, R. J. ve Boush, G. M., 1968. Demonstration of the Bacterial Symbiote *Pseudomonas melophthora* in the Apple Maggot, *Rhagoletis pomonella*, by Fluorescent-Antibody Techniques, J. Invertebr. Pathol., 11, 251-259.
- Bahar, A.A. ve Demirbag, Z. , 2007. Isolation of pathogenic bacteria from *Oberea linearis* (Coleoptera: Cerambycidae). Biologia, Bratislava, 62,1, 13-18
- Beegle, C.C., ve Yamamoto, T., 1992. History of *Bacillus thuringiensis* Berliner Research and Development, Can. Entomol., 124, 587-616.
- Bell, J. V., 1969. *Serratia marcescens* Found in Eggs of *Heliothis zea*: Tests Against *Trichoplusia ni.*, J. Invertebr. Pathol., 13, 151-152.
- Ben-Dov, E., Boussiba, S. ve Zaritsky, A., 1995. Mosquito Larvicidal Activity of *Escherichia coli* with Combinations of Genes from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*, J. Bacteriol., 2581-2587.
- Benson, H. J., 1985. Microbiological Applications, a Laboratory Manuel in General Microbiology, Brock, Fourth Edition, Wm C. Brown Publishers, Dubuque, Iowa.
- Bernard, R. G. ve Jack J. P., 2003. Molecular Biotechnology - Principles and Applications of Recombinant DNA, Baskı: 3, Amer Society for Microbiology, New York.

- Boursaux-Eude, C., ve Gross, R., 2000. New insights into symbiotic associations between ants and bacteria, Res. Microbiol., 151, 513–519.
- Braxton, S. M., Onstad, D. W., Dockter, D. E., Giordano, R., Larsson, R. ve Humber, R. A., 2003. Description and Analysis of two Internet-Based Databases of Insect Pathogens: EWDIP and VIDIL, J. Invertebr. Pathol., 83, 185-195.
- Brooks, W. M., 1988. Entomogenous Protozoa, In “Handbook of Natural Pesticides”, Vol. V: “Microbial Insecticides, Part A: Entomogenous Protozoa and Fungi” (Ignoffo, C. M. ve Mandava, E. D., Eds.), 1-149, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Bucher, G. E., 1981. Identification of Bacteria Found in Insects, In: “Microbial Control of Pests and Plant Diseases, 1970-1980” (Burgess H. D., Ed.), Academic Press, New York, 7-33.
- Burgess, H.D. ve Hurst, J.A., 1977. Ecology of *Bacillus thuringiensis* in Stroke Moths, J. Invertebr. Pathol., 30, 131-139.
- Campos-Herrera, R., Gutierrez, C., 2009. Screening Spanish isolates of steinernematid nematodes for use as biological control agents through laboratory and greenhouse microcosm studies. Journal of Invertebrate Pathology, 100, 2, 100-105.
- Cappuccino, J. G. ve Sherran, N., 1992. Microbiology, a Laboratory Manual, Third Edition, Rockland Community College, Suffern, New York.
- Carozzi, N.B., Kramer, V.C., Warren, G.W., Evola, S. ve Koziel, M.G., 1991. Prediction of Insecticidal Activity of *Bacillus thuringiensis* Strains by Polymerase Chain Reaction Product Profiles, Appl. Environ. Microbiol., 57, 3057-3061.
- Charnley, A. K., Cobb, B. ve Clarksen, J. M., 1997. Toward the Improvement of Fungal Insecticides, In “Microbial Insecticides: Novelty or Necessity?” (Evans, H. F., Chair), Proc. Br. Crop. Prot. Council Symp., 68, 115-126.
- Demir, İ., Sezen, K. ve Demirbağ, Z., 2002. The First Study on Bacterial Flora and Biological Control Agent of *Anoplos roboris* (Coleoptera: Curculionidae), The J. Microbiol., 40, 104-108.
- Demir, İ., Sezen, K., Beldüz, A. O. ve Demirbağ, Z., 2001. Current Study on the Bacterial Isolates of Two Hazelnut Pests, Proceedings of the 1<sup>st</sup> Eurasian Congress on Molecular Biotechnology, Ocak, Trabzon, 117-121.
- Demirbağ, Z. ve Beldüz, A. O., 1997. Baculovirüs’ün Biyolojik Mücadeledeki Önemi, Kükem Dergisi, 20, 1, 49-58.
- Devi, P. S. V., 1994. Conidia Production of the Entomopathogenic Fungus *Nomuraea riley* and its Evaluation for Control of *Spodoptera litura* (Fab) on *Ricinus communis*, J. Invertebr. Pathol., 63, 145-150.

- Dorn, A., 1976. *Pseudomonas aeruginosa* Causes Epidemic Disease in the Milkweed Bug, *Oncopeltus fasciatus* Dallas (Insecta: Heteroptera), Experientia, 32, 599-600.
- Dorn, A., 1977. Studies on the Fat Body of *Oncopeltus fasciatus* Invaded by *Pseudomonas aeruginosa*, J. Invertebr. Pathol., 29, 347-353.
- Ecevit, O., 1988. Zirai Mücadele İlaçları ve Çevreye Olan Etkileri, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayınları, 27, Samsun.
- El-husseini, M. M., Agamy, E. A., Mesbah, A. H., El-fandary, O. O.ve Abdallah, M. F., 2008. Using *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin in spraying and dusting applications for biological control of sugar beet insect pests in Egypt. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 18, 2, 369-375.
- Farag, N.A. 2008b. Susceptibility of the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* 3 rd instar larvae to some bio-insecticides (Lepidoptera: Noctuidae). Egyptian Journal of Biological Pest Control, 18, 2, 343-346.
- Fargues, J. ve Maniania, N. K., 1992. Variabilité de la Sensibilité de *Spodoptera littoralis* (Lep.:Noctuidae) a L'hypomycete Entomopathogene *Nomuraea rileyi*, Entomophaga, 37, 545-554.
- Fast, P.G., 1981. The Crystal Toxin of *Bacillus thuringiensis*. In: Burges, H.D. (ed.), Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980. New York, London, Academic Press Inc., 223-248.
- Feitelson, J.S., Payne, J. ve Kim, L., 1992. *Bacillus thuringiensis*: Insects and Beyond, Bio/Technology, 10, 271-275.
- Feitelson, J.S., 1993. The *Bacillus thuringiensis* Family Tree, p. 63-71. In Kim, L. (ed.), Advanced Engineered Pesticides. Marcel Dekker. Inc., New York, N.Y.
- Feng, M. G., Poprawski, T. J. ve Khachatourians, G. G., 1994. Production, Formulation and Application of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* for Insect Control: Current Status, Biocontr. Sci. Technol., 4, 3-34.
- Ferron, P., Fargues, J. ve Riba, G., 1991. Fungi as Microbial Insecticides Against Pests, In "Handbook of Applied Mycology" (Arora, D. K., Ajelio, L. ve Mukerji, K. G., Eds.), 2, 665-706. Dekker, New York.
- Ferry N, and Edwards M.G, 2004. Gatehouse JA, Gatehouse AMR. Plant-insect interactions: molecular approaches to insect resistance. Curr Opin Biotechnol 15, 155-61.
- Fitt, G. P. ve O'brien, R. W., 1985. Bacteria Associated with Four Species of *Dacus* (Diptera: Tephritidae) and their Role in the Nutrition of the Larvae, Oecologia (Berl.), 67, 447-454.

- Furlong, M. J., Pell, J. K., Choo, O. P. ve Rahman, S. A., 1995. Field and Laboratory Evaluation of a Sex Pheromone Trap for the Autodissemination of the Fungal Entomopathogen *Zoophthora radicans* (Entomophtharales) by the Diamond-Back Moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae), Bull. Entomol. Res., 85, 331-337.
- Gaugler, R., 1997. Alternative Paradigms for Commercializing Biopesticides, Phytoparasitica, 25, 179-182.
- Georgis, R., 1997. Commercial Prospects of Microbial Insecticides in Agriculture, In “Microbial Insecticides: Novelty or Necessity?” (Evans, H. F., Chair), Proc. Br. Crop. Prot. Council Symp., 68, 243-252.
- Glazer, I. ve Lewis, E. E., 2000. Bioassays for Entomopathogenic Nematodes, In “Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes” (Navon, A. ve Ascher, K. R. S., Eds.), 229-247, CAB International Publishing.
- Goettel, M. S., Johnson, D. L. ve Inglis, G. D., 1995. The Role of Fungi in the Biological Control of Grasshoppers, Can. J. Bot., 73, 1, 51-575.
- Gokce, C., Sevim, A., Demirbag, Z. ve Demir, I., 2010. Isolation, characterization and pathogenicity of bacteria from *Rhynchites bacchus* (Coleoptera: Rhynchitidae) Biocontrol Science and Technology, 20, 9, 973-982.
- Goldberg, L.J. ve Margalit, J., 1977. A Bacterial Spore Demonstrating Rapid Larvicidal Activity against *Anopheles sergentii*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*., Mosq. News, 37, 355-358.
- Granados, R. R. ve Federici, B. A., 1986. The Biology of Baculoviruses, Vol. 2, Practical Applications for Insect Control, Boca Raton, FL.
- Gröner, A., 1986. Specificity and Safety of Baculoviruses, In “The Biology of Baculoviruses, Vol.2, Practical Applications for Insect Control” (Granados, R. R. ve Federici, B. A., Eds.), 177-202. Boca Raton, FL.
- Gumpert, J. ve Schwartz, W., 1962. Untersuchungen über die Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien, X. Die Symbiose der Triatominen 1. Aufzucht Symbiontenhaltiger und Symbiontenfreier Triatominen und Eigenschaften der bei Triatominen Vorkommenden Mikroorganismen, Z. Allg. Mikrobiol., 2, 209-302.
- Hagen, K. S., 1966. Dependence of the olive fruit fly, *Dacus oleae*, larvae on symbiosis with *Pseudomonas savastanoi* for the utilization of olive. Nature, 209, 423-425.
- Haiwen, Li., Freder, M., S., Bradleigh, V. ve Craig, J., 2005. Coates Isolation, characterization, and molecular identification of bacteria from the red imported fire ant (*Solenopsis invicta*) midgut, Journal of Invertebrate Pathology, 89, 203-209.
- Hajek, A. E. ve Leger, R. J., 1994. Interactions Between Fungal Pathogens and Insect Hosts, Ann. Rev. Entomol., 39, 293-322.

- Hajek, A. E., 1997. Ecology of Terrestrial Fungal Entomopathogens, In "Advanced in Microbial Ecology" (Jones, J. H., Ed.), 15, 193-249, Plenum Press, New York.
- Halda-Alija, L., 2004. Incidence of antibiotic-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter* species in freshwater wetlands, Letters in Applied Microbiology, 39, 445-450.
- Hamm, J. J., 1984. Invertebrate Pathology and Biological Control, Journal of Georgia Entomol. Soc., 19, 3, 6-13.
- Han E.N. ve Bauce E, 2000. Dormancy in the life cycle of the spruce budworm: physiological mechanisms and ecological implications. Recent Res Dev Entomol 3,43-54.
- Harger, J. D., 1987. Applied Epizootiology: Microbial Control of Insects, In "Epizootiology of Insect Diseases" (Fuxa, J. R. ve Tanada, Y., Eds.), 473-496, Wiley, New York.
- Hassani, M., Zimmermann, G., Vidal, S., 2000. *Paecilomyces fumosoroseus*: efficacy against the cotton pests *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae), *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) and effect of temperature on germination and mycelial growth. Bulletin OILB/SROP, 23, 2, 217-221.
- Heimpel, A. M., 1962. General Aspects of Bacteriological Control, Coll. Int. Pathol. Insects, Paris.
- Heimpel, A.M., 1967. A Taxonomic Key Proposed for the Species of "Crystalliferous" Bacteria. J. Invertebr. Pathol., 9, 364-375.
- Helmuth, H., 1956. Untersuchungen zur Bakteriensymbiose der Trypetiden (Diptera), Z Morphol Oekol Tiere., 44, 483-517.
- Hoffman, M. P. ve Frodsham, A. C., 1993. Naturel Enemies of Vegetable Insect Pests, Cooperative Extension, 63, Cornell University, Ithaca.
- Höfte, H. ve Whiteley HR., 1989. Insecticidal Crystal Proteins of *Bacillus thuringiensis*, Microbiol. Rev., 53, 242-255.
- Ignoffo, C.M, 1992. Environmental factors affecting persistence of entomopathogens. Florida Entomol 75, 516-25.
- Ince, I. A., Katı, H., Yilmaz, H., Demir, İ. ve Demirbağ, Z., 2008. Isolation and identification of bacteria from *Thaumetopoea pityocampa* Den. and Schiff. (Lep., Thaumetopoeidae) and determination of their biocontrol potential. World J Microbiol Biotechnol., 24, 3005-13015.

- Ivanov, G. M. ve Gukasjan, A. B., 1966. Charakteristika Nekatorych Stammov Roda *Pseudomonas* vydelennyh iz Nasekomyh, 135, In “Mikroorganizmy v Borbe s Vrediteljami Lesnogo Chozjajstva” (Gukasjan, A. B., Ed.), Nauka, Moskva, 259s.
- Jackson, T. A., Boucias, D. G. ve Thaler, J. O., 2001. Pathobiology of Amber Disease, Caused by *Serratia spp.*, in the New Zeland Grass Grub, *Costelytra zealandica*, J. Invertebr. Pathol., 78, 232-243.
- Jeyaprakash, A., Hoy, M. A. ve Allsopp, M. H., 2003. Bacterial Diversity in Worker Adults of *Apis mellifera capensis* and *Apis mellifera scutellata* (Insecta: Hymenoptera) Assessed Using 16S rRNA Sequences, J. Invert. Pathol., 84, 96-103.
- Kaelin, P., Morel, P. ve Gadani, F., 1994. Isolation of *Bacillus thuringiensis* from Stored Tobacco and *Lasioderma serricorne* (F.), Appl. Environ. Microbiol., 60, 19-25.
- Katı, H., K. Sezen, A.O. Beldüz ve Z. Demirbağ, 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, In “Manuel of Techniques in Insect Pathology” (Lacey, L. A., Ed.), 281-324, Academic Press, London.
- Kermarrec, A., Febvay G. ve Decharme, M., 1986. Fire Ants and Leaf-cutting Ants, Westview, Boulder, CO 339–355.
- Khan, H. K., Jayaraj, S. ve Gopalan, M., 1993. Muscardine Fungi for the Biological Control of Agroforestry Termite *Odontotermes obesus* (Rambur), Insect Sci. Appl., 14, 529-535.
- Klein, M. G. ve Kaya H. K., 1995. *Bacillus* and *Serretia* Species for Scarab control, Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 90, 87-95.
- Klein, M. G. ve Lacey, L. A., 1999. An Attactant Trap for Autodissemination of Entomopathogenic Fungi Into Populations of Japanese Beetle, *Papilla japonica* (Coleoptera: Scarabaediae), Biocontr. Sci. Technol., 9, 151-158.
- Knowles, B. H., 1994. Mechanism of Action of *Bacillus thuringiensis* Insecticidal  $\delta$ -endotoxin, In Advances in Insect Physiology, 24. Evans, P.D. (ed.), 275-308. Academic Press, London.
- Krieg, A., 1961. *Bacillus thuringiensis* Berliner, Über seine Biologie, Pathogenic und Adwendung in der Biologischen Scadlingsbekämpfung, Mitt. Biol., Bundesanst, Berlin-Dahlem, 79.
- Krieg, A., 1987. Diseases Caused by Bacteria and Other Prokaryotes, In “Epizootiology of Insect Diseases” (Fuxa, J. R. ve Tanada, Y., Eds.), 323-355, J. Wiley, New York.

- Kulkarni, N. S. ve Lingappa, S. 2001. Compatibility of entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson with a fungicide carbendazim. Karnataka Journal of Agricultural Sciences, 14, 3, 819-821.
- Kuzina, L. V., Peloquin, J. J., Vacek, D. C. ve Miller, T. A., 2001. Isolation and Identification of Bacteria Associated with Adult Laboratory Mexican Fruit Flies, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae), Curr. Microbiol., 42, 290-294.
- Lacey, L. A., Fransen, J. J. ve Carruthers, R., 1996. Global Distribution of Naturally Occurring Fungi of *Bemisia*, Their Biologies and Use as Biological Control Agents, In “*Bemisia*, 1995: Taxonomy, Biology, Damage and Management” (Gerling, D. ve Mayer, R., Eds.), 9, 401-433, Intercept, Andover.
- Lacey, L. A. ve Kaya, H. K. (Eds.), 2000. Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: Application and Evolution of Pathogens for Control of Insects and Other Invertebrate Pests, Kluwer Academic, Dordrecht.
- Lacey, L. A., Frutos, R., Kaya, H. K. ve Vail, P., 2001. Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future?, Biol. Control, 21, 230-248.
- Lampkin, N.H., 1994. Organic Farming: Sustainable Agriculture in Practice, The Economics of Organic Farming: An International Perspective, Ed:N.H. Lampkin and S. Padel, Guilford. Farming Press Books, Wharfedale Road, Ipswich IP1 4 LG, UK.
- Lechner, S., Mayr, R., Francis, K.P., Prüss, B.M., Kaplan, T., Wiessner-Gunkel, E., Stewart, G.S.A.B. ve Scherer, S., 1998. *Bacillus weihenstephanensis* sp. Nov. Is a New Psychrotolerant Species of the *Bacillus cereus* group, Int. J. Syst. Bacteriol., 48, 1373-1382.
- Lepesme, P., 1937. Sur la Presence du *Bacillus prodigious* chez le Criquet Pelerin (*Schistocerca gregaria* Forsk), Bul. Soc. Hist. Aft. N., 28, 406-411.
- Lian, C., Zhao, J., Zhang, Z. ve Liu, W., 2004. Genotype of *Candida* species associated with different conditions of vulvovaginal candidosis, Mycoses, 47, 495-502.
- Lipa, J. J. ve Wiland, E., 1972. Bacteria Isolated from Cutworms and their Infectivity to *Agrotis* sp., Acta Microbiologica, Polonica, Series B 4, 127-140.
- Lipa, J. J., 1975. An Outline of Insect Pathology, Warsaw, Poland.
- Liu, J., Pionar, G. O. ve Berry, R. E., 2000. Control of Insect Pests with Entomopathogenic Nematodes: The Impact of Molecular Biology and Phylogenetic Reconstruction, Ann. Rev. Entomol., 45, 287-306.
- Lüthy, P. ve Ebersold, H.R., 1981. The Entomocidal Toxins of *Bacillus thuringiensis*, Pharmacol. Ther., 13, 257-283.

- Lysenco, O., 1963. The Mechanism of Pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula, I. The Pathogenicity of Strain N-06 for Larvae of the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* (Linneaus), J. Insect Pathol., 5, 78-82.
- Lyudmila, V. Kuzina, John J. Peloquin, Don C. ve Vacek, Thomas A. 2000. Miller Department of Entomology, University of California—Riverside, Riverside, CA 92521, USA U.S. Department of Agriculture—APHIS, Mission Plant Protection Center, Mission, TX 78573, USA
- Maddox, J. V., 1987. Protozoan Diseases, In “Epizootiology of Insect Diseases” (Fuxa, J. R. ve Tanada, Y., Eds.), 417-452, Wiley, New York.
- Majumder, S. K., Muthu, M. ve Pingale, S. V., 1955. A Bacterial Disease of *Heliothis obsoleta* F., Curr. Sci. Bangalore, 24, 122.
- Maniania, N. K. ve Fargues, J., 1992. Susceptibility of *Mamestra brassicae* (L.) and *Spodoptera littoralis* (Boisd.) larvae (Lep., Noctuidae) to the Hyphomycetes *Paecilomyces fumosoroseus* (Brown and Smith) and *Nomurea rileyi* (Samson) attwo temperatures. Journal of Applied Entomology, 113, 5, 518-524.
- Manjula, K., Murty ve K. V. M. K. 2005. Efficacy of *Nomurea rileyi* against different instars of *Spodoptera litura* and *Helicoverpa armigera*. annals of plant protection sciences, 13, 2, 347-350.
- Martin, P.A.W. ve Travers, R.S., 1989. Worldwide Abundance and Distribution of *Bacillus thuringiensis* Isolates, Appl. Environ. Microbiol., 55, 2437-2442.
- Martinez, A. J., Robacker, D. C., Garcia, J. A. ve Esau, K. L., 1994. Laboratory and Field Olfactory Attraction of the Mexican Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) to Metabolites of Bacterial Species, Florida Entomologist, 77, 1, 117-126.
- Masarrat, H., 2007. Influence of host plants on susceptibility of *Helicoverpa armigera*, *Spodoptera litura* and *Spilarctia (Spilosoma) obliqua* to *Beauveria bassiana*. Annals of Plant Protection Sciences, 15, 1, 30-33.
- Masetti, A., De., Luigi, V. ve Burgio, G., 2008. Effects of nucleopolyhedrovirus based product on *Spodoptera littoralis*. Bulletion of Insectology, 61, 2, 299-302.
- McLaughlin, R. E. ve Keller, J. C., 1964. Antibiotic Control of an Epizootic Caused by *Serratia marcescens* Bizio in the Boll Weevil, *Anthonomus grandis* Boheman, J. Insect Pathol., 6, 481-185.
- Meadows, M.P., Ellis, D.J., Butt, J., Jarrett, P. ve Burges, H.D., 1992. Distribution, Frequency, and Diversity of *Bacillus thuringiensis* in an Animal Feed Mill, Appl. Environ. Microbiol., 58, 1344-1350

- Miller, R. J. ve Prior, C., 1994. Susceptibility of Ausrtalian Plague Locust, *Chortoicetes terminifera* and Wingless Grasshopper, *Phaulacridium vittatum*, to the Fungi *Metarhizium ssp.*, Biol. Control, 4, 132-137.
- Miller, R. J., 1997. Prospects for Biopesticides for Aphid Control, Entomophaga, 42, 227-239.
- Mohamed A.M., Elyassaki W.M., Salama M.A., Hamed M.S., Ageri, Ministry of Agriculture, Gize, Egypt, Dept. Of Entomology, Fac. Of Science, Ain Shams University, Cairo, Egypt.
- Morris, O. Protection of *B. thuringiensis* from inactivation by sunlight. Can Entomol 1983;115:1215–27.
- Nagaraja, S. D., Patil, R. K., Ramegowda, G. K. ve Kalappanavar, I. K., 2006. Impact of different formulations of *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson on infectivity to *Spodoptera litura* (F.) and *Helicoverpa armigera* (Hub.) under laboratory conditions. Karnataka Journal of Agricultural Sciences, 19, 2, 419-421.
- Nakamura, L.K., 1998. *Bacillus pseudomycoides* sp., Nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 48, 1031-1035.
- Navon, A. ve Klein, M., Braun, S., 1989. *Bacillus thuringiensis* potency bioassays *Heliothis armigera*, *Earias insulana*, and *Spodoptera littoralis* larvae based on standardized diets., Journal of invertebrate pathology 55, 387-393.
- Nishiitsutsuji-Uwo, J. Ohsawa A ve Nishimura MS. Factors affecting the insecticidal activity of delta endotoxin of *Bacillus thuringiensis*. J Invertebr Pathol 1976, 29, 162–9.
- O’Callaghan, M. ve Jackson, T. A., 1993. Isolation and Enumeration of *Serratia entomophila*, a Bacterial Pathogen of the New Zealand Grass Grub, *Costelytra zealandica*, J. Appl. Bacteriol., 75, 307-314.
- Oğurlu, İ., 2000. Biyolojik Mücadele, Süleyman Demirel Üniversitesi Yayın No: 8, Isparta.
- Osborn F, Berlioz L, Vitelli-Flores J, Monsalve W, Dorta B, Lemoine VR (2002) Pathogenic effects of bacteria isolated from larvae of *Hylesia metabus* Crammer (Lepidoptera: Saturniidae). J Invertebr Pathol 80:7-12. Doi:10.1016/S0022-2011(02) 00037-X
- Osman, M. A. M., Mahmoud, M. F., 2009. Effects of bio-rational insecticides on selected biological aspects of the Egyptian cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Plant Protection Research, 49, 2, 136-140.
- Peter, G., 1984. Plant Pests and Their Control, Fenemore, London.
- Poinar, G. O., 1978. Identification of the Groups of Insect Pathogens, Plenum Press, New York.

- Poinar, G. O., 1979. Nematodes for Biological Control of Insects, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Poinar, G. O., 1990. Taxonomy and Biology of Steinernematidae and Heterorhabdidae, In “Entomopathogenic Nematodes in Biological Control” (Gaugler, R. ve Kaya, H. K., Eds.), 23-61, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Rajesh A. ve Tiwary, B. N., 2009. Pathogenicity of entomopathogenic fungi to eggs and larvae of *Spodoptera litura*, the common cutworm. Biocontrol Science and Technology, 19, 9/10, 919-929.
- Reeves, W. K. ve Nayduch, D., 2002. Pathogenic *Bacillus* from a Larva of the *Simulium tuberosum* Species Complex (Diptera: Simuliidae), J. Invertebr. Pathol., 79, 126-128.
- Renu, P. ve Wajid, H., 2009. Pathogenicity of entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* against tobacco caterpillar, *Spodoptera litura* (Fabricius). Trends in Biosciences, 2, 1, 29-30.
- Rubio, R. E. P. ve McFadden, M., 1966. Isolation and identification of bacteria in the digestive tract of the Mexican fruit fly *Anastrepha ludens*. Ann Entomol Soc Am., 59, 1015-1016.
- Sacchi, C. T., Whitney, A.M., Mayer, L. W., Morey, R., Steigerwalt, A., Boras, A., Weyant, R.S. ve Popovic, T., 2002. Sequencing of 16S rRNA gene: a rapid tool for identification of *Bacillus anthracis*, Emerg. Infect. Dis., 8, 1117-1123.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F. ve Maniatis, T., 1989. Molecular Cloning - A Laboratory Manual, Baskı: 2, Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York.
- Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D. R. ve Deon, D. H., 1998. *Bacillus thuringiensis* and its Pesticidal Proteins, Microbiol. Mol. Biol. Rev., 62, 775-806.
- Sevim, A., Demirbağ, Z. Demir, İ., 2010. A new study on the bacteria of *Agrotis segetum* Schiff. (Lepidoptera: Noctuidae) and their insecticidal activities, Turk J Agric For 34, 333-342.
- Sezen, K. ve Demirbağ, Z., 1999. Isolation and Insecticidal Activity of Some Bacteria from the Hazelnut Beetle (*Balaninus nuceum* L.), Appl. Entomol. Zool., 34, 85-89.
- Sezen, K., Demir, İ. ve Demirbağ, Z., 2004. Studies of the bacterial flora as a biological control agent of the Agelastica alni L. (Coleoptera: Chrysomelidae), Biologia, 2004, 59, 3, 327-331.
- Sezen, K., Demir, İ., Katı, H. and Demirbağ, Z., 2005. Investigations on bacteria as a potential biological control agent of summer chafer, *Amphimallon solstitiale* L. (Coleoptera: Scarabaeidae), Journal of Microbiology, 43, 5, 463-468.

- Sezen, K., Demir, İ. ve Demirbağ, Z., 2007. Identification and pathogenicity of entomopathogenic bacteria from common cockchafer, *Melolontha melolontha* L. (Col., Scarabaeidae), New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 35, 79-85.
- Sezen, K., Katı, H., Nalçacıoğlu, R., Muratoğlu, H. and Demirbağ, Z., 2008. Identification and pathogenicity of bacteria from european shot-hole borer, *Xyleborus dispar* Fabricius (Coleoptera: Scolytidae), Annals of Microbiology, 58, 2, 173-179.
- Sezen, K., Yaman, M. ve Demirbağ, Z., 2001b. Insecticidal Potential of *Serratia marcescens* Bn10, Biologia, 56, 333-336.
- Sharma, A. N., Ansari, M. M., 2007. Potential of naturally occurring bio-control agents of lepidopteran defoliators infesting soybean. Soybean Research, 5, 84-86.
- Sikorowski, P. P., Nebeker, T. E., Lawrence, A. M. ve Price, T. S., 1985. Virus and Virus-Like Particle Found in Southern Pine Beetle Adults in Mississippi and Georgia, Eastern Forests USDA Miscellaneous, 675, Entomol. Soc., 15, 235-241.
- Smedley, D.P. ve Ellar, D.J., 1996. Mutagenesis of 3 Surface-Exposed Loops of a *Bacillus thuringiensis* Insecticidal Toxin Reveals Residues Important for Toxicity, Recognition and Possibly Membrane Insertion, Microbiology, 142, 1617-1624.
- Smirnoff WA, Effects of volatile substances released by foliage of *Abies balsamea*. J Invertebr Pathol 1972, 19, 1, 32-5.
- Smith, R.A. ve Couche, G.A., 1991. The Phyllophane as a Source of *Bacillus thuringiensis* Variants, Appl. Environ. Microbiol., 57, 311-315.
- 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.
- Sneath, A. P., 1968. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2, Sneath, A. P., Mair, N. S., Sharge, M. S. ve Holt, J. G., Williams and Wilkins, Baltimore.
- Springer, B., Stockman, L., Teschner, K., Roberts, G. D., ve Bottger, E. C., 1996. Two-laboratory collaborative study on identification of mycobacteria: molecular versus phenotypic methods, J. Clin. Microbiol., 34, 296-303.
- Sramova, H., Daniel, M., Absolonova, V., Dedicova, D., Jedliekova, Z., Lhotova, H., Petras, P. ve Subertova, V., 1992. Epidemiological role of arthropods detectable in health facilities, Journal of Hospital Infection, 20, 281-292.
- Sree, K. S., Padmaja, V., Murthy, Y. L. N., 2008. Insecticidal activity of destruxin, a mycotoxin from *Metahrhizium anisopliae* (Hypocreales), against *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) larval stages. Pest Management Science, 64, 2, 119-125.
- St. Leger, R. J. ve Roberts, D. W., 1997. Engineering Improved Mycoinsecticides, Trends Biotechnol., 15, 83-85.

- Steinhaus, E. A. ve Marsh, G. A., 1962. Report of Diagnosis of Diseased Insects, 1951-1961, Hilgardia, 33, 349.
- Steinhaus, E. A., 1951. Possible Use of *Bacillus thuringiensis* Berliner as an aid in the Biological Control of the Alfalfa Caterpillar, Hilgardia, 20, 359.
- Steinhaus, E. A., 1956. Microbial Control: The Emergence of an Idea, J. Agric. Sci., 26, 107-160.
- Steinhaus, E. A., 1959. *Serratia marcescens* Bizio as an Insect Pathogen, Hilgardia, 28, 351-380.
- Tanada, Y., 1956. An Annotated List of Infectious Diseases of Insects in Hawaii, Part II, Proc. Hawain Ent. Soc., 16, 149.
- Turnbull, P., Kramer, J. ve Melling, J., 1990. *Bacillus*. In: Principles of Bacteriology, Virology and Immunity, Vol. 2, Systematic Bacteriology, 8th edn. Parker, M.T. Duerden, B.I., (eds.), 187-210. Edward Arnold, London.
- URL-1, <http://www.tegim.com/egitim/dosyalar/szbolumler/ziraat/715Turkiyedealanlarinin-azalmasi.html>. 10 Mart 2011
- URL-2, [http://www.kkgm.gov.tr/birim/bitkikoruma/teknik\\_talimat/pamuk\\_hast\\_zar/pamuk\\_yaprakkurdu.pdf](http://www.kkgm.gov.tr/birim/bitkikoruma/teknik_talimat/pamuk_hast_zar/pamuk_yaprakkurdu.pdf). 10 Mart 2011
- URL-3, [http://www.google.com.tr/imgres?imgurl=http://www.opennatur.com/media/imgs/adulto\\_spodoptera\\_littoralis\\_rosquilla\\_negra.jpg&imgrefurl=http://www.opennatur.com/es\\_spodoptera\\_littoralis\\_rosquilla\\_negra.html&usg=\\_\\_0mjvGjxR3yrjXtol5Nlitk1iv0Q=&h=216&w=329&sz=18&hl=tr&start=12&zoom=1&tbnid=1pelrLCiwmng8M:&tbnh=143&tbnw=189&ei=\\_aCPTdSvAo\\_CtAbzn\\_WWCg&prev=/search%3Fq%3Dspodoptera%2Blittoralis%26um%3D1%26hl%3Dtr%26sa%3DN%26rlz%3D1R2ACPW\\_trTR387%26biw%3D1004%26bih%3D629%26tbm%3Disch&um=1&itbs=1&iact=rc&dur=330&oei=4qCPTYWLtHLsgbw0ZSUCg&page=2&ndsp=12&ved=1t:429,r:5,s:12&tx=138&ty=107](http://www.google.com.tr/imgres?imgurl=http://www.opennatur.com/media/imgs/adulto_spodoptera_littoralis_rosquilla_negra.jpg&imgrefurl=http://www.opennatur.com/es_spodoptera_littoralis_rosquilla_negra.html&usg=__0mjvGjxR3yrjXtol5Nlitk1iv0Q=&h=216&w=329&sz=18&hl=tr&start=12&zoom=1&tbnid=1pelrLCiwmng8M:&tbnh=143&tbnw=189&ei=_aCPTdSvAo_CtAbzn_WWCg&prev=/search%3Fq%3Dspodoptera%2Blittoralis%26um%3D1%26hl%3Dtr%26sa%3DN%26rlz%3D1R2ACPW_trTR387%26biw%3D1004%26bih%3D629%26tbm%3Disch&um=1&itbs=1&iact=rc&dur=330&oei=4qCPTYWLtHLsgbw0ZSUCg&page=2&ndsp=12&ved=1t:429,r:5,s:12&tx=138&ty=107). 10 Mart 2011
- URL-4, [http://www.google.com.tr/imgres?imgurl=http://www.hortnet.co.nz/publications/hortfacts/images/w401009.gif&imgrefurl=http://www.hortnet.co.nz/publications/hortfacts/lcindex.htm&usg=\\_\\_4LvGONzbDYxJ0VoW09ojsA8Qh0s=&h=571&w=470&sz=109&hl=tr&start=0&zoom=1&tbnid=k26WkK6VOdGTuM:&tbnh=172&tbnw=142&ei=0aGPTbmwDI6EswbqncCLCg&prev=/images%3Fq%3Dw401009%26um%3D1%26hl%3Dtr%26sa%3DG%26rlz%3D1R2ACPW\\_trTR387%26biw%3D1004%26bih%3D629%26tbm%3Disch&um=1&itbs=1&iact=rc&dur=150&oei=0aGPTbmwDI6EswbqncCLCg&page=1&ndsp=14&ved=1t:429,r:0,s:0&tx=66&ty=112](http://www.google.com.tr/imgres?imgurl=http://www.hortnet.co.nz/publications/hortfacts/images/w401009.gif&imgrefurl=http://www.hortnet.co.nz/publications/hortfacts/lcindex.htm&usg=__4LvGONzbDYxJ0VoW09ojsA8Qh0s=&h=571&w=470&sz=109&hl=tr&start=0&zoom=1&tbnid=k26WkK6VOdGTuM:&tbnh=172&tbnw=142&ei=0aGPTbmwDI6EswbqncCLCg&prev=/images%3Fq%3Dw401009%26um%3D1%26hl%3Dtr%26sa%3DG%26rlz%3D1R2ACPW_trTR387%26biw%3D1004%26bih%3D629%26tbm%3Disch&um=1&itbs=1&iact=rc&dur=150&oei=0aGPTbmwDI6EswbqncCLCg&page=1&ndsp=14&ved=1t:429,r:0,s:0&tx=66&ty=112). 10 Mart 2011

URL-5, [http://www.google.com.tr/imgres?imgurl=http://c.photoshelter.com/img-get/I0000qa\\_lyhToVIE/s&imgrefurl=http://www.photoshelter.com/image/I0000qa\\_lyhToVIE&usg=\\_\\_P8iCpnmaPQS1Cj1WPWCYq3Tyoio=&h=489&w=500&sz=210&hl=tr&start=36&zoom=1&tbnid=xFLYESTgklWkdM:&tbnh=158&tbnw=130&ei=QLJ2TaeAHsnHswazjrmRBQ&prev=/images%3Fq%3Dspodoptera%2Blittoralis%26um%3D1%26hl%3Dtr%26sa%3DN%26rlz%3D1W1ACPW\\_tr%26biw%3D1004%26bih%3D629%26tbs%3Disch:10%2C1887&um=1&itbs=1&biw=1004&bih=629&iact=rc&dur=203&oei=NbJ2Tb2yBIjKswbIzrXyBA&page=4&ndsp=14&ved=1t:429,r:10,s:36&tx=26&ty=114](http://www.google.com.tr/imgres?imgurl=http://c.photoshelter.com/img-get/I0000qa_lyhToVIE/s&imgrefurl=http://www.photoshelter.com/image/I0000qa_lyhToVIE&usg=__P8iCpnmaPQS1Cj1WPWCYq3Tyoio=&h=489&w=500&sz=210&hl=tr&start=36&zoom=1&tbnid=xFLYESTgklWkdM:&tbnh=158&tbnw=130&ei=QLJ2TaeAHsnHswazjrmRBQ&prev=/images%3Fq%3Dspodoptera%2Blittoralis%26um%3D1%26hl%3Dtr%26sa%3DN%26rlz%3D1W1ACPW_tr%26biw%3D1004%26bih%3D629%26tbs%3Disch:10%2C1887&um=1&itbs=1&biw=1004&bih=629&iact=rc&dur=203&oei=NbJ2Tb2yBIjKswbIzrXyBA&page=4&ndsp=14&ved=1t:429,r:10,s:36&tx=26&ty=114). 10 Mart 2011

URL-6, [http://www.google.com.tr/imgres?imgurl=http://www.ibreliler.com/V2/attachments/zararlilarvehastaliklar/6196d1275762375tpamukyaprakkurduspodopteralittoralisesim8.jpg&imgrefurl=http://www.ibreliler.com/V2/zararlilarvehastaliklar/1279pamukyaprakkurduspodopteralittoralis.html&usg=\\_\\_85rk4Jfwovx0p2XSbKEbVeVOTk=&h=66&w=100&sz=3&hl=tr&start=36&zoom=1&tbnid=UIZYrBNv0G\\_KKM:&tbnh=60&tbnw=92&ei=k7J2TeWjNIXusga7m6iABQ&prev=/images%3Fq%3Dspodoptera%2Blittoralis%26um%3D1%26hl%3Dtr%26sa%3DN%26rlz%3D1W1ACPW\\_tr%26biw%3D1004%26bih%3D629%26tbs%3Disch:1&um=1&itbs=1&iact=rc&dur=187&oei=NbJ2Tb2yBIjKswbIzrXyBA&page=4&ndsp=14&ved=1t:429,r:2,s:36&tx=58&ty=21](http://www.google.com.tr/imgres?imgurl=http://www.ibreliler.com/V2/attachments/zararlilarvehastaliklar/6196d1275762375tpamukyaprakkurduspodopteralittoralisesim8.jpg&imgrefurl=http://www.ibreliler.com/V2/zararlilarvehastaliklar/1279pamukyaprakkurduspodopteralittoralis.html&usg=__85rk4Jfwovx0p2XSbKEbVeVOTk=&h=66&w=100&sz=3&hl=tr&start=36&zoom=1&tbnid=UIZYrBNv0G_KKM:&tbnh=60&tbnw=92&ei=k7J2TeWjNIXusga7m6iABQ&prev=/images%3Fq%3Dspodoptera%2Blittoralis%26um%3D1%26hl%3Dtr%26sa%3DN%26rlz%3D1W1ACPW_tr%26biw%3D1004%26bih%3D629%26tbs%3Disch:1&um=1&itbs=1&iact=rc&dur=187&oei=NbJ2Tb2yBIjKswbIzrXyBA&page=4&ndsp=14&ved=1t:429,r:2,s:36&tx=58&ty=21). 10 Mart 2011

URL-7, <http://www.ziraatciyiz.biz/pamuk-prodenya-mucadelesi-t1282.html>. 10 Mart 2011

URL-8, [http://www.google.com.tr/imgres?imgurl=http://web.utk.edu/~jurat/Pictures/Research/Btresarchpage/modeofaction.jpg&imgrefurl=http://web.utk.edu/~jurat/Btresarchtable.html&usg=\\_\\_4YGN2e\\_S7JdAN0r5rVeSg6eDFeA=&h=1573&w=2392&sz=1388&hl=tr&start=12&zoom=1&tbnid=AsMozVj0CWkiM:&tbnh=157&tbnw=239&ei=46d3Tfu9LILswbv8L3BA&prev=/images%3Fq%3Dmodeofaction%26um%3D1%26hl%3Dtr%26rlz%3D1R2ACPW\\_trTR387%26biw%3D1004%26bih%3D629%26tbs%3Disch:1&um=1&itbs=1&iact=rc&dur=337&oei=26d3Teq4OZDPsga3mMTmBA&page=2&ndsp=12&ved=1t:429,r:8,s:12&tx=98&ty=104](http://www.google.com.tr/imgres?imgurl=http://web.utk.edu/~jurat/Pictures/Research/Btresarchpage/modeofaction.jpg&imgrefurl=http://web.utk.edu/~jurat/Btresarchtable.html&usg=__4YGN2e_S7JdAN0r5rVeSg6eDFeA=&h=1573&w=2392&sz=1388&hl=tr&start=12&zoom=1&tbnid=AsMozVj0CWkiM:&tbnh=157&tbnw=239&ei=46d3Tfu9LILswbv8L3BA&prev=/images%3Fq%3Dmodeofaction%26um%3D1%26hl%3Dtr%26rlz%3D1R2ACPW_trTR387%26biw%3D1004%26bih%3D629%26tbs%3Disch:1&um=1&itbs=1&iact=rc&dur=337&oei=26d3Teq4OZDPsga3mMTmBA&page=2&ndsp=12&ved=1t:429,r:8,s:12&tx=98&ty=104). 10 Mart 2011

Ünal, G., 1998. Zirai Mücadele İlaçları Toksikolojisi ve Çevre, Ankara Zirai Mücadele Enstitüsü Seminer Notları, Ankara.

Vega, F. E., Dowd, P. F. ve Bartelt, R. J., 1995. Dissemination of Microbial Agents Using an Autoinoculating device and Several Insect Species as Vectors, Biol. Control, 5, 545-552.

Vega, F. E., Dowd, P. F., Lacey, L. A., Jackson, D. M. ve Klein, M. G., 2000. Dissemination of Beneficial Microbial Agents by Insects, In "Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: Application and Evaluation of Pathogens for Control of Insects and Other Invertebrate Pests" (Lacey, L. A. ve Kaya, H. K., Eds.), 152-177, Kluwer Academic, Dordrecht.

- Visser, B., Bosch, D. ve Honée, G., 1993. Domain-Function Studies of *Bacillus thuringiensis* Crystal Proteins: A Genetic Approach. In: Entwistle, P.F., Cory, J.S., Bailey, M.J., Higgs, S. (eds.), *Bacillus thuringiensis*, an Environmental Pesticide: Theory and Practice. Chichester, New York, Toronto, Wiley and Sons, 71-88.
- Waheed, I.B. ve Kogan, M., 2003. Integrated Plant Protection Center (IPPC) Oregon State University, Corvallis. *Bacillus thuringiensis*-Based Biological Control of Insect Pests. <http://www.ippc.orst.edu/dir/microbial/bt>
- Weeden, C.R., Shelton, A.M., ve Hoffman, M.P., 2007. Biological Control: A Guide to Natural Enemies in North America. Available from URL:<http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol>.
- Weiser, J., 1969. An Atlas of Insect Diseases, Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague.
- Woese, C. 1990. *Prokaryote Systematics: The Evolution of a Science* (second ed.), Prokaryotes, 3–18.
- Woods, S. A. ve Elkinton, J. S., 1987. Biomodal Patterns of Mortality from Nuclear Polyhedrosis Virus in Gypsy Moth (*Lymantria dispar*) Populations, J. Invertebr. Pathol., 50, 151-157.
- Yang, X., Lin, H., Li, M.Y., Wu, S., 2007. Cultural characteristics of *Nomuraea rileyi* Nr05 and its virulence to *Spodoptera litura*. Chinese Journal of Biological Control, 23, 1, 44-48.
- Yu H, Wang Z, Liu L, Xia Y, Cao Y, Yin Y (2008) Analysis of intestinal microflora in *Hepialus gonggaensis* (Lepidoptera: Hepialidae). Curr Microbial 56:391-396. Doi:10.1007/s00284-007-9078-4
- Zimmermann, G., 1993. The Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* and its Potential as a Biocontrol Agent, Pestic. Sci., 37, 375-379.
- Zukowski, K., 1995. Laboratory Examination of the Effectiveness of New Biological Preparations for Reducing Populations of Cockroaches (*Blattella germanica* L.), Rocz. Panstw. Zakl. Hig., 46, 293-297.

## 8. EKLER

### Ek 1., Besiyeri, Ayıraç ve Boyaların Hazırlanışı

#### Ek 1. 1., Besiyerlerinin Hazırlanışı

Nişasta Agar: 1g patates nişastası 10 ml soğuk ddH<sub>2</sub>O'da çözülüp 100 ml nütrient agarla karıştırıldı ve otoklavlanarak steril edildi.

Nütrient Agar (NA): 5 g pepton, 3 g beef extract, 15 g agar 1000 ml ddH<sub>2</sub>O'da çözüldü; otoklavlanarak steril edildi. Çalışmada ayrıca ticari olarak satılan nütrient agar da kullanıldı.

Nütrient Broth (NB): 5 g pepton, 3 g beef extract, 1 g potasyum nitrat 1000 ml ddH<sub>2</sub>O'da çözüldü; pH'ı 7,0'a ayarlanarak otoklavda steril edildi.

Sabouraud Dextroz Agar: 10 g pepton, 40 g dextroz, 15 g agar 1000 ml ddH<sub>2</sub>O'da

Tryptic Soy Agar (TSA): 40 g hazır besiyer 1000 ml ddH<sub>2</sub>O'da çözüldü; otoklavlanarak steril edildi.

#### Ek 1.2., Ayıraçlar ve Boyaların Hazırlanışı

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

Bakır Sülfat (CuSO<sub>4</sub>) Solüsyonu: 20 g bakır sülfat (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O) 80 ml suda çözülerek hazırlandı.

Dimetil- $\alpha$ -Naftilamin: 5 g  $\alpha$ -naftilamin 1000 ml ve 5 N'lik asetik asitte çözülerek hazırlandı.

Gram Iyodu: 1 g iyot ve 2 g potasyum iyodür (KI) 5 ml ddH<sub>2</sub>O'da çözüldü; üzerine 250 ml ddH<sub>2</sub>O ve 60 ml % 5'lik sodyum bikarbonat (NaHCO<sub>3</sub>) ilave edildi.

Katalaz Ayıracı: Ayıraç olarak % 10'luk hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) çözeltisi kullanıldı.

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

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

Malaşit Yeşili: 5 g malaşit yeşili 100 ml ddH<sub>2</sub>O'da çözüldü; süzgeç kağıdı yardımıyla süzülerek kullanıldı.

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

Safranin: 2,5 g safranin O, 100 ml %95'lik etanol ve 500 ml ddH<sub>2</sub>O karıştırılarak hazırlandı.

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

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

Vogus-Proskauer-II Ayıracı: 40 g KOH hızlı bir şekilde 100 ml'den az ddH<sub>2</sub>O'da çözüldü; soğutuldu ve ddH<sub>2</sub>O ile 100 ml'ye tamamlandı; hazırlandıktan 7-8 saat sonra kullanıldı.

## Ek 2., Mc FARLAND Standart Solusyonları

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

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

Barium Chloride, 0,048M solution 0,5 ml

Sulfuric Acid, 0,18M solution 99,5 ml

O.D at 625nm 0,08-0,1

**1,0 Mc Farland** Standardı içeriği

Barium Chloride, 0,048M solution 1,0 ml

Sulfuric Acid, 0,18M solution 99,0 ml

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

**2,0 Mc Farland** Standardı içeriği

Barium Chloride, 0,048M solution 2,0 ml

Sulfuric Acid, 0,18M solution 98,0 ml

O.D. at 625 nm 0,32-0,4

**3,0 Mc Farland** Standardı içeriği

Barium Chloride, 0,048M solution 3,0 ml

Sulfuric Acid, 0,18M solution 97,0 ml

O.D. at 625 nm 0,48-0,6

**4,0 Mc Farland** Standardı içeriği

Barium Chloride, 0,048M solution 4,0 ml

Sulfuric Acid, 0,18M solution 96,0 ml

O.D. at 625 nm 0,64-0,8

**5,0 Mc Farland** Standardı içeriği

Barium Chloride, 0,048M solution 5,0 ml

Sulfuric Acid, 0,18M solution 95,0 ml

O.D. at 625 nm 0,8-1,0

### **Ek 3., Elde Edilen İzolatların 16S rRNA Gen Sıraları**

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

TTAGGCTGCGGGAGGCTACACATGACAAGCCGAGGGGTACGATTCTTTCGGGA  
 ATCTGAGACCGGCGCACGGGTGCGTAACGCGTATGCAACTTGCCCTACTGAAA  
 AGGATAGCCCTTCGAAAGGAGGATTAATACTTTATAACAGATTGAATGGCATC  
 ATTTAATTTTGAAAGATTTATCGCAGTAGGATAGGCATGCGTAAGATTAGTTA  
 GTTGGAGAGGTAACGGCTCACCAAGACGATGATCTTTAGGGGGCCTGAGAGG  
 GTGAACCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGC  
 AGTGAGGAATATTGGACAATGGGTGGAAGCCTGATCCAGCCATCCCGCGTGTA  
 GGACGACTGCCTTATGGGTTGTAACTACTTTTATCTGGGGATAAACCTACTCA  
 CGTGTGAGTAGCTGAAGGTACCAGAAGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCA  
 GCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGTTTAA  
 AGGGTCCGTAGGCGGATTAATCAGTCAGTGGTGAAATCCCGCAGCTTAACTGT  
 GGAAGTGCATTGATACTGTTAGTCTTGAGTGATGTTGAAGTGGCTGGAATGT  
 GTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGATATTACGCAGAACACCAATTGCGAAGGC  
 AGGTCATAAGTATCAACTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGGAGCGAACA  
 GGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATACTTGCTGTTGGG  
 GTTTCGGCTTCAGTGGCTAAGCGAAAGTTATAAGTATCCCACCTGGGGAGTAC  
 GTTCGCAAGAATGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGG  
 AGCATGTGGTTTAATTCGATGATACGCGAGGAACCTTACCAAGGCTTAAATGC  
 ATAATGACAGATCTAGAAATAGATTTTTCTTCGGACAGAATGCAAGGTGCTGC  
 ATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGCCGTGAGGTGTTAGGTAAAGTCCTGCAACGAGC  
 GCAACCCCTATCATTAGTTGCCAGCGTTTAAAGACGGGGACTCTAATGAGACT  
 GCCGGTGCAAACCGCGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCACGGCCCT  
 TACGTCTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTAAGTACAGAGGGCAGCTACTT  
 GGCAACAAGATGCGAATCTCAAAAACCTTATCTCAGTTCGGATTGGAGTCTGCA  
 ACTCGACTCTATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCATATCAGCCATGATGCG  
 GTGAATACTGTACCGG

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

CGGCAGCCGGTACCTACGGACGAGTCGAGCGGTAGCCAGAGAGCTTGCTAATC  
 GGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGGAG  
 GGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAA  
 AGTGGGGGACCTTCGGGCCTCATGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCT  
 GGTAGGTGAGGTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGG  
 ATGACCAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAG  
 CAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGT  
 GTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGATA  
 AGGTAAATAACCTTGTCGATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACT  
 CCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACT  
 GGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGGC  
 TCAACCTGGGAAGTGCATTCGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGAGAGGGGGG  
 TAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTG  
 GCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGG  
 AGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGATTG  
 GAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGC

CTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGC  
 ACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTG  
 GTCTTGACATCCACAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACCTGT  
 GAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAA  
 GTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTAGGCCGGGAA  
 CTCAAAGGAGACTGCCAGTGATATACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAG  
 TCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAA  
 AGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCC  
 GGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGTAG  
 ATCAGAATGCTATATGGAATACGTGATCTGA

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

CGTCAGACGGCCTACCACCTGCAAGTCGAACGGTAACAGGAAGCAGCTTGCTG  
 CTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGG  
 AGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACC  
 AAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAG  
 CTAGTAGGTGGGGTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGA  
 GGATGACCAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGC  
 AGCAGTGGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGT  
 GTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGGT  
 AAGGTTAATAACCTTGCCGATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAAC  
 TCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTAC  
 TGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGG  
 CTCAACCTGGGAACTGCATTGAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGG  
 GTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGT  
 GGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGG  
 GAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGACTT  
 GGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCG  
 CCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCG  
 CACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCT  
 ACTCTTGACATCCAGAGAACTTAGCAGAGATGGTTTGGTGCCTTCGGGAACCTC  
 TGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAA  
 AGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTAGGCCGGGA  
 ACTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAA  
 GTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACA  
 AAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCGTCGTAGTC  
 CGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTA  
 GATCAGAATGCTCGCTGGCTTGAAGTGGATCAT

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

ACGGTCGGCGCTACCATACTGGCAAGTCGAGCGGTAACACAGAGAGCTTGCTC  
 TCGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGG  
 AGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACC  
 AAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCATGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAG  
 CTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGA  
 GGATGACCAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGC  
 AGCAGTGGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGT

GTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGCGTT  
AAGGTTAATAACCTTGGTGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAAC  
TCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTAC  
TGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGG  
CTCAACCTGGGAACCTGCATTTCGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGG  
GTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGT  
GGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGG  
GAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGACTT  
GGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCG  
CCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCG  
CACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCT  
ACTCTTGACATCCAGAGAACTTAGCAGAGATGCTTTGGTGCCTTCGGGAACCTCT  
GAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAA  
GTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTTAGGCCGGGAA  
CTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAG  
TCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAA  
AGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCC  
GGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGTAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTA  
GATCAGAAACCTcGCTTCTAAGAGTTATCA

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

AGCGGGCTGAGGCATACACGTGCAGTCGAACGATGAATCCCAGGCTGGCTCTG  
GTGGAGAGTGTCTGAAGGGGTGAGTGACGCGTGAGTGGCGGCCCCCTGGTTCTGG  
GATATGCGGGGGGTACTGGATCTACCACCGAATATGACTGCGGAACGAAGGTA  
CTGTGGTGAAATTATTGGGTGTTGGGGGATGGACTCTCGCCGCGGCGGTCCGT  
TGGTGAGGTAATGCGTGCACCCGCGGACGCGTGACAGCCAGGGCCGCAGGGT  
GATCGGCCACTTCGGTATCGACCCGGAGCCTCCAGAAGGAACTGATGAAGTCC  
TCGGGAAGGTTTCGCGGATGATCCCGCACCGGCTGCAAGCCACCCAACCGATGG  
ACGCCCCGCTTTCCCATCACTAACCTCTTCCACAAGAAAATACGAGCATGTCCCA  
AAACATCCACAGCAAACCCCTTCCCAATCCCTACCATCCCCAACAAATGTTCA  
GACGTGATATCTTTTTCCATAATATATTGGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCAGTT  
TGTCGCGTCTGCCGTGAAAGTCCGAGGCTCAACCTCGGATCTGCGGTGGGTAC  
GGGCAGACTAGAGTGATGTAGGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGA  
AATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGATCGCGAAGGCAGGTCTCTGGGCATT  
TACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCTAACACGATTAGATACCCTG  
GTAGTCCATGCCGTAAACATTGGGCACTAGGTGTGGGGGGACATTCCACGTTT  
TCCGCACCATAGCTAACACATAAGTGCCCCGCCAGAGGAGTACGGCCGCGGGG  
CTACAAACTCAAAGGGAGTGGACGGGCGGCCCCGCACAAGCGGGCGGAGCATG  
CTGAATAATTCGATGCACCCGAACAACCCTAACGAAGGCATGACATACGGCGA  
AGGCAGGTCTCTGTGCATTTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCGA  
ACAGGATGAGATACCATGGTAGTCCATGCCGTAAACGTTGGGGCACTAGCTGTG  
GGGGACATTCCACGTTTTCCGCGCCGTAGCTAACGCATTAAGTGCCCCGCTTGC  
GGAGTACGGCCGCAAGGCTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAA  
GCGGCGGAGCGTGCGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCT  
TGACATGTTCCAGACCGGGCTAGAGATAGTCCTTCCCTTCGGGGGCTGGTTCACA

GGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGC  
AACGAGCGCAACCCTCGTTCCATGTTGCCAGCACGTAGTGGTGGGGACTCATG  
GGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCA  
TGCCCCTTATGTCTTGGGCTTCACGCATGCTACAATGGCCGGTACAATGGGTTG  
CGATACTGTGAGGTGGAGCTAATCCCTAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGG  
GTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAA  
CGCTGCGGTGAATACGTTCCGTGCAGGATCCCGGCCCGTG

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

CGTCGGACGCCTACCTACTGACAAGTCGAGCGGTAGCACAGAGAGCTTGCTCT  
CGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGGA  
GGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCA  
AAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCATGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGC  
TGGTAGGTGGGGTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAG  
GATGACCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCA  
GCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTG  
TGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGATA  
AGGTTAATAACCTTGTGCGATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACT  
CCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACT  
GGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGGC  
TCAACCTGGGAACTGCATTCGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGG  
TAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTG  
GCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGG  
AGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGATTG  
GAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGC  
CTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGC  
ACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTG  
GTCTTGACATCCACAGAACTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACTGT  
GAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAA  
GTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTTAGGCCGGGAA  
CTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAG  
TCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAA  
AGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCC  
GGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAG  
ATCAGAATGCTTCATGGTAGAGTTGATCAAGTTATC

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

CCGTCCGCGCTTATACACTGTCTGAGTCGAGCGGTAGCACAGGGGAGCTTGCTC  
CCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGG  
AGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACC  
AAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAG  
CTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGA  
GGATGACCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGC  
AGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGT  
GTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAGGTGGT  
GAACTTAATACGTTTCATCAATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAAC

TCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTAC  
 TGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTTGTAAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGG  
 CTCAACCTGGGAACTGCATTTGAAACTGGCAAGCTAGAGTCTCGTAGAGGGGG  
 GTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCTGT  
 GGCGAAGGCGGCCCCCTGGACGAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGG  
 GAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGATTT  
 GGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCG  
 CCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCG  
 CACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCT  
 ACTCTTGACATCCAGAGAACTTAGCAGAGATGCTTTGGTGCCTTCGGGAACCTCT  
 GAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAA  
 GTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTTCCGGCCGGGAA  
 CTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAG  
 TCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAA  
 AGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCC  
 GGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAG  
 ATCAGAATGTTTATCGGTAATAACGTTAA

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

AGCTGCGGCAGCTAACATAAGGCAAGTCGAGCGGATGAAGGGAGCTTGCTCCT  
 GGATTACGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGG  
 GATAACGTCCGGAAACGGGCGCTAATACCGCATACGTCCTGAGGGAGAAAGT  
 GGGGGATCTTCGGACCTCACGCTATCAGATGAGCCTAGGTTCGGATTAGCTAGT  
 TGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCCGTAAGTGGTCTGAGAGGATG  
 ATCAGTCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGT  
 GGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGA  
 AGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAGTT  
 AATACCTTGCTGTTTTGACGTTACCAACAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGC  
 CAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGT  
 AAAGCGCGCGTAGGTGGTTCAGCAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACC  
 TGGGAACTGCATCCAAAACCTACTGAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAAAT  
 TTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAG  
 GCGACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAA  
 CAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGACTAGCCGTTG  
 GGATCCTTGAGATCTTAGTGGCGCAGCTAACGCGATAAGTCGACCGCCTGGGG  
 AGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGC  
 GGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTG  
 ACATGCTGAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACTCAGACACA  
 GGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGT  
 AACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACCTCGGGTGGGCACTCTAAG  
 GAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCAT  
 GGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAAAGGGTTG  
 CCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCCATAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCA  
 GTCTGCAACTCGACTGCGTGTAAGTTCGGNAATCGCTAGTAATCGTGAATCAG  
 AATGTCTTTGTAAACTTATCC

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

TAACAGTCGAGCGGGGGAAGGTAGCTTGCTACTGGACCTAGCGGCCGACGGG  
 TGAGTAATGCTTAGGAATCTGCCTATTAGTGGGGGACAACATCTCGAAAGGGA  
 TGCTAATAACCGCATACGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGATCTTCGGACCTTGC  
 GCTAATAGATGAGCCTAAGTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACC  
 AAGGCGACGATCTGTAGCGGGTCTGAGAGGATGATCCGCCACACTGGGACTGA  
 GACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGG  
 GGGGAACCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTATGGTTGTA  
 AAGCACTTTAAGCGAGGAGGAGGCTACTCTAGTTAATACCTAGGGATAGTGGA  
 CGTTACTCGCAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA  
 CAGAGGGTGCGAGCGTTAATCGGATTTACTGGGCGTAAAGCGTGCGTAGGCGG  
 CTTATTAAGTCGGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAATTGCATTTCGATA  
 CTGGTGAGCTAGAGTATGGGAGAGGATGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGA  
 AATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCATCTGGCCTA  
 ATACTGACGCTGAGGTACGAAAGCATGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCT  
 GGTAAGTCCATGCCGTAAACGATGTCTACTAGCCGTTGGGGCCTTTGAGGCTTTA  
 GTGGCGCAGCTAACGCGATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGAC  
 TAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTT  
 AATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATACTAGAACTTTC  
 CAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAATCTAGATACAGGTGCTGCATGGCTGTC  
 GTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTT  
 TTCCTTACTTGCCAGCATTTTCGGATGGGAACCTTAAGGATACTGCCAGTGACAA  
 ACTGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGG  
 CTACACACGTGCTACAATGGTTCGGTACAAAGGGTTGCTACACAGCGATGTGAT  
 GCTAATCTCAAAAAGCCGATCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCC  
 ATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATGCTTGCAGCCGTAAGT

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

CCGGGTCACACGTGTACCATCGGCAGTCGAGCGAACAGATGAGAAGCTTGCTT  
 CTCAGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTACCTATAAG  
 ACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAATATTTTGAACCGC  
 ATGGTTCAATAGTGAAAGACGGTTTCGGCTGTCACTTATAGATGGACCCGCGC  
 CGTATTAGCTAGTTGGTAAGGTAATGGCTTACCAAGGCGACGATACGTAGCCG  
 ACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGAAGTACGACACGGTCCAGACTCCTAC  
 GGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAA  
 CGCCGCGTGAGTGATGAAGGTCTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAG  
 AACAAATTTGTTAGTAAGTGAACAAGTCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCA  
 CGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCC  
 GGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAA  
 GCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAACTTGAGTGCAGA  
 AGAGGAGAGTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGG  
 AACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAA  
 AGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGAT  
 GAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTA  
 AGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGAC  
 GGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAG  
 AACCTTACCAAATCTTGACATCCTTTGACCGCTCTAGAGATAGAGTCTTCCCCT

TCGGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAG  
ATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATT  
AAGTTGGGCACTCTAGGTTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGA  
TGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGG  
ATAATACAAAGGGCAGCGAATCCGCGAGGCCAAGCAAATCCCATAAAATTATT  
CTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACTTGTAAGCTGGAATCGCATAC  
GTAATCTGCTACATCACGCTACCCTTAGGCTAGAGCTGATCATGTTCAAA

## **ÖZGEÇMİŞ**

1985 yılında Trabzon'da doğdu. İlkokulu Yavuz Selim İlkokulu'nda, Ortaokulu Kanuni Ortaokulu'nda ve liseyi Affan Kitapçıoğlu Lisesi Yabancı Dil Ağırlıklı bölümünde tamamladı. 2004-2008 Eğitim-Öğretim yılında Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde lisans öğrenimine başladı. 2008 yılında bu bölümden Biyolog ünvanıyla mezun oldu. Mezun olduktan sonra Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı. İyi derecede İngilizce bilmektedir.