

T.C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÖNEMLİ KAVAK (*Populus* sp.) ZARARLILARINDAN
Chrysomela populi (Linnaeus, 1758)'NİN BAZI MEZOFİLİK
BAKTERİLERİNİN TANIMLANMASI VE BU ZARARLIYA
KARŞI BİYOLOJİK AJAN ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

EDA DEMİRKOL

**Bu tez,
Biyoloji Anabilim Dalında
Yüksek Lisans
derecesi için hazırlanmıştır.**

ORDU-2014

TEZ ONAY

Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Eda DEMİRKOL tarafından ve Yrd. Doç. Dr. Ömer ERTÜRK danışmanlığında hazırlanan “Önemli Kavak (*Populus* sp.) Zararlılarından *Chrysomela populi* (Linnaeus, 1758)’nin Bazı Mezofilik Bakterilerinin Tanımlanması ve Bu Zararlıya Karşı Biyolojik Ajan Etkinliğinin Belirlenmesi” adlı bu tez, jürimiz tarafından 01/10/2014 tarihinde oy birliği / oy çokluğu ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Ömer ERTÜRK

Başkan : Yrd. Doç. Dr. Ömer ERTÜRK
Biyoloji Anabilim Dalı, Ordu
Üniversitesi

İmza :

Üye : Doç. Dr. Onur KOLÖREN
Bitki Koruma Anabilim Dalı,
Ordu Üniversitesi

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Elif ÇİL
İlköğretim Anabilim Dalı,
Ordu Üniversitesi

İmza :

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu’nun 20/10/2014 tarih ve 2014/415 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

21.10.2014
Prof. Dr. Mehmet Fikret BALTA
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.



Eda DEMİRKOL

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

ÖNEMLİ KAVAK (*Populus* sp.) ZARARLILARINDAN *Chrysomela populi* (Linnaeus, 1758)'NİN BAZI MEZOFİLİK BAKTERİLERİNİN TANIMLANMASI VE BU ZARARLIYA KARŞI BİYOLOJİK AJAN ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

Eda DEMİRKOL

Ordu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı, 2014
Yüksek Lisans Tezi, 97 s.

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ömer ERTÜRK

Kavak zararlısı böcekler kavak üretiminde ve dolayısıyla ülke ekonomisinde önemli derecede kayıplara neden olmaktadır. Bu tez çalışması ülkemizde önemli kavak zararlısı olan, *Chrysomela populi* L. (Coleoptera: Chrysomelidae)'de hastalık oluşturan entomopatojenik bakterilerin varlığının araştırılması ve bu patojenlerin tanımlanması amacıyla yapılmıştır. Kocaeli (İzmit), Sakarya (Akyazı), Samsun, Çankırı, Amasya ve Eskişehir illerinden toplanan sağlıklı ve ölü ergin örneklerden 50 farklı izolat elde edilmiştir. Saf kültür olarak elde edilen bu izolatlardan 35 tanesi koku, renk ve kolonilerin morfolojik özelliklerine bakılarak çalışmada kullanılmak için seçilmiştir. İzolatların tür tayinlerinin yapılabilmesi için sitolojik, morfolojik, ve biyokimyasal özelliklerinin yanında VITEK® 2 sistemi kullanılmıştır. VITEK® 2 sonucuna göre izolatların 32 tanesi tür düzeyinde tanımlanırken 3 tanesi tür altı kategoride tanımlanmıştır. 9 farklı tür (3 tanesi tür altı) olduğu düşünülen izolatlar *Bacillus vallismortis*, *B. cereus*, *B. mycoides* veya *B. thuringiensis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Aerococcus viridans*, *Enterococcus faecium*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Leucanostoc mesenteroides* spp. *cremoris*, *Staphylococcus hominis* spp. *hominis*, *Staphylococcus cohnii* spp. *cohnii* olarak tanımlanmıştır. İnsektisidal etki gösterebilme potansiyeli olan 4 türün *Chrysomela populi* üzerinde etkisi incelenmiş ve bu türlerin patojen mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır. İzolatlar herhangi bir antimikrobiyal etki göstermezken; *Bacillus vallismortis* %73.30, *B. thuringiensis* %70.60, *Aerococcus viridans* %53.30 ve *Staphylococcus haemolyticus* %36 oranlarında insektisidal etki göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Kavak, İnsektisidal Etki, Biyolojik Kontrol, Entomopatojenik Bakteri

ABSTRACT

IDENTIFICATION AND INSECTICIDAL EFFECTS OF SOME BACTERIA FROM *Chrysomela populi* (LINNAEUS, 1758), AN IMPORTANT POPLAR (*Populus* sp.) PEST

Eda DEMİRKOL

University of Ordu
Institute for Graduate Studies in Natural and Technology
Department of Biology, 2014
MSc. Thesis, 97 p.

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Ömer ERTÜRK

Poplar pests cause economically important losses on the poplar production. In the present study, entomopathogenic bacteria and their insecticidal potential from were investigated in the populations of an important poplar pest, *Chrysomela populi* L. (Coleoptera: Chrysomelidae) in Turkey. Totally fifty bacterial isolates were isolated from the larvae and adults of *C. populi* collected, Kocaeli (İzmit), Sakarya (Akyazı), Samsun, Çankırı, Amasya and Eskişehir. After getting the pure cultures of the isolated bacteria, 35 isolates were selected for further studies according to their colony morphologies. For the identification of the isolated bacteria at the species level, VITEK® 2 Bacterial Identification System was used additional to cytological, morphological and biochemical tests. As a result, 32 bacteria were identified at the species level and 3 bacteria at the subspecies level. Nine different species were identified as *Bacillus vallismortis*, *B. cereus*, *B. mycoides* or *B. thuringiensis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Aerococcus viridans*, *Enterococcus faecium*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Leucanostoc mesenteroides* spp. *cremoris*, *Staphylococcus hominis* spp. *hominis*, *Staphylococcus cohnii* spp. *cohnii*. Insecticidal potential of four species were found as 73.30% with *Bacillus vallismortis*, 70.60% with *B. thuringiensis*, 53.30% with *Aerococcus viridans* and 36% with *Staphylococcus haemolyticus*, while there is no any detected antimicrobial effects for these bacteria.

Key Words: Poplar, Insecticidal Effect, Biological Control, Entomopathogenic Bacteria

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi, çalışmanın yürütülmesi ve yazımı esnasında her zaman bilgi ve deneyimleriyle yolumu açan, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek aldığım, yanında çalışmaktan onur duyduğum değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Ömer ERTÜRK'e en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmam boyunca her türlü bilgi ve deneyimlerini paylaşan, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, arazi çalışmalarına yardımcı olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa YAMAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren, çalışma prensiplerini örnek aldığım değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Elif ÇİL'e teşekkür ederim.

Örneklerimin tanımlanması sürecinde destek aldığım Ordu ve Giresun illeri Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlükleri ve bu süreçte bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Canan TÜRKER'e ve Sayın Necati YILMAZ'a teşekkür ederim.

Tüm zor anlarımda yanımda olan, yardım ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen arkadaşlarım Çağla KILIÇ ve Emine AYAZ'a göstermiş oldukları fedakârlıklardan dolayı teşekkür ederim.

Lisans-Yüksek Lisans eğitimim boyunca her anımda yanımda olan, her türlü yardım ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bu zorlu süreçte sevgi ve sabrından destek aldığım, hakkını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim Muammer DARÇIN'a sonsuz teşekkür ederim.

Tüm öğrenim hayatımda olduğu gibi bu zorlu ve uzun süreçte de bana maddi ve manevi her türlü desteği veren, her zaman yanımda olan, haklarını ödeyemeyeceğim başta babam Turgut DEMİRKOL olmak üzere değerli aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez TÜBİTAK tarafından 1120807 kodlu proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEZ BİLDİRİMİ	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
TEŞEKKÜR	VI
İÇİNDEKİLER	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
ÇİZELGELER LİSTESİ	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR	XIII
EKLER LİSTESİ	XIV
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Türkiye ve Dünyadaki Odun Hammaddesi Durumu.....	5
2.2. Kavak Türlerinin Genel Özellikleri.....	7
2.3. Türkiye’de Bulunan Kavak Türleri	7
2.3.1. <i>Populus euphratica</i> (Fırat kavağı).....	7
2.3.2. <i>Populus alba</i> (Akkavak).....	7
2.3.3. <i>Populus tremula</i> (Titrek kavak)	8
2.3.4. <i>Populus nigra</i> (Karakavak).....	8
2.4. Kavak Ağacının Kullanım Alanları.....	9
2.5. Zararlılarla Mücadele Yöntemleri	10
2.6. Biyolojik Mücadelenin Önemi	12
2.7. Biyolojik Mücadelede Kullanılan Etkin Gruplar	14
2.7.1. Predatörler.....	14
2.7.2. Parazitler	15
2.7.3. Mikroorganizmalar	15
2.7.3.1. Bakteriler	16
2.7.3.2. Virüsler	16
2.7.3.3. Mantarlar.....	17
2.7.3.4. Nematodlar.....	17
2.7.3.5. Protozoalar	18
2.8. Bakterilerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler	18

2.8.1.	Nümerik Taksonomi.....	18
2.8.3.	Metabolik Enzim Profilleri ve Biyokimyasal Özelliklerine Göre Bakterilerin Tanımlanması	21
2.9.1.	Mikroorganizmaların İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi	22
2.9.2.	Mikroorganizmaların Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerinde Antimikrobiyal Etkileri	23
2.10.	<i>Chrysomela (=Melasoma) populi</i> (Kırmızı Kavak Yaprağı Böceği)	23
2.10.1.	Yayılışı ve Zararı.....	25
2.11.	<i>Bacillus thuringiensis</i>	26
2.11.1.	<i>Bacillus thuringiensis</i> 'in Biyolojik Kontroldeki Yeri	26
2.11.2.	<i>Bacillus thuringiensis</i> İnsektisidal Kristal Proteinleri ve Etki Mekanizmaları	27
2.11.3.	<i>Bacillus thuringiensis</i> Toksinlerine Karşı Böcek Direnci	30
3.	ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	31
4.	MATERYAL VE YÖNTEM.....	38
4.1.	Materyal.....	38
4.1.1.	Böceklerin Toplanması İçin Arazi Çalışmaları.....	38
4.1.2.	Örneklerin Alınması	39
4.1.3.	Böceklerin Teşhisi.....	39
4.2.	Yöntem	39
4.2.1.	Total Bakteri İzolasyonu.....	39
4.2.2.	Saf Kültürlerin Hazırlanması	39
4.2.3.	Saf Kültürlerin Stoklanması.....	42
4.2.4.	Bakteriyel İzolatların Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi	42
4.2.4.1.	Koloni Morfolojisinin Belirlenmesi	42
4.2.4.2.	Basit Boyama	42
4.2.4.3.	Gram Boyama	42
4.2.4.4.	Endospor Boyama	43
4.2.4.5.	Kristal Boyama.....	43
4.2.5.	Bakteriyel İzolatların Özelliklerinin VITEK® 2 Advanced Colorimetry™ Sistemiyle Belirlenmesi	43
4.2.6.	İzolatların İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi	48

4.2.7.	İzolatların Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerinde Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması.....	49
5.	ARAŞTIRMA BULGULARI.....	51
5.1.	Bakteriyel İzolatların Morfolojik Özellikleri.....	51
5.2.	Bakteriyel İzolatların Biyokimyasal Özellikleri	54
5.3.	VİTEK® 2 ile Tanımlanan Organizmalar	61
5.4.	İzolatların İnsektisidal Etkileri.....	73
5.5.	İzolatların Bazı Patojenik Mikroorganizmalar Üzerindeki Antimikrobiyal Etkileri.....	74
6.	TARTIŞMA VE SONUÇ	75
7.	KAYNAKLAR.....	81
EKLER		94
ÖZGEÇMİŞ		97

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. <i>Chrysomela populi</i> Larva (Orijinal Fotoğraf).....	24
Şekil 2.2. <i>Chrysomela populi</i> Ergin (Orijinal Fotoğraf).....	24
Şekil 2.3. <i>Bacillus thuringiensis</i> Endosporu (mavi ok ile gösterilmiştir) ve İnsektisidal Kristal Proteinleri (kırmızı ok ile gösterilmiştir).....	29
Şekil 2.4. Spor ve Kristal Proteinlerin Taramalı Elektron Mikroskop Görüntüsü ...	29
Şekil 4.1. Örneklem Alanları.....	38
Şekil 5.1. Vitek® 2 Cihazı Kullanım Aşamaları (Orijinal Fotoğraflar)	55
Şekil 5.2. ED021 Numaralı İzolatın (<i>Bacillus thuringiensis</i>) Çizgi Ekimi (Orijinal Fotoğraf)	64
Şekil 5.3. ED021 Numaralı İzolatın (<i>Bacillus thuringiensis</i>) Gram Boyama Sonucu (Orijinal Fotoğraf Nikon ECLIPSE E400 100x)	64
Şekil 5.4. ED017 Numaralı İzolatın (<i>Bacillus vallismortis</i>) Çizgi Ekimi (Orijinal Fotoğraf)	65
Şekil 5.5. ED017 Numaralı İzolatın (<i>Bacillus vallismortis</i>) Gram Boyama Sonucu (Orijinal Fotoğraf Nikon ECLIPSE E400 100x)	65
Şekil 5.6. ED008 Numaralı İzolatın (<i>Staphylococcus haemolyticus</i>) Çizgi Ekimi (Orijinal Fotoğraf).....	66
Şekil 5.7. ED008 Numaralı İzolatın (<i>Staphylococcus haemolyticus</i>) Gram Boyama Sonucu (Orijinal Fotoğraf Nikon ECLIPSE E400 100x)	66
Şekil 5.8. ED005 Numaralı İzolatın (<i>Aerococcus viridans</i>) Çizgi Ekimi (Orijinal Fotoğraf)	67
Şekil 5.9. ED005 Numaralı İzolatın (<i>Aerococcus viridans</i>) Gram Boyama Sonucu (Orijinal Fotoğraf Nikon ECLIPSE E400 100x)	67
Şekil 5.10. ED027 Numaralı İzolatın (<i>Enterococcus faecium</i>) Çizgi Ekimi (Orijinal Fotoğraf)	68
Şekil 5.11. ED027 Numaralı İzolatın (<i>Enterococcus faecium</i>) Gram Boyama Sonucu (Orijinal Fotoğraf Nikon ECLIPSE E400 100x)	68
Şekil 5.12. ED028 Numaralı İzolatın (<i>Leucanostoc mesenteroides</i> spp. <i>cremoris</i>) Çizgi Ekimi (Orijinal Fotoğraf).....	69

Şekil 5.13. ED028 Numaralı İzolatın (<i>Leucanostoc mesenteroides</i> spp. <i>cremoris</i>) Gram Boyama Sonucu (Orijinal Fotoğraf Nikon ECLIPSE E400 100x)	69
Şekil 5.14. ED031 Numaralı İzolatın (<i>Staphylococcus homonis</i> spp. <i>hominis</i>) Çizgi Ekimi (Orijinal Fotoğraf)	70
Şekil 5.15. ED031 Numaralı İzolatın (<i>Staphylococcus homonis</i> spp. <i>hominis</i>) Gram Boyama Sonucu (Orijinal Fotoğraf Nikon ECLIPSE E400 100x).....	70
Şekil 5.16. ED033 Numaralı İzolatın (<i>Staphylococcus cohnii</i> spp. <i>cohnii</i>) Çizgi Ekimi (Orijinal Fotoğraf)	71
Şekil 5.17. ED033 Numaralı İzolatın (<i>Staphylococcus cohnii</i> spp. <i>cohnii</i>) Gram Boyama Sonucu (Orijinal Fotoğraf Nikon ECLIPSE E400 100x).....	71
Şekil 5.18. ED034 Numaralı İzolatın (<i>Sphingomonas paucimobilis</i>) Çizgi Ekimi (Orijinal Fotoğraf)	72
Şekil 5.19. ED033 Numaralı İzolatın (<i>Sphingomonas paucimobilis</i>) Gram Boyama Sonucu (Orijinal Fotoğraf Nikon ECLIPSE E400 100x)	72
Şekil 5.20. Bioassay Sonuçlarının Sütun Grafiği	74

ÇİZELGELER LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 4.1.	Bakteriyel İzolatların Laboratuvar Numaraları ve Temin Edildikleri İller411
Çizelge 4.2.	Gram Negatif Kartı Kuyucuk İçerikleri.....45
Çizelge 4.3.	Gram Pozitif Kartı Kuyucuk İçerikleri.....46
Çizelge 4.4.	Bacil Kartı Kuyucuk İçerikleri.....47
Çizelge 4.5.	Antimikrobiyal Aktivite Tespitinde Kullanılan Mikroorganizmalar ve Gram Özellikleri50
Çizelge 5.1.	Bakteriyel İzolatların Morfolojik Özellikleri.....53
Çizelge 5.2.	Bacil Kartı Kullanılan İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları56
Çizelge 5.3.	Gram Pozitif Kartı Kullanılan İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları.....58
Çizelge 5.4.	Gram Negatif Kartı Kullanılan İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları.....60
Çizelge 5.5.	VİTEK® 2 İle Tanımlanan Organizmaların Tür İsimleri ve Tanımlanma Yüzdeleri62
Çizelge 5.6.	Abbott's Analizi Sonuçları73

SİMGELER VE KISALTMALAR

μL	: Mikrolitre
API	: Application Programming Interface
BCL	: Bacil
ddH₂O	: Double Distile H ₂ O
GN	: Gram Negatif
GP	: Gram Pozitif
ha	: Hektar Alan
ID	: Identification Card (Tanımlama Kartı)
m	: Metre
MDF	: Medium Density Fiberboard
mg	: Miligram
MIS	: Microbiyal İdentification System
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
OGM	: Orman Genel Müdürlüğü

EK LİSTESİ

<u>EK No</u>	<u>Sayfa</u>
EK 1. Kùltür Ortamının Bileşimi ve Hazırlanışı.....	94
EK 2. Çözeltiiler.....	95
EK 3. Sterilizasyon Teknikleri.....	96

1. GİRİŞ

Dünyaya paralel olarak ülkemizde de nüfus artışıyla birlikte odun hammaddesi ve kâğıda olan ihtiyaç her geçen gün artmaktadır. Bu talebe bağlı olarak doğan ihtiyaç karşılanamamaktadır. Odun hammaddesi eksikliğinden dolayı bu hammaddeyi kullanan tesisler ancak %60 kapasite ile çalışmaktadır (Kanat, 2000). Yapılan tahminlere göre odun hammaddesi üretim kapasitemiz artırılmazsa 2020 yılına gelindiğinde üretim ile talep arasında 40 milyon m³/yıl düzeyinde bir açık oluşacaktır. Bu talebin karşılanamaması durumunda ülkemiz ekonomisinin ciddi boyutta darboğaza girmesi beklenmektedir. Çünkü ekonomik hayatın hemen her safhasında odun hammaddesi doğrudan veya dolaylı olarak yer alan bir ana mal veya bir ara mal olma durumundadır. Odun hammaddesi ihtiyacını karşılamak için doğal ormanlara kıyasla 40-50 misli fazla üretim yapma gücünde olan endüstriyel plantasyonlar bu kapsamda tek seçenek olarak görülmektedir (Birler ve Diner, 1994).

Endüstriyel plantasyonlar yerli ve yabancı orijinli kavak ve hızlı gelişen ağaç türleri ile tesis edilmektedir. Doğal ormanlar tahrip edilmeden ortaya çıkan bu açığın karşılanabilmesi için, çok hızlı büyüme yeteneğiyle birlikte iyi bir endüstri bitkisi olan kavağın geniş alanlarda endüstriyel plantasyonlarının oluşturulması büyük önem taşımaktadır (Zeki ve Toros, 1996; Kanat, 2000). Ülkemizde kavakçılığın hızlı gelişmesi, birim alanda ve birim zamanda maksimum verimin elde edilmesi sonucunu doğurmuştur. Ancak, kavak üretiminin devamlılığını ve verimini olumsuz yönde etkileyen biyotik faktörlerin başında, kavaklarda zarar yapan böcekler gelmektedir. Ülkemizde kavakçılıktaki hızlı gelişimle birlikte, kavak zararlısı böceklerin yoğunluk kazanması, maksimum verim elde edilmesi amacını sekteye uğratmaktadır. Çok sayıda kavak zararlısı böceğin ergin ve larvaları, kavakların kök, gövde ve yaprakları ile beslenerek ağaçların zayıf kalmasına, teknik açıdan kalitede bozulmalara ve özellikle genç kavakların kurumasına neden olabilmektedir (Zeki ve Toros, 1996; Kanat, 2000; Tozlu 2001; Aktaş ve ark., 2008; Aktaş ve Şimşek, 2010). Sadece kavak delici böceklerinin %42 oranında zarar yapabildiği bilinmektedir (Aktaş ve Şimşek, 2010).

Kavak zararlısı böcekler kavak üretiminde ve dolayısıyla da ülke ekonomisinde bu denli önemli kayıplara neden olurken, bu zararlılar ile mücadele çalışmaları nispeten

sınırlıdır (Güler ve ark., 1995; Aktaş ve Şimşek, 2010). Özellikle de bu zararlılar ile biyolojik mücadelede entomopatojenik organizmalara yönelik çalışmalar yok denecek kadar azdır. Bir örnek vermek gerekirse, zararlılardan *Lymantria dispar* L. ile biyolojik mücadelede entomopatojenik organizmalardan virüs ve protistlerin kullanımına yönelik yurt dışında yüzlerce çalışma mevcut iken (Goertz ve ark., 2004; Pilarska ve ark., 2006; Vavra ve ark., 2006) şu an güncel olarak birçok ülkede, farklı coğrafik bölgelerdeki patojenlerin farklı etkiye (daha yüksek ölüm oranı beklentisi) sahip olmasından dolayı bu zararlıya karşı kendi lokal patojenleri araştırılırken, ülkemizde bu zararlının entomopatojenik organizmalarına yönelik kayda değer bir çalışma olmaması, bu alanda çalışmaların ne kadar sınırlı olduğunu bir kanıttır. Mevcut durumda bu zararlıların bazılarıyla mücadelede uygulama kolaylığından dolayı kimyasal mücadele zaman zaman kolayca tercih edilmekte ve güncel olarak kullanılmaktadır. Türkiye’de kavak zararlıları ile yapılan birbirinden bağımsız mekanik ve kimyasal mücadele çalışmaları istenilen başarıya ulaşamamıştır. Kimyasallarla yapılan mücadelede yeterli başarı sağlanamazken, ilave bir de ekonomik maliyet ortaya çıkmıştır. Ülkemizde yaklaşık 125 000 hektar kavak ağaçlandırması bulunmaktadır. Buna göre yapılan hesaplamada Türkiye kavak ağaçlandırmalarında yıllık ilaçlama maliyeti yaklaşık 7 698 600 TL’dir (Anonim, 2012). Bu yüksek maliyete rağmen, kimyasal mücadelede kullanılan insektisitlerin birçok yan etkileri ortaya çıkmaktadır. İnsektisitler zararlı böceklerin predatörlerine ve çevredeki diğer yararlı canlılara birçok yönden ciddi zararlar vermektedir (Ecevit, 1988). Bu nedenle son yıllarda türe özgü mücadele ajanları vasıtasıyla hedef zararlının dışındaki canlılara zarar vermeyen biyolojik mücadele çalışmalarına ağırlık verilmektedir. Ancak biyolojik mücadele çok uzmanlık gerektiren bir konudur, kullanılacak ajanın dikkatle seçilmesi ve türe özgü olması çok önemlidir. Bu nedenle, son zamanlarda dünyada yoğun bir şekilde zararlıların patojenleri üzerine araştırmalar yapılmaktadır. Bu tip patojenler arasından türe özgü ve öldürücü etkisi yüksek olanları araştırılmaktadır.

Dünyada böceklerle mücadelede entomopatojenlerin kullanımına yönelik çalışmalar bu kadar yoğun iken, ülkemizde kavak zararlılarıyla bu tip bir mücadeleye yönelik çalışma yoktur. Oysa kavak bitkisinde zarar yapan böceklerin bolluğu ve çeşitliliği, onların birçoğuyla biyolojik mücadele, özellikle de entomopatojenik organizmaların

kullanıldığı bir mücadele yöntemine kolaylıkla imkân sağlayabilir (Yaman ve Radek, 2003; Yaman ve ark., 2009; Yaman, 2012). Zengin bir entomopatojen çeşitliliğe sahip ülkemizde kavak zararlılarıyla mücadelede uygun entomopatojenik virüs, bakteri, mantar ve protistlerin bulunması ve uygulamaya sunulması göz ardı edilmiştir. Sadece Yaman, (2008) *Leucoma salicis*'in bir nükleopolihidro virüsünü (NPV) kaydetmiştir.

Türkiye coğrafi konumu, biyolojik çeşitliliği ve iklim zenginliği bakımından oldukça önemli bir konuma sahiptir. Bu nedenle böcek patojenlerinin ülkemizden elde edilecek bir izolatinın daha etkili bir insektisit olabileceği düşünülmektedir. Konumu itibarıyla Asya ile Avrupa arasında köprü olan Türkiye yeni ve farklı patojenlerin araştırılması için potansiyel bir kaynaktır (Murillo ve ark., 2001).

Böceklerde hastalık oluşturabilen organizmalar böcekler ile mücadelede gelişmiş bir çok ülkede ekolojik mücadele ajanı olarak kullanılmaktadır. Örneğin entomopatojenlerin virüsler grubuna dahil olan Bakülovirüsler %100'e varan ölüm oranı ile etkili, sadece çoğalabildikleri tek bir konakta enfeksiyon yapmaları ile çevredeki diğer omurgasız ve omurgalı hayvanlara zararsız ekolojik bir mücadele ajanı ve doğal ortamda gelecek yıllardaki nesillere vertikal taşınımından dolayı süreklilik gösteren bir mücadele ajanı olmalarından dolayı ülkemizin dışında gelişmiş bütün ülkelerde ticari olarak üretilip satılmaktadır (Hunter-Fujita ve ark., 1998). Farklı coğrafik bölgelerdeki patojenler farklı oranda öldürücü etki göstermektedir. Bu nedenle her ülke daha yüksek ölüm oranı gösteren kendi izolatını tespit edip kullanabilmek için çalışmalarını sürdürmektedir ve araştırılmamış coğrafik bölgelerden entomopatojen tespitleri son yıllarda en çok tercih edilen konular olmaktadır. Murillo ve ark., (2001), Asya'nın yeni ve etkili entomopatojenik organizmaların tespiti için iyi bir potansiyel bölge olduğunu önermiştir. Ülkemizde sınırlı sayıda yapılan bu tür çalışmalarda bu yargıyı doğrular nitelikte olup, sınırlı sayıda çalışmaya rağmen oldukça yüksek oranda yeni entomopatojenik tür bulunmuştur (Yaman ve Radek, 2003; Yaman ve ark., 2009; Yaman, 2012).

Bu kapsamda tezin amacı: Ülkemizde önemli kavak zararlısı olan, *Chrysomela populi* L. (Coleoptera: Chrysomeliidae)'de hastalık oluşturan entomopatojenik bakterilerin varlığının araştırılması ve bu patojenlerin tanımlanmasıdır. Elde edilecek

bu entomopatojenlerin tespit edilen böcekte ve diğler bazı zararlı böceklerde insektisidal etkilerinin belirlenmesi ve içlerinden etkili olanların bu zararlılar ile mücadelede kimyasal insektisidlere alternatif biyolojik mücadele ajanları olarak sunulması amaçlanmaktadır.

Bu şekilde hem kavak zararlılarının kavak üretiminde %50'ye varan ekonomik kayıplarının azaltılması hem de bu zararlılar ile mücadelede çevreye olumsuz etkisi olmayan ekolojik ve maliyeti düşük mücadele ajanlarının kazandırılması planlanmaktadır. Böylece ülkemizde ilk kez kavakçılık alanında entomopatojenik organizmaların kullanımına başlanması amaçlar arasındadır. Farklı disiplinlerde çalışan bilim insanların deneyim ve tecrübelerini birleştirerek kavakçılık ve ormancılık alanında entomopatojenlerin çalışılmasının ve kullanılmasının teşvik edilmesi hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

Dünya nüfusundaki devamlı artış orman ürünleri üretimi ile tüketimi arasındaki açığın her yıl biraz daha büyümesine neden olmaktadır (Zobel, 1984; Zhang ve ark., 1997). Bu açığın temel sebepleri bilinçsiz, düzensiz, aşırı ve plansız tüketimlerdir. Bunun sonucunda fiziksel ve genetik açılardan tahrip olmuş; bitki-toprak-su doğal dengesi bozulmuş; zengin flora-fauna biyolojik çeşitliliğimiz azalmış; odun arz açığı yanında sel, heyelan, çığ ve toprak erozyonu gibi doğal afetler sosyal yaşamı tehdit eder seviyelere ulaşmıştır. Kalite ve kantite bakımından yetersiz olan ormanlarımızdaki bu açığın kapatılması amacıyla ağaçlandırma çalışmalarına özel bir önem verilmekte ise de üretim açığının karşılanması oldukça güç görülmektedir (Zobel, 1984; Bowyer ve ark., 2005).

2.1. Türkiye ve Dünyadaki Odun Hammaddesi Durumu

Türkiye’de odun hammaddesi ana arz kaynakları; devlet ormanları, özel ormanlar, özel kesime ait arazilerde grup, küme ve sıra halinde yetişmiş ağaç ve ağaççıklardan yapılan tapulu kesimler, özel sektöre ait hızlı gelişen tür ağaçlandırmaları, diğer ağaç türleri ağaçlandırmaları ve ithalattan oluşmaktadır (DPT, 2005).

Türkiye oldukça sınırlı orman kaynaklarına sahip olmakla birlikte 21.20 milyon ha (hektar alan) ormanlık alanın ancak 10 milyon ha’ı (yaklaşık %50) verimli orman sınıfına girmektedir (OGM, 2006).

Türkiye’de odun hammaddesine olan talebin her geçen gün biraz daha artması, arz-talep dengesizliğinden meydana gelen sürekli bir arz açığı oluşturmaktadır. Küresel nüfus artışına paralel olarak, dünyada 1950-1990 yılları arasındaki odun hammaddesi tüketimi mevcut miktarları ile 2000-2030 yılları için yapılmış talep tahminleri arasında çok ciddi dengesizlikler mevcuttur. Buna göre; dünyada 2020’li yıllarda odun hammaddesi toplam talebinin yaklaşık “5.60 milyar m³/yıl” düzeyini, üretim açığının ise yaklaşık “2 milyar m³/yıl” sınırını aşması beklenmektedir. Bu konuda ön görülen çözümler ve düşünceler arasında odun talebini azaltıcı tedbirlerin alınması, odun ihtiyacının üretim yoluyla arttırılması düşünülebilir. Odun ihtiyacının üretim yoluyla arttırılması en kısa sürede ve en ekonomik çözüm yoludur. Bunun için de kısa sürede verim gücü yüksek ve özel sektör ormancılığına konu olabilecek hızlı

gelişen türlerde yapılacak endüstriyel ağaçlandırmalar hızla gelişmiştir (Özkurt, 2002).

Dünya endüstriyel odun üretimi sıralamasında Kuzey ve Orta Amerika %40'lık payıyla birinci sırada gelmektedir. Bunu %30 ile Avrupa, %13 ile Asya, %10 ile Güney Amerika, %4 ile Afrika ve %3 ile Okyanusya takip etmektedir (Kök, 2009).

Pek çok ülke odun hammaddesi talebini karşılayabilmek amacıyla, kendi ulusal çözümlerini üreterek, özellikle odun üretimine yönelik endüstriyel ağaçlandırma yatırımlarına önem vermektedir (Koçer ve Diner, 2003).

Ülkemizde, yerli ve yabancı orijinli hızlı gelişen çeşitli ağaç türleri ile endüstriyel plantasyonlar kurulması mümkündür. Plantasyon ormancılığının çevresel olarak en büyük faydası hızlı gelişen türlerin ekonomik olarak değerleri yüksek ağaç türlerinin yerine kullanılabilme olanağıdır. Bu sayede ormanlar üzerindeki baskı azaltılmış ve aynı zamanda sosyal bir sorumluluk bilinci de yerine getirilmiş olmaktadır.

Halkımız tarafından yaygın olarak tesis edilen kavak ağaçlandırmaları, endüstriyel plantasyonlar için başarılı bir örnek oluşturmaktadır. Ayrıca, orman rejimi altındaki alanlarda, hızlı gelişen yabancı tür orman ağaçları ile tesis edilecek endüstriyel plantasyonlarda, 25-30 yıllık idare süreleri sonunda yıllık ortalama odun hammaddesi artımının "12.50-17.50 m³/ha/yıl" düzeyine ulaşması ve birim alanda "350-500 m³/ha/yıl" düzeyinde odun hammaddesi üretilmesi mümkündür (Birler, 2006a). Dünyada plantasyon ormancılığı kapsamında yetiştirilen hızlı gelişen türler (söğüt, kavak, pavlonya, okaliptüs vs.) orman ürünleri endüstrisi (MDF, yonga levha, lif levha, kâğıt ve karton üretimi) için alternatif birer hammadde kaynağı olmuşlardır (Birler, 2006b).

2.2. Kavak Türlerinin Genel Özellikleri

Botanik sınıflandırmaya göre Kavak (*Populus*), Spermatophyta (Tohumlu bitkiler) grubunun, Angiospermae (Kapalı tohumlular) alt şubesine bağlı Dicotyledonae (İki çenekliler) sınıfına giren Monochlamydeae alt sınıfından, Salicales takımına ait Salicaceae familyası içinde yer alır. Kavak bir cinsli ve iki evcikli olan anemogam bir bitkidir. Çiçek tozları dişi çiçeklere rüzgârla taşınmaktadır. Ayrıca kavak, dioik bitki olduğundan fazla miktarda melezleşme yapar (Sekendiz, 1974).

Genellikle düzgün gövdeli, beyaz kabuklu, 30-40 m kadar boylanmış ağaçlardır. Yaprakları genellikle ovat ya da rombiktir. Rüzgârla tozlaşan çiçekler yapraklardan önce açar, amentumları ince ve sarkık durur (Yıldız ve Aktoklu, 2010).

Bütün örnekleri boylu ağaç halini alan *Populus* (Kavak) cinsinin her iki yarı kürenin ılıman yerlerinde yayılmış olan yüzden fazla türü, birçok varyetesi ve her gün yenileri elde edilen sayısız melezleri ve klonları vardır (Kayacık, 1963; Gökmen, 1973).

2.3. Türkiye’de Bulunan Kavak Türleri

Ülkemizde 4 tür kavak ağacı doğal yayılış göstermektedir. Bu türler *Populus nigra* L. (Karakavak), *Populus alba* L. (Akkavak), *Populus euphratica* Oliv. (Fırat kavağı) ve *Populus tremula* L. (Titrek kavak)’dır (Gürboy ve ark., 2008).

2.3.1. *Populus euphratica* (Fırat kavağı)

10-15 m boyunda, kabukları gri renkte küçük ağaçlardır, yapraklar lineardan ovat-oblonga kadar, çoğunlukla tüsüzdür. Güney ve Güneydoğu Anadolu’da özellikle dere içlerinde yaygındır (Yaltırık, 1993).

2.3.2. *Populus alba* (Akkavak)

30-40 m boyunda kabukları beyaz renkte olan ağaçlardır, yapraklar palmat loplu, alt yüzeyleri yoğun ve beyaz tüylüdür. Ülkemizin hemen hemen her yerinde bulunur (Yaltırık, 1993).

2.3.3. *Populus tremula* (Titrek kavak)

25 m'ye kadar boylanabilen, sık dallı, geniş konik tepeli, kışın yaprağını döken, dioik bir ağaçtır. Sarımtırak-gri renkli, parlak ve düz kabukları ağaç yaşlanınca koyu gri renkli ve derin olukludur. Uzun sürgünlerde yapraklar sivri uçlu, yumurta şeklinde, tabanı yürek biçiminde olup kenarları düzensiz dişlidir. Kısa sürgün üzerindeki ise dairemsi şekilde, küt uçlu, tabanı hafif yürek biçiminde olup kenarları dilimli dişlidir. Mart-Nisan aylarında görülen erkek ve dişi çiçekler aşağıya doğru sarkan kurullar halindedir (Öner ve Aslan, 2002).

Büyük yangın ve hastalıklardan sonra alana ilk gelip yerleşen öncü türlerindedir. Orman içlerinde nemli ve kuytu kesimleri çok sever ve step alanları dışında hemen her yerde yetişmektedir (Anşin ve Özkan, 2006).

Uzun yaprak saplarının yandan basık olması en hafif bir esintide yaprakların sallanmasına neden olmaktadır, bu nedenle titrek kavak adını almıştır. Titrek kavak ortalama 60-80 yıl yasayabilen, yaprak döken bir ağaç türüdür (Von Wühlisch, 2009). Titrek kavağın kısa ömürlü bir ağaç türü olmasının nedeni yumuşak ve beyaz odununun mantarların çürütücü etkisine karşı dayanıklı olmamasıdır (Parrott ve MacKenzie, 2008).

Titrek kavak türü dünyada, bütün Avrupa, Kuzey Batı Afrika, Lübnan, Ön Asya, Kafkasya ve Sibiry'a'da doğal yayılış göstermektedir. Doğuda ise Kuzey Çin'e kadar ulaşmaktadır. Ülkemizde ise; Batı Trakya, Batı Anadolu ve Karadeniz bölgelerinde çok iyi gelişme göstermekte olup, Güneydoğu ve İç Anadolu step bölgesi dışında kalan tüm orman alanlarında geniş yapraklı ve iğne yapraklı karışık ormanlarda kümeler halinde veya dağınık olarak yayılış göstermektedir (Yaman ve Sarıbaş, 2004).

2.3.4. *Populus nigra* (Karakavak)

Kışın yaprağını döken, 40 metreye kadar boylanabilen, dalları sık, kabuk gövdesi düz ve grimsi, piramidal tepeli ve estetik değeri yüksek sütun gibi büyüyen bir ağaçtır. Bol güneşli yerlerde ve ılıman iklimlerde yetişir. Nemli, derin, kumlu, gevşek toprakları tercih eder. Tek veya gruplar halinde parklarda, yol ve cadde kenarlarında,

deniz, ırmak ve dere kıyılarında bulunmaktadır. Vatanı Türkiye ve Batı Asya'dır. Asya ve Avrupa'da geniş bir şekilde kültürü yapılır (Yücel, 2005).

2.4. Kavak Ağacının Kullanım Alanları

Kavak odunu, çoğunlukla yumuşak, düşük yoğunlukta, beyaz renkli ve hafiftir. Bu nedenle kullanım alanı geniştir. Kereste, yonga levha, lif-levha, ambalaj, mobilya ve inşaat malzemesi olarak endüstride kullanılmaktadır. Kavak, aynı zamanda tarım alanlarında rüzgâr perdesi, toprak ve su koruma amaçlı kullanıldığı gibi, akarsu yataklarının ıslahında çok sık kullanılmaktadır. Bunun yanında, boşaltılmış maden sahalarının ağaçlandırılmasında ve ağır metallerce kirletilmiş toprakların temizlenmesi amacıyla da değerlendirilmektedir. Bazı bölgelerde, ısınma amacıyla kullanıldığı da bilinmektedir (Vietto ve Chiarabaglio, 2004; Ball ve ark., 2005).

Karakavak odunu kaplamacılıkta, selüloz ve kâğıt endüstrisinde, inşaat ve mobilyacılıkta kullanılmaktadır (Yücel, 2005).

Titrek kavak odununun çok çeşitli kullanım alanları bulunmaktadır. Odununun yeknesak yapıda olması, yumuşak ve kolayca soyulabilmesi, eğilme direncinin yüksek olması, kimyasal maddeleri absorbe etme özelliği ve yandığında is çıkarmaması, yıllık halkalarının dar olması, koyu renkli bir özünün bulunmaması ve düzgün lifli olması nedeniyle soyma makinelerinde kolaylıkla tabakalar halinde soyulabilmesi gibi nedenlerle kibrit çöpü yapımında kullanılmaktadır. Titrek kavak odununda, lignin oranının %17.40 ile diğer kavak türlerinin çoğundan daha düşük oranlarda bulunması, tersine selüloz oranının yüksek olması, kolayca beyazlatılabilmesi ve lif uzunluğunun 1.36 mm olması gibi nedenlerle kâğıt üretimine elverişli bir tür olduğu söylenebilir. Ayrıca hektar başına kuru odun maddesi veriminin yüksek olması da (hektarda 6.70 ton kuru odun maddesi verimi) Titrek kavağı kâğıt ve selüloz üretiminde aranılan bir tür yapmaktadır (Öner ve Aslan, 2002).

2.5. Zararlılarla Mücadele Yöntemleri

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

Tarımın ana hedefi sadece birim alandan çok ürün almak olmayıp, aynı zamanda sürdürülebilir tarım tekniklerine uygun, çevreye, insan ve hayvan sağlığına duyarlı ürün yetiştirebilmektir. Bunu sağlayabilmek için, sağlıklı tohum ve fide kullanmak, iyi bir toprak işleme, sulama, gübreleme, budama gibi birçok tarım tekniğinin uygulanmasının yanında; üründe kalite ve kantite yönünden önemli kayıplara neden olan hastalıklar, yabancı otlar ve zararlılara karşı da bilinçli bir mücadele yapmak gerekmektedir. Ürün kayıplarına neden olan bu canlılara karşı, değişik mücadele yöntem ve teknikleri geliştirilmiştir. Bunlar kültürel önlemler, fiziksel-mekanik mücadele, kimyasal mücadele, biyolojik mücadele, biyoteknik mücadele, entegre mücadele ve yasal mücadele olarak sıralanabilir (Uygun ve ark., 2010)

İnsanın herhangi bir yardımı olmadan doğal kuvvetlerle böcek popülasyonlarının kontrol altında tutulması doğal mücadeledir. Çevre direncinin bir sonucu olarak böceklerin önemli bir kısmı ya çoğalmadan ya da çoğaldıktan sonra ölür. Böylece, zarar oluşturan böceğin ortamdaki sayısı ve oluşturduğu zarar düşük seviyede kalmıştır. Yasal mücadele; yasal yollardan yararlanılarak, zararlıların yayılmalarını önlemektedir. Karantina, ambargo, muayene ve sertifika uygulamak bunların başında gelmektedir. Bu tür uygulamalar bazen kıtalar ve ülkeler arasında olurken, bazen de bir bölgenin içerisinde bir bölgeye özgü uygulanabilirler. Mekanik mücadele; böcekleri çeşitli yöntemlerle toplamak, pusuya düşürmek, yem tuzakları kurmak, feromonlar kullanmak, tuzak odunları hazırlamak veya gıda değişimi yapmak suretiyle gerçekleştirilen mücadele şeklidir. Fiziksel mücadele; sıcak ve nemden yararlanılarak böceklerin öldürülmesi, elektrik veya radyoaktivite kullanarak böceklerin kısırlaştırılması işlemlerini içeren mücadele yöntemidir. Kültürel

mücadele; toprak bakımı, işlenmesi ve gübrenmesi, yabancı ot ve atıkların temizlenmesi ve bitki nöbetleşmesi gibi toprakla ilgili yapılması gereken işleri kapsar (Demirbağ ve ark., 2008).

Kimyasal mücadele; çeşitli kimyasal maddelerin toz veya sulu halde kullanılması suretiyle yapılan mücadeledir. Ülkemizde çok yaygın olmasına rağmen, çevreye verdiği olumsuz etkilerden dolayı günümüzde gelişmiş ülkelerde yavaş yavaş bu yöntemden vazgeçilmektedir (Boucias ve Pendland, 1998).

Kimyasal mücadele bitki hastalıklarına karşı uzun yıllar yaygın olarak kullanılan bir mücadele yöntemi olmuştur. Ancak çevreye ve insan sağlığına verdiği zararlar bu mücadele yöntemine alternatif yöntemler bulmayı gerektirmiştir. Bu yöntemler içerisinde de biyolojik mücadelenin önemi gün geçtikçe artmaktadır. Biyolojik mücadele antibiyosis, yarışma, hiperparazitizm, hipovirülens, uyarılmış dayanıklılık ve çapraz koruma mekanizmalarını kullanarak bitki patojenlerini baskı altına almaktadır. Çeşitli zorlukları bulunan biyolojik mücadele yönteminin diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında kısa vadede olmasa da uzun vadede daha başarılı bir mücadele yöntemi olduğu bilinmektedir. Ancak başarılı bir biyolojik mücadeleyi sınırlayan çeşitli faktörlerin olduğu aşikârdır. Biyoetmende, patojende ve çevre şartlarında meydana gelen ufak bir değişiklik biyolojik mücadeleyi önemli derecede etkilemektedir. Bununla birlikte kontrol etmeye çalıştığımız patojenler hakkındaki bilgimizin az olması da bizim onlarla mücadelemizi güçleştirmektedir. Bu nedenle mücadelede ilk adım, patojen ekolojisini anlamaktır. Rizosferde yaşayan diğer mikroorganizmalar hakkındaki bilgimiz de aynı derecede önemlidir (Martin ve Bull, 2002).

Klasik biyolojik mücadele; hedef olmayan doğal bitkilere ve ürünlere olumsuz bir etkisi olmaksızın, hedef yabancı otlara karşı bir böcek veya bir patojen kullanılarak uygulanan selektif bir işlemdir (Ghosheh, 2005).

Biyolojik mücadelede kullanılacak ideal organizmanın seçiminde, patojenlere direkt etkisinin olması bir gereklilikmiş gibi düşünülebilir. Ancak bu ideal organizma, iyi bir şekilde kolonize olsa bile inoküle edilen bitkinin gelişimine olumsuz etkide bulunmaması gerekir (Alström, 2000).

2.6. Biyolojik Mücadelenin Önemi

Tarımsal mücadelede kimyasalların kullanımı, üreticiler açısından etkilerinin kısa sürede görülmesi ve uygulama kolaylıklarından dolayı oldukça popüler olmakla birlikte, çevreye ve sağlığa olan zararları, mikroorganizmalarda oluşan dayanıklılık sorunları, yeni ırkların ortaya çıkması gibi önemli sorunları da beraberinde getirmektedir. Ayrıca kalıntı nedeniyle yurtdışına gönderilen gıda ürünlerinin geri gönderilmesi ülkemiz açısından hiç iyi bir reklam olmamaktadır. İşte bu gibi sebeplerden dolayı kimyasal mücadeleden mümkün olduğunca uzak başka alternatifler aranmaya başlanmıştır. Bu bağlamda özellikle biyolojik mücadeleye yönelik çalışmaların olduğu organik veya ekolojik olarak adlandırılan tarım sistemi geliştirilmiştir. Bu sistem özellikle biyolojik preparatların kullanımını yaygınlaştırmayı, yeni ve etkin biyolojik kontrol elemanlarını araştırmayı hedeflemektedir (Yiğit, 2005).

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de zararlı böceklerin kontrolünde çeşitli kimyasal insektisitler kullanılmaktadır. Fakat kullanılan bu kimyasal insektisitler doğal çevre ve hedeflenmemiş organizmalar üzerinde olumsuz etkilere sahiptir (Ecevit, 1988; Ünal, 1998).

Kimyasalların yoğun bir şekilde kullanılması zaman içinde zararlı böceklerde insektisitlere karşı dayanıklılık mekanizmasının gelişmesine neden olmaktadır. Gerçekleşen bu dayanıklılık mekanizması ilaçtan kaçma gibi davranışsal dayanıklılıklar olabileceği gibi birbirine çok yakın akraba türler arasında dahi zararlıya direnç gösterebilecek ırkların oluşabilmesi şeklinde de gerçekleşebilmektedir (Ecevit, 1988).

Kimyasal insektisitler yalnızca böcek türlerine değil doğada bulunan bitki örtüsüne de zarar verirler. Kimyasal insektisitlerin doğada toprak ve bitkilerde birikmelerinden dolayı yok olmaları çok uzun sürmektedir. Oluşan bu birikim topraktaki normal mikrobiyal popülasyonu bozarak veriminin düşmesine neden olduğu gibi bitkiler aracılığı ile besin zincirine dâhil olarak besin zincirinin en üst seviyesindeki canlılara kadar ulaşır. Belli bir alana uygulansalar dahi kolayca yok olmadıklarından dolayı rüzgâr ve yağmur gibi doğal olaylarla çok daha geniş alanlara yayılabilmeleri insektisitlerin zararını daha da artırmaktadır (Ünal, 1998).

Uzun yıllardan beri bitki hastalıklarıyla sürdürülen kimyasal mücadele sonucu ortaya çıkan ciddi sorunlardan dolayı özellikle gelişmiş ülkelerde başlayan, alternatif bir yöntem bulma çabası söz konusu olmuştur (Delen ve Özbek, 1993; Delen ve Tosun, 1997). Özellikle son yıllarda tüm dünyada çevrenin korunmasına karşı toplumun bakış açısının değiştiği ve daha duyarlı hale geldiği; bu açıdan ele alındığında hastalıklar ve zararlılar yanında yabancı ot mücadelesinde kullanılan ilaçlara alternatif olarak çevreye zararsız veya çok az zararlı biyolojik preparatların kullanımının gündeme geldiği bildirilmektedir. Sürdürülebilir bir üretim için biyolojik mücadele kaçınılmaz hale gelmektedir (Özdemir, 1993).

Biyolojik mücadelenin ilk uygulama dönemleri çok eski tarihlere dayanmaktadır. Asya'da avcı karıncalardan bu hususta yararlandığı ve M.S. 900-1200 yılları arasında narenciye zararlılarına karşı kullanıldığı bilinmektedir. 1200'lü yıllarda Yemen'de palmye 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 bilinmektedir (Oğurlu, 2000).

Türkiye'de ise biyolojik mücadele ile ilgili ilk kayıtlar 1910'lu yıllara rastlamaktadır. Smith tarafından yapılan ilk kayıt incir güvesi, *Ephestia cautella* Wlk. (Lepidoptera, Pyralidae)'nin parazitoidi olan *Bracon hebetor* Say. (Hymenoptera, Braconidae)'nin İzmir'de bol ve yoğun olarak bulunduğu dair bilgiler ihtiva etmektedir. Almanya'dan 1931-1948 yılları arasında birkaç kez, *Bracon hebetor* getirterek Ege'de incir depolarına salınmıştır. Biyolojik mücadelede elde edilen bu başarılar, uygulayıcıları cesaretlendirmiş ve günümüze kadar büyük bir gelişme göstererek ilerletilmiştir (Demirbağ ve ark., 2008).

Biyolojik mücadele, kimyasal mücadelenin tüm olumsuz yönlerini ortadan kaldırması bakımından son yıllarda tercih edilmesi gereken bir mücadele yöntemi halini almıştır (Yılmaz, 2004).

2.7. Biyolojik Mücadelede Kullanılan Etkin Gruplar

Biyoinsektisit olarak bakteriler, virüsler, mantarlar, nematodlar ve protozoa grubuna ait organizmalar kullanılmaktadır. Bunlar arasında, toprak grubu bakteriler en çok gelecek vaat eden biyolojik kontrol ajanlarıdır. Özellikle *Bacillus* grubu bakteriler önemli bir yer teşkil ederler ve Lepidoptera (kelebekler), Diptera (sinekler ve sivrisinekler) ve Coleptera (kın kanatlılar) takımına ait böcekleri hedef alırlar (National Research Council, 1984). Günümüzde, 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 türünü protozoalar, 411 türünü funguslar, 168 türünü virüsler, 146 türünü nematodlar, 51 türünü bakteriler ve 5 türünü diğer mikroorganizmalar oluşturmaktadır (Braxton ve ark., 2003). Bu veriler toplam sayının sadece bir kısmını oluşturmaktadır.

Biyolojik mücadele ajanları zararlı böceklerde hastalık oluşturarak böcek popülasyonunun dengede tutulmasını ve zararlarının minimuma indirilmesini sağlarlar. Bunların büyük bir çoğunluğu konağa özgü olduğu için yalnızca mücadele yapılmak istenilen organizma üzerinde etkindir. Bu özelliği ile faydalı ve predatör böcekler, hayvanlar ve insanlar gibi hedeflenmemiş organizmalar üzerinde herhangi bir risk oluşturmazlar. Tamamen doğal olmaları sebebiyle ekosistemde herhangi bir kirliliğe yol açmazlar. Bu özellikleri, gelecekte kimyasal insektisitlerin yerini bu biyolojik ajanların alacağını göstermektedir (Oğurlu, 2000).

2.7.1. Predatörler

Böcek predatörleri, besin kaynağı olarak böcekleri yakalayan ve yiyen hayvanlardır. Predatör gruplarını balıklar, amfibiler, 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 (Oğurlu, 2000; Demirbağ ve ark., 2008).

2.7.2. 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.

2.7.3. Mikroorganizmalar

Mikroorganizmalar, biyolojik mücadelede büyük önem taşımaktadırlar. Biyolojik mücadelede kullanılan mikrobiyal etmenlerin birçoğu doğadaki hastalıklı böceklerden izole edilir. Doğada böceklerin hastalanmasına neden olan ve sonra onları öldüren orijini bakteri, virüs, mantar, nematod veya protozoa olan pek çok mikroorganizma mevcuttur (Lipa, 1975). Bu mikroorganizmalar entomopatojen olarak adlandırılır (Burges, 1981; Tanada ve Kaya, 1993; Lacey ve Kaya, 2000; Lacey ve ark., 2001).

Biyolojik mücadelenin bir alt kolu olan mikrobiyal mücadele, zararlı böceklerin kontrolünde patojen mikroorganizmaların kullanılmasını kapsar. Entomopatojen olarak adlandırılan bu mikrobiyal mücadele ajanları (bakteriler, virüsler, funguslar, nematodlar, protozoalar) zararlı böceklerde hastalık oluşturarak böcek popülasyonlarının dengede tutulmasını ve zararlarının en aza indirilmesini sağlarlar. Bu entomopatojenlerin büyük bir çoğunluğu konağa özel olduğu için yalnızca mücadele yapılmak istenilen organizma üzerinde etkindir. Bu özelliği ile faydalı ve predatör böcekler, hayvanlar ve insanlar gibi hedeflenmemiş organizmalar üzerinde herhangi bir risk oluşturmazlar. Tamamen doğal olmaları sebebiyle ekosistemde herhangi bir kirliliğe yol açmazlar. Biyolojik mücadele, diğer mücadele yöntemlerine göre doğal dengenin korunmasına yardımcı olması, uzun vadede kalıcı sonuçlar vermesi ve nihai hedefe ulaştırabilmesi bakımından en çok tercih edilmesi gereken mücadele yöntemidir (Oğurlu, 2000).

2.7.3.1. Bakteriler

Bakteriler çok basit yapılı, genetik materyali bir zarla çevrili olmayan, genellikle klorofilsiz ve bölünerek çoğalan tek hücreli canlılardır. Entomopatojenik bakteriler, böceklerde kitle halinde ölümlere neden olurlar (Çanakçıoğlu, 1989).

Bacillus thuringiensis bilinen en yaygın böcek patojenidir ve biyolojik mücadelede büyük önem taşımaktadır. Birçok böcek takımına ait türlere karşı aktif olan yeni suşların izole edilmesi ve yapılan genetik düzenlemeler, bu bakterinin kullanım alanlarını genişletmiştir (Lacey ve ark., 2001). Dünyadaki biyopestisit satışlarının %95'ini *B. thuringiensis* kökenli ürünler oluşturmaktadır (Gaugler, 1997). *B. thuringiensis* delta endotoksin olarak isimlendirilen protein yapıda biyolojik olarak kolayca parçalanabilen ve böylece böceğin orta bağırsağında kısa bir yarılanma ömrü olan insektisidal toksinler üretir (Chattopadhyay ve ark., 2004).

Böceklerde patojen olan bakterileri spor oluşturanlar ve spor oluşturmeyenler olmak üzere iki kısma ayırmak mümkündür. Spor oluşturmeyen böcek patojeni bakteriler, Enterobacteriaceae, Pseudomonaceae ve Micrococcaceae familyalarına dâhildir. Spor oluşturan bakterilerden en önemlisi ise *Bacillus thuringiensis*'dir. Cry adı verilen proteinler sayesinde birçok zararlı böceğe karşı etkin bir şekilde kullanılmaktadırlar. Bu proteinlere ise genel anlamda mikrobiyal insektisit denmektedir (Sezen ve Demirbağ, 1999; Kuzina ve ark., 2002; Osborn ve ark., 2002; Demir ve ark., 2002).

2.7.3.2. Virüsler

Birçok virüsün böceklerin hastalanmasına neden olarak böcek salgınlarını kontrol ettikleri bilinmektedir (Steinhaus, 1956). Viral ve fungal patojenlerin neden olduğu doğal epidemiler, zararlı böcek popülasyonlarında büyük bir azalmaya yol açar (Evans, 1986; McCoy ve ark., 1988). Bununla birlikte nükleopolihidro virüsler, birçok zararlı böcekte doğal epidemilere neden olurken (Kaya, 1976; Evans, 1986; Woods ve Elkinton, 1987), birçok fungal patojen konak böceğin dış iskeletine saldırdıkları için genelde emici ağız yapısına sahip zararlılar üzerinde etkindir (Latge ve Paierok, 1988; Lacey ve ark; 1996).

2.7.3.3. Mantarlar

Kolay olarak tanınmaları ve doğal olarak yayılmaları nedeniyle en yaygın böcek patojenleri olarak kabul edilirler (Poinar, 1979).

Funguslar, çeşitli canlı gruplarının biyolojik mücadelesinde sıkça kullanılan etmenlerdir. Tür sayısının fazla olması, konukçularının iyi bilinmesi, birçok fungus türünün suni besi ortamlarında kolaylıkla geliştirilebilmesi ve ticari üretim için uygun olması bu etmen grubunun biyolojik mücadeledeki önemini artırmaktadır (Eken ve Demirci, 1997).

Genel olarak entomopatojen fungusların biyolojik mücadelede değerli olmaları, hedef zararlıya mekanik olarak zarar vermelerinden kaynaklanır. Bu şekilde hedef zararlı, daha önceden kimyasal veya mikrobiyal kaynaklı insektisitlere karşı geliştirmiş olduğu bağışıklık mekanizmalarıyla kendini koruyamaz (Charnley ve Collins, 2007; Örtücü ark., 2010).

Entomopatojen funguslar, konukçunun integümentine giriş yapıp, hemosölünde çoğalarak ya da toksin üreterek böceğin zayıf düşmesine veya ölümüne sebep olurlar. Funguslar son yıllarda biyolojik mücadelede çok yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Böceklerde veya çeşitli artropodlarda hastalık meydana getiren veya ölüme sebep olan funguslara entomopatojen funguslar denir. Bunlar böcek kütikulasına tutunma, penetrasyon ve konak içerisinde çoğalmalarıyla tanınırlar.

2.7.3.4. Nematodlar

Böceklerde parazit olarak yaşayan ve bazı durumlarda ölümlerine yol açan birçok nematod türü bulunmaktadır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda 30'u aşkın nematod familyasına ait türlerin, böcekler ve diğer omurgasız hayvanlarla ilişkili olduğu belirlenmiştir (Poinar, 1979; Kaya ve Stock, 1997). Tüm nematodlar içinde böceklerin biyolojik mücadeleleri için çalışılan nematodlar Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarına aittir ve özellikle son yıllarda bu familyalara olan ilgi artmıştır (Gaugler, 1997).

2.7.3.5. Protozoalar

Protozoa enfeksiyonları böcek popülasyonlarını dengede tutması bakımından büyük bir öneme sahiptir. Protozoaların zararlı böcek populasyonlarında meydana getirdikleri epidemiler, az rastlanılan bir durum olmasına karşın, neden oldukları ferdi ve küçük gruplar halindeki ölümler, zararlı böcek populasyonlarının kontrol altında tutulması bakımından önemlidir (Maddox, 1987; Brooks, 1988).

Entomopatojenik protozoalar genellikle konağa özeldirler. Böceklerde oluşturdukları hastalıklar yavaş ilerler. Virülansları düşüktür ve çoğu kez böceklerde kronik enfeksiyonlar oluştururlar. Virülanslarının düşük olması nedeniyle protozoaların enfekte ettiği böceklerin ölümü bazen haftalar sürebilir (Hoffman ve Frodsham, 1993).

2.8. Bakterilerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler

2.8.1. Nümerik Taksonomi

Nümerik taksonomi veya bilgisayar destekli taksonomi, karakterlerle şekillendirilen taksonomik birimlerin (OTU; Operational Taxonomic Unit) nümerik yöntemlerle sınıflandırılması anlamına gelmektedir (Sneath ve Sokal, 1973).

Nümerik olarak kodlanan ve birer karakter olarak ifade edilen veriler için çeşitli matematiksel yöntemlerin uygulanması ve organizmaların kapsamlı benzerliğine dayanarak kümelere yerleştirilmesiyle dendrogramlar şeklinde ilişkilerin ortaya konmasıdır (Manfio, 1995). Bu sınıflandırma pek çok araştırmacı tarafından bakteri sistematğinde uygulanmaktadır (Sneath ve Sokal, 1973; Sneath, 1978; Goodfellow ve Dickinson, 1985; MacDonell ve Colwell, 1985; Sackin ve Jones, 1993).

Bu sınıflandırmada mikroorganizmaların birçok özelliği ile ilgili bilgiler sayısal analiz için uygun bir şekle dönüştürülmekte ve sonra bir bilgisayar yardımı ile karşılaştırılmaktadır. Ortaya çıkan sınıflandırma, her birine eşit ağırlık verilmiş birçok özelliğin karşılaştırılması ile değerlendirilen genel benzerliklere dayanmaktadır. Bu yöntem kullanılarak doğru ve güvenilir bir sınıflandırma için; en az 50, ideal olarak 100-200 adet morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik verilerden oluşan karakter karşılaştırılmalıdır (Sackin ve Jones, 1993; Johansson, 1999).

NT olarak ifadelendirilen nümerik taksonomi fikri ilk 1957’de Sneath tarafından kullanılmıştır (Sneath, 1957a, b). Nümerik taksonomi; sınıflandırmanın temel aldığı Adanson prensiplerini esas alarak çok sayıda birim karakterlerin kullanıldığı yüksek bilgi içerir ve bu sınıflandırma pek çok araştırmacı tarafından bakteri sistematğinde ve *Streptomyces* sistematik çalışmalarında uygulanmıştır (Sneath ve Sokal, 1973; Sneath, 1978; Goodfellow ve Dickinson, 1985; MacDonell ve Colwell, 1985; Sackin ve Jones, 1993). Bu sınıflandırmanın ilk hedefi, her bir bakteriyal suşu, morfolojiden biyokimyasal, beslenmeden fizyolojik özelliklerine kadar tüm farklı safhalardan elde edilen fenetik verileri kullanarak homojen gruplar haline getirmektir.

Nümerik taksonomi çalışmasında bütün testlere tabi tutulacak suş setini; belirlenen habitattan izole edilen izolat suşlar, uluslararası olarak kabul edilen tip örnekleri ve kodlanmış referans suşlar ve duplike suşlar oluşturur. Duplike suşlar, testlerin güvenilirliğini kontrol etmek için, kullanılan OTU sayısının %10’nu kadar rastgele seçilen suşlardır (Priest ve Austin, 1993; Logan, 1994; Goodfellow, 1995).

Nümerik taksonomi çalışmasında kullanılacak karakterlerin seçimi oldukça önemlidir. Test seçiminde önemli olan; çevresel faktörlerden etkilenmeyen, tek gen ya da operonun ekspresyonunu temsil eden karakterlerin kullanılmasıdır. Böyle karakterler stabil olduğu için güvenilir doğal sınıflandırmalar elde edilebilir. Pratikte, organizmaların mümkün olduğu kadar çok, biyolojik yönlerini temsil eden bir seri test kullanmak gerekir. İdeal bir liste; koloni ve mikromorfoloji verilerini, gelişme karakterlerini, biyokimyasal testleri, inhibitör ajanların etkisini, enerji ve gelişme için tek karbon kaynağı bileşikleri, serolojik, kemotaksonomik ve moleküler genetik bilgileri içermelidir. Amaç; taksonlar arasındaki akrabalık ilişkilerini gösterecek veya farklılıkları belirleyecek yeterli bilgiyi elde etmektir. Bu nedenle, gereksiz testlerden kaçınılmalıdır ki; bu testler, çalışmada kullanılan OTU’ler için tümüyle pozitif veya tümüyle negatif olarak değerlendirilen testler olup, taksonomik çalışmada ayırt edici özelliğe sahip değildir (Priest ve Austin, 1993).

Bilgisayar analizleri için testler formata uygun bir şekilde kodlanır. Genel olarak, pozitif sonuçlar için (1) veya (+), negatif sonuçlar için (0) veya (-) şeklinde kodlama yapılır.

2.8.2. Yağ Asitleri Profillerine Göre Bakterilerin Tanısı ve Karakterizasyonu

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

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

Mikroorganizmaların hücre yapılarında (sitoplâzma ve hücresel membranlarda) fosfolipid, glikolipid veya lipopolisakkarit olarak bulunan yağ asitlerini, sayısına, çeşidine ve yüzde olarak miktarlarına göre tanılayan sistem 1985 yılında geliştirilmiştir (Miller ve Berger, 1985). Mikrobiyal Identifikasyon Sistemi (MIS) olarak isimlendirilen bu yöntem, bilgisayar kontrolünde çalışmakta olup, gaz kromatografisi, bu kromatografiyi besleyen gaz tankları (hidrojen, azot ve hava), bilgisayar ünitesi, bilgisayar ünitesiyle uyumlu çalışan kütüphaneler ve yazıcı olmak üzere 5 kısımdan meydana gelmektedir (Lelliott ve Stead, 1978). Anaerobik ve aerobik bakteriler, actinomycetes, maya ve gelişmiş funguslar bu sistem sayesinde kolaylıkla ve çok kısa sürede tanımlanabilmektedir (Miller ve Berger, 1985; Sasser, 1990; Dunfield ve ark., 1999; Buyer, 2002).

2.8.3. Metabolik Enzim Profilleri ve Biyokimyasal Özelliklerine Göre Bakterilerin Tanımlanması

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

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

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

2.9. Bakterilerin İnektisidal Özelliklerinin ve Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerinde Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması

2.9.1. Mikroorganizmaların İnektisidal Etkilerinin Belirlenmesi

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

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

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

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

2.9.2. Mikroorganizmaların Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerinde Antimikrobiyal Etkileri

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

2.10. *Chrysomela* (=Melasoma) *populi* (Linnaeus, 1758) (Kırmızı Kavak Yaprağı Böceği)

Kingdom: Animalia

Phylum: Arthropoda

Class: Insecta

Order: Coleoptera

Family: Chrysomelidae

Genus: *Chrysomela*

Species: *Chrysomela populi* (Linnaeus, 1758)



Şekil 2.1. *Chrysomela populi* Larva (Orijinal Fotoğraf)



Şekil 2.2. *Chrysomela populi* Ergin (Orijinal Fotoğraf)

Kırmızı kavak yaprağı böceği *Chrysomela populi* (Linnaeus, 1758) kavaklarda, titrek kavaklarda az da olsa söğütlerde ciddi anlamda hasara sebep olan transpalaeartic bir türdür. Böcekleri orta boyda (10-12 mm, genel olarak dişiler büyük), metalik mavi yeşil ile siyah renkte, siyah apikal noktalı kırmızı bir elitraya sahiptir (Şekil 2.1 ve Şekil 2.2). Kışı toprakta geçiren yetişkinler ilkbaharda ortaya çıkar ve beslenmeye başlar. Genç ve yumuşak yaprakları tercih etseler de yaşlı ve sert yaprakları isteksiz olarak tamamen yaprak iskeletine kadar tüketirler. Dişiler yumurtalarını yaprağın alt yüzeyine gruplar halinde bırakır. Larvaların beslenme tercihi yetişkinlerle aynıdır. İnstarlar önce grup halinde durur, erginleşince dağılırlar. Vücudun dorsalinde rahatsızlık verici keskin brombenzen kokulu bir larval salgı bezi vardır. Chrysomelidae larvaları dorsal bezli üç tipik instar geçirmektedirler (Zaitzev ve Medvedev, 2009).

Pupa devresi yapraklar ve dallar üzerinde olur, son instar kutikulası tamamen dökülmez fakat kaudal sonuna doğru kıvrılır, bu şekilde pupanın yüzeye tutunması için olanak sağlanır. Pupa alt tabakadan uzağa itilelerek, bir sarkaç gibi sarsıntılı hareket eder (Hassan ve Mahmoud, 2008).

2.10.1. Yayılışı ve Zararı

Avrupa, Kuzey Afrika, Batı ve Kuzey Asya, Hindistan, Çin ve Japonya'da yaşar. Türkiye'de Bozdağı, Bilecik, İstanbul, İzmit, Bursa, Denizli, Trabzon, Sarıkamış, Kars, İzmir, Tire, Kiraz, Ödemiş, Bergama, Kınık, Selçuk, Menemen, Düzce, Bolu, Sinop, Bartın, Kastamonu, Balıkesir, Çanakkale, Kırklareli, İpsala ve Çatalca bölgelerinde tespit edilmiştir. Birinci dönem larvalar toplu halde yaşarlar ve sadece geniş yapraklarla beslenirler. İkinci dönem larvalar, etrafa yayılırlar. Sadece yaprağın orta damarını bırakarak genç ve yaşlı yaprakların her ikisini de yerler. Üçüncü dönem larvalar ile erginler ise tüm yaprağı tüketirler. Kuvvetli zarar nedeniyle sürgünlerde dallanmalar başlar. Odunun değeri düşer. Ayrıca sürgünlerin odunlaşması yeterli düzeyde olmaz. Bundan dolayı odun zararına karşı çok hassas olurlar. En büyük zararını 1-2 yaşlı kavak fidanlarında yeni tesis edilmiş kavak alanlarında ve parklarda yapmaktadır. Ormandaki zararı önemsizdir (Özcan ve Ünal, 2006).

2.11. *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915)

B. thuringiensis aerobik, hareketli, çubuk şeklinde, Gram ve katalaz pozitif, endospor oluşturan, fermentatif, mikroaerofilik ve anaerobik koşullarda üreme yeteneğine sahip bir mikroorganizmadır. Hücreler 1µm genişliğinde 5µm boyundadır (Schnepf ve ark., 1998). *B. thuringiensis*'in sahip olduğu parasporal kristal, yapısında birçok zararlı böcek türü için toksik etki gösteren proteinleri ihtiva etmektedir. Bu proteinler, kristal (cry=crystal) ve sitolitik (cyt=cytolytic) proteinler olarak iki ana grupta incelenmektedir. Parasporal kristalde bulunan cry proteinleri inaktif durumdadır (Soberon ve ark., 2007). Parasporal kristal, beslenme ile birlikte böceğin sindirim sistemine geçtikten sonra burada çözülür ve açığa çıkan cry proteinleri genellikle proteolitik enzimler tarafından kesime uğrayarak aktif toksin haline dönüşürler. Bu aşamadan sonra sindirim sisteminde bulunan epitel hücreleri ile etkileşime giren toksinler membran geçirgenliğini bozarak hücrenin lizisine sebep olur (Bravo ve ark., 2007).

B. thuringiensis topraktan, depolanmış ürünlerden, böcek habitatlarından, yaprak yüzeyinden, iğne yapraklı ağaçlar ve otlardan kolaylıkla izole edilen, doğal ortamlarında her yerde bulunabilen bir bakteridir (Ben-Dov ve ark., 1997; Bernhard ve ark., 1997; Bobrowski ve ark., 2002; Uribe ve ark., 2003; Vilas-Boas ve Lemos, 2004). Bu habitatlar içerisinde en çok toprakta bulunmaktadır (Ohba ve ark., 2000).

2.11.1. *Bacillus thuringiensis*'in Biyolojik Kontroldeki Yeri

Zararlılara karşı pestisit uygulamasının %0.015-6.0'sı hedef alınan canlı üzerine ulaşmakta, geri kalan %94-99.9'luk kısım ise agroekosistemde hedef olmayan organizmalara ve toprağa ulaşmakta ya da çevredeki doğal ekosistemlere sürüklenme ve akıntı nedeniyle kimyasal kirleticiler olarak sulara karışmaktadır (Tiryaki ve ark., 2010). Kimyasal mücadelenin bu olumsuz etkileri biyolojik mücadelenin gerekliliği ve önemini artırmıştır.

Biyopestisitlerin çevre ve insan sağlığı üzerine hiçbir olumsuz etkisi yoktur. Besin zincirine zarar vermemekte ve gıdalar üzerinde toksik kalıntı bırakmamaktadır (Çakmakçı ve Erdoğan, 2005). Böceklerin kontrolünde kullanılan en başarılı böcek patojeni insektisit marketinin %2'sini oluşturan *B. thuringiensis* bakterisidir. Bu bakteri farklı böcek takımlarının larval evrelerine karşı aktiftir, muhtemelen diğer

bakteri türleriyle birlikte septisemiye neden olarak larvanın ortabağırsak dokusunun bozulmasına ve dolayısıyla böceklerin ölümüne sebep olmaktadır (Raymond ve ark., 2010). *B. thuringiensis*'e ait biopreparatların yaygın olarak Diptera ve Lepidoptera takımlarına ait zararlıların larvalarına karşı kullanıldığı bilinmektedir (Yıldırım, 2000).

B. thuringiensis sprey formülasyonlarıyla ya da transgenik ürünler elde edilmesi yoluyla biyoinsektisit olarak kullanılmaktadır (Lui ve Tabashnik, 1997). Tarımda bu bakteriye dayalı sprey ürünleri kullanımı sınırlıdır; çünkü Cry toksinleri genç larvalara spesiflik gösterir ve güneş ışığına karşı duyarlıdır. Tarımda kimyasal insektisitlerin azalmasında Cry toksinlerini sentezleyebilen transgenik ürünlerin gelişimi önemli bir adımdır. Transgenik bitkilerde Cry proteini devamlı olarak üretilmekte, bu arada insektisidal toksin ultraviyole degradasyonundan korunmakta ve spesifik olarak hedeflenen organizmalara ulaşmaktadır. 2009 yılında dünya çapında 40 milyon hektardan fazla *B. thuringiensis* ürünü yetiştirilmiştir. Bu durum kimyasal pestisit kullanımını önemli ölçüde azaltmış ve bazı böcek zararlılarıyla mücadeleye oldukça büyük katkı sağlamıştır (Tabashnik ve ark., 2010).

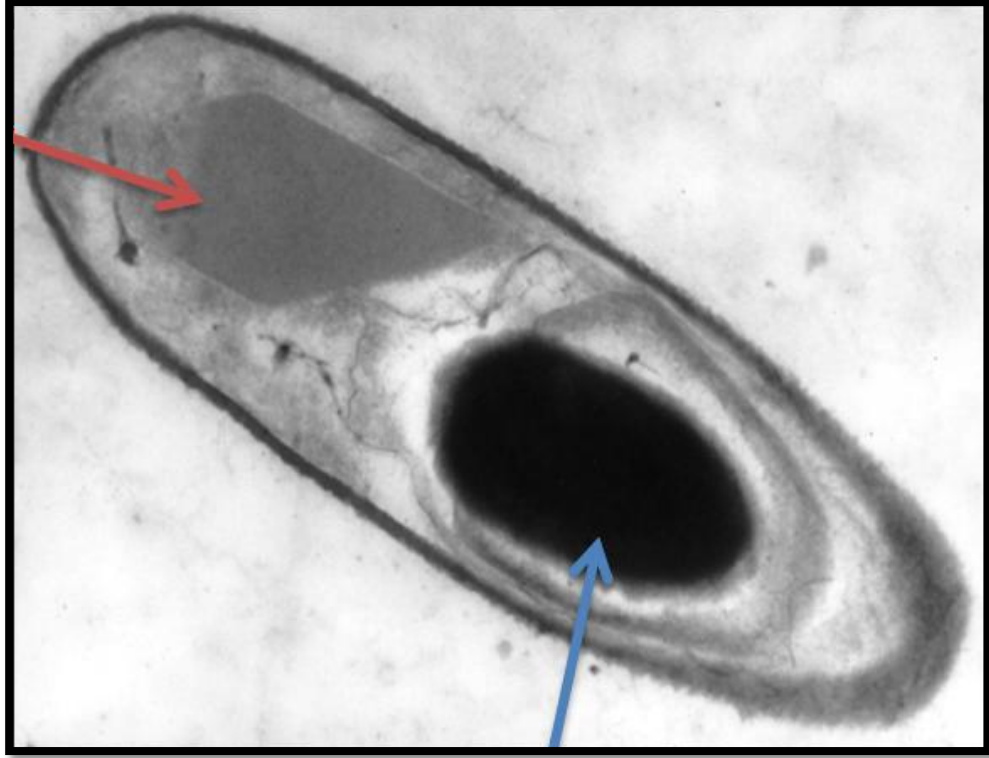
2.11.2. *Bacillus thuringiensis* İnsektisidal Kristal Proteinleri ve Etki Mekanizmaları

B. thuringiensis sporulasyonu sırasında parasporal kristaller şeklinde insektisidal proteinler üretirler. Bu proteinler, diğer bir terminalojjiyle δ -endotoksinler Crystal (Cry) ve Cytolitic (Cyt) toksinleri içerirler ve hedeflenen organizmaya karşı spesifik toksisite gösterirler. Belirli böcek ordolarına karşı aktifken, insanlara, omurgalılara, bitkilere karşı zararsızdırlar (Bravo ve ark., 2005). Cry1, Cry2 ve Cry9 Lepidopterlere, Cry3, Cry7 ve Cry8 Coleopterlere, Cry4 ve Cry11 grupları ise Dipterlere karşı oldukça spesifik etki gösterir. Bazı Cry proteinleri birden fazla böcek ordosuna karşı toksisite gösterebilmektedir (Wang ve ark., 2003). 500'den fazla farklı Cry gen sekansları 67 grup içerisinde sınıflandırılmıştır (Cry1-Cry67) (Crickmore ve ark, 2010).

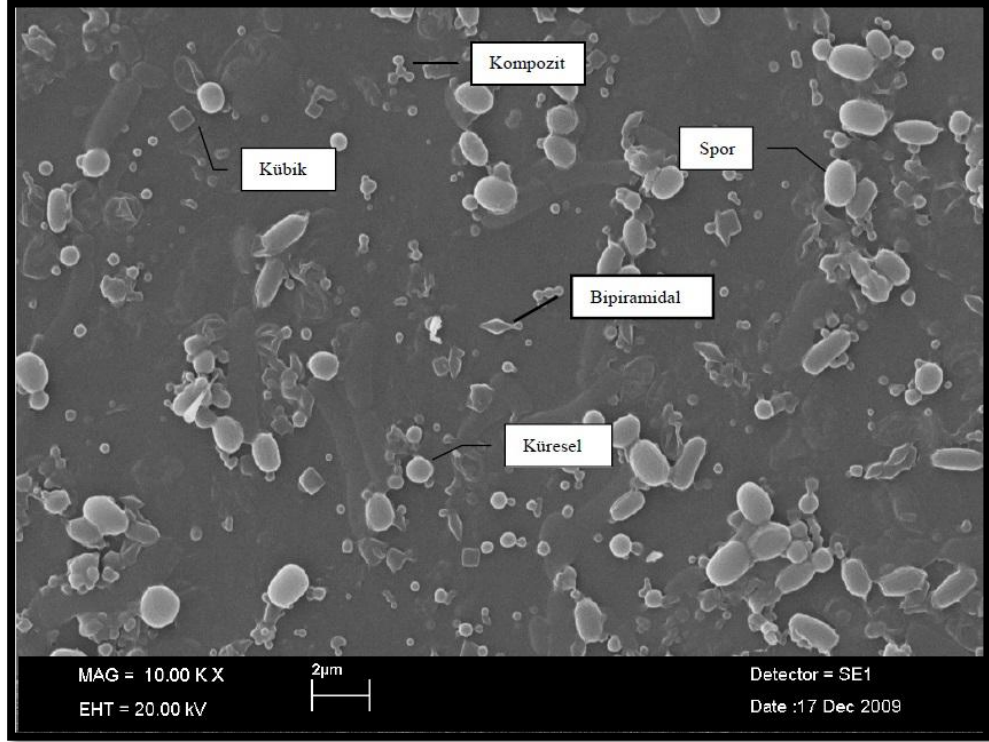
B. thuringiensis'in biyolojik aktivitesi özgül böceklerle karşı Cry ve Cyt genlerinin oluşturduğu aktif insektisidal kristal proteinler sayesinde. Bu proteinlerin insektisidal etki gösterebilmesi için böcek tarafından sindirilmesi gerekir (Visser ve

ark., 1993). Spor-endotoksin karışımı toprakta bulunan ya da bitkiler üzerinden beslenen böcekler tarafından alınır. Larvalar tarafından sindirimle alınan insektisidal kristal proteinler bağırsağın alkali ortamında çözünür. Çözündükten sonra inaktif protoksinler orta bağırsak proteazları tarafından proteolitik kesimlerle aktif hale getirilir. Kesim proteinin C-terminus ucundan olur (Choma ve ark., 1991). Cry1A protoksinlerinde kimotripsin veya tripsin benzeri proteazlarla kesim gerçekleştirilir (Novillo ve ark., 1997). 130 kDa moleküler ağırlığına sahip proteinden 65 kDa'luk bir protein elde edilir (Choma ve ark., 1991). Aktif hale gelen toksin böcek orta bağırsak epitelyum membranındaki reseptör proteinlere bağlanır. Toksinin böcek orta bağırsağına bağlanmasıyla birlikte toksinde konformasyonel değişiklikler meydana gelir. Toksin monomerlerinin oligomerizasyonu ile seçici iyon kanalları ve ardından membran yüzeyinde geniş porlar oluşur. Bu durum osmotik dengenin bozulmasına, hücrelerin şişmesine ve lizis olmasına neden olur. Larva beslenemez hale gelir ve sonuçta ölür (Baum ve Malvar, 1995). Daha düşük dozlarda ya da daha az duyarlı böceklerde, bağırsak hücrelerinin zarar görmesi normal bağırsak salgısının durmasında etkilidir ve bu olay da sporların gelişmesine izin verir. Vejetatif hücreler daha sonra içeri girerek septisemiye neden olur ve ölüm gerçekleşir (Mark ve Byron, 2003).

B. thuringiensis'in endosporu ve kristal proteinleri Şekil 2.3 ve Şekil 2.4'de gösterilmiştir.



Şekil 2.3. *B. thuringiensis* Endosporu (mavi ok ile gösterilmiştir) ve İnsektisidal Kristal Proteinleri (kırmızı ok ile gösterilmiştir) (Yılmaz, 2013)



Şekil 2.4. Spor ve Kristal Proteinlerin Taramalı Elektron Mikroskop Görüntüsü (Yılmaz, 2010)

2.11.3. *Bacillus thuringiensis* Toksinlerine Karşı Böcek Direnci

Böcekler çeşitli mutasyonlarla Cry toksinlerine direnç geliştirebilir ve bu mutasyonlar Cry toksininin etki mekanizmasını etkileyebilir. Yapılan çalışmalar dirençliliğin farklı mekanizmalarla geliştirilebileceğini göstermektedir. Cry toksinlerinin aktivasyonu değiştirilerek (Oppert ve ark., 1997), esterazlarla (Gunning ve ark., 2005) veya lipophorin ile toksini ayırarak (Ma ve ark., 2005), toksin reseptörlerinin değişmesiyle böcek bağırsağındaki membrana bağlanması azaltılabilir (Griffits ve Aroian, 2005). Şimdiye kadar böcek zararlılarında toksine karşı gösterilen en yaygın direnç mekanizması böcek bağırsak hücrelerine toksin bağlanmasının azalması şeklindedir. Bu durum Cadherin, ALP, PN gibi Cry toksin reseptörlerinde meydana gelen mutasyonlardan kaynaklanmaktadır (Bravo ve ark., 2011). Böceklerin direnç geliştirmesine karşılık yeni toksin formlarının bulunması önemlidir. Bu yüzden farklı bölgelerden çok sayıda *B. thuringiensis* suşları izole edilmekte ve Cry genleri klonlanmaktadır. *B. thuringiensis* suşlarının çeşitliliği yeni Cry genlerinin bulunmasını kolaylaştırmaktadır. Bilinen Cry gen alt gruplarının yeni varyantları, sekanslarındaki varyasyonlardan dolayı farklı seviye ve spektrumda toksisite gösteren kristal proteinlerini kodlayabilirler (Xue ve ark., 2008).

3. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bilindiği üzere hızlı gelişen ağaç türleri arasında bulunan kavak, geleneksel ağaç türlerimiz arasında yer alıp uzun yıllardan beri ülkemizde yetiştirilmekle birlikte, özellikle İzmit ve Adapazarı yöresinde ağırlık kazanmıştır. Kavak yetiştiriciliğinde kaliteli, teknik özellikleri iyi kavak odunu elde etmek temel amaçtır. Bu amaca ulaşılabilmesi; uygun yetiştirme teknikleri yanında kavaklarda zarar yapan böceklerin biyoekolojisi, mücadele yöntemlerinin de iyi bilinmesine bağlıdır. Yapılan çalışmalar birçok böcek türünün ülkemiz kavak ormanlık ve fidanlık alanlarında ciddi tahribatlara neden olduğunu ortaya koymuştur. Bu kapsamda bu böceklerin tespiti ve mücadelesine yönelik çalışmaların giderek artacağı öngörülmektedir.

Sekendiz, (1974), Sesiidae familyasına bağlı türler içerisinde ülkemizde en yaygın olarak görülen kavak yalancı arısının (*Parantherene tabaniformis* (Rott.)) kavak yetiştiriciliği için önemli zararlılardan birisi olduğunu tespit etmiştir.

Yıldız, (1975), *Saperda populnea* (L.)'nin biyolojisi, zararı ve mücadelesi ile ilgili çalışmalar yapmış; kavak ağaçlık ve fidanlıklarında yaptığı gözlemlerde bir sürgün üzerinde 1-6 arasında değişik sayıda şişkinlikler tespit etmiştir. Şişkin dalların kesilip laboratuvara getirilerek incelenmesi sonucu zararlının genç fidan ve yeni ağaçlıklarda zararının çok büyük olduğunu saptamıştır.

Can, (1988), Bursa-Mustafakemalpaşa'da 7 yaşlı bir *Populus x euroamericana* I-214 kavak ağaçlandırmasında yaptığı çalışmada, ülkemizde şimdiye kadar rastlanmayan *Pygaera anastomosis* (L.) (Lepidoptera: Notodontidae) isimli yaprak zararlısını tespit etmiştir.

Özay, (1992), Meriç havzası kavak ağaçlandırma sahalarını incelemiş, zararlı olan böcek türleri ve zararlı olma sebeplerini, böcek zararlarının artması ile iklim, toprak, Meriç yatağındaki su yüksekliği ve klonlar arasındaki muhtemel ilişkileri araştırmıştır. Zararlıların ortaya çıkmasında iklim, toprak ve suyun, özellikle taban suyu seviyesinin birinci derecede etkili olduğunu ortaya koymuştur. Bölgede Coleoptera takımı Buprestidae familyasından *Capnodis miliaris* (Klug.), *Agilus ater* (L.), *Melonophila picta* (Pall.), Curculionidae familyasından *Bytiscus populi* (L.), Chrysomelidae familyasından *Chrysomela populi* (L.), *Phyllodecta vitellinae* (L.)

(*Phratora vitellinae*), Scarabaeidae familyasından *Polyphilla fullo*, ayrıca Lepidoptera takımı Sesiidae familyasından *Parantherene tabaniformis* (Rott.), Sphingidae familyasından *Smerinthus ocellata* (L.)'nin zararlı olduğunu tespit etmiştir.

Çobanoğlu, (1992), Edirne ilinde kavaklarda zararlı kavak beyaz kelebeği *Leucoma salicis* (L.) (Lep.: Lymantriidae)'in yayılışı ve kısa biyolojisi üzerinde çalışmıştır. Bu türün kavaklarda oldukça yüksek populasyon oluşturarak ağaçları yapraksız bıraktığını tespit etmiştir.

Zeki ve Toros, (1992), Orta Anadolu Bölgesinde kavakların önemli zararlıları olan *Chrysomela populi* (L.) ve *Chrysomela tremulae* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae)'nin değişik konukçu bitkilerde gelişimini araştırmıştır. Çalışmalar laboratuvarında *Populus nigra*, *Populus x euroamericana* (Dode) Guiner, *P. alba* ve *Salix babylonica* olmak üzere 4 konukçu bitkide yürütülmüştür. Çalışma sonucunda *Populus x euroamericana*'nın her iki tür için duyarlı, *P. alba*'nın ise dayanıklı konukçu bitki olduğunu belirlemiştir.

Güler ve Can, (1994), Orta ve Güney Doğu Anadolu Bölgelerinde (Yozgat, Ereğli (Konya), Diyarbakır, Şanlıurfa) kavak fidanlık ve ağaçlıklarda yaptıkları çalışmada görülen zararlıların teşhisi ile klon, fidan kalitesi, toprak özellikleri, dikim öncesinde ve sonrasında uygulanan kültürel tedbirlerin şekli ve zamanı ile zararlıların etkinliği arasındaki ilişkileri araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, *Capnodis miliaris* (Klug.)'in Güney Doğu Anadolu'da iklim şartları nedeniyle her zaman kontrol altında tutulması gerektiği ve *Melanophila picta* (Pall.)'in çalışma alanlarında yoğun olduğu ve hassasiyetin kuraklıkla arttığını, ayrıca *Sciapteron tabaniformis* (Rott.)'in fidanlık ve yeni ağaçlandırmalarda zararının çok olduğu, ancak farklı klonlarda farklı yoğunluklarda zarar yaptığını tespit etmişlerdir.

Güler ve ark., (1995), Akyazı, Adapazarı-Karasu, Hendek, Düzce, Çarşamba (Samsun) yörelerinde kavak fidanlık ve ağaçlandırmalarında büyük zararı görülen *Cryptorhynchus lapathi* (L.) (Coleoptera: Curculionidae)'ye karşı mücadele şekli ile en uygun zamanı tespit etmişlerdir. Arazide yapılan incelemelerde taban suyunun yüksek ve su beslenmesinin çok iyi olduğu yerlerde böceğin çok etkin olduğu, ancak ağaç çapı arttıkça böceğin etkinliğinin de azaldığını belirlemiştir.

Güler ve Can, (1995), İç Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde bulunan kavak fidanlıklarında özellikle Behiçbey (Ankara) ve Diyarbakır'da yapılan çalışmalarda çeşitli klonların *Paranthrene tabaniformis* (Rott.)'e karşı hassasiyetlerinde çok büyük değişiklikler olduğunu kaydetmişlerdir. Fidanların çap, boy ve formlarının böcek zararlarından etkilenmediğini saptamışlardır. Bu nedenle sonuç olarak bir klonun bu böceğe hassasiyetini belirleyebilmek için mutlaka klonun kullanılacağı yerde yapılacak incelemelerin önemli olacağını vurgulamışlardır.

Hakyemez, (1995), Zonguldak Bölge Müdürlüğü ormanlarında yaptığı çalışmada Noctuinae altfamilyası (5), Plusiinae alt fam. (4), Catacolinae alt fam. (4), Chloephorinae alt fam. (2), Hypheninae alt. fam. (1), Cucullinae alt fam. (5), Ophiderinae alt fam. (1), Acontunae alt fam. (1), Amphyrinae alt fam. (5), Heliethinae alt fam. (4), Acronictinae alt fam. (4), Hadeninae alt fam. (6) olmak üzere 12 alt familyaya ait 42 böcek türü tespit etmiştir.

Tope, (1995), Bartın bölgesinde *Populus tremula*, *P. alba* ve *P. nigra* ile *P. x euramericana* cv. "I-214" üzerinde yapmış olduğu çalışmada bölgede kavaklarda zarar yapan Orthoptera takımından *Gryllus desertus* (Pallas) ile *Gryllotalpa gryllotalpa* (L.); Homoptera takımından *Chaitophorus populeti* (Panzer), *Chrysomela tremulae* (Koch), *C. versicolor* (Koch), *Pemphigus bursarius* (L.), *P. immunis* (Buckton), *P. protospirea* (Lichtenstein); Coleoptera takımından *Chrysomela populi* (L.), *Crepidodera aurata* (Marsham), *C. aurea* (Geoffroy), *Bytiscus betulae* (L.) ve Lepidoptera takımından *Hyphantria cunea* (Drury), *Lymantria dispar* (L.), *Cerura vinula* (L.), *Archips xylosteana* (L.) olmak üzere 4 takımdan 10 familyaya ait 16 tür saptamıştır.

Kılıç ve Alaoğlu, (1996), Erzurum'da 1992 ve 1993 yıllarında kavaklarda zarar yapan *Leucoma salicis* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae)'in biyolojisi ve parazitoidleri üzerine yaptıkları araştırmada, özellikle beyaz kavaklarda (*Populus alba* L.) popülasyon oluşturan kavak beyaz kelebeğinin biyolojisini, ağaçlardaki doğrudan gözlemleri yanında, 6 adet dal kafesinde de izlemişlerdir.

Aslan ve Özbek, (1996), Erzurum'un özellikle kuzey ilçelerinde 1 800 metrenin üzerindeki yamaçlarda bulunan karakavaklarda *Chrysomela collaris* (L.) (Coleoptera: Chrysomelidae)'in yeni bir kavak zararlısı olduğunu saptandıktan sonra

bu böceğin biyoloji ve zararını araştırmışlardır. Çalışmada erginlerin mayıs ortalarından itibaren bitkinin tomurcuklarıyla beslendiği ve daha sonra da larvalarla birlikte yapraklarda beslenmeleri sonucu erken ilkbaharda ağaçlarda yer yer kurumalara neden olduğu belirlenmiştir. *P. x. euroamericana'nın* her iki tür için duyarlı, *P. alba'nın* dayanıklı konukçu bitki olduğunu belirlemişlerdir.

Aslan, (1997), Erzurum'da yaptığı bir çalışmada, yaprak böceklerinden (Coleoptera: Chrysomelidae) kavak ve söğütlerde bulunduğu 28 türün; Alticinae altfamilyasından 3, Chrysomelinae'den 9, Galerucinae'den 6 türün söğüt ve kavak zararlısı olduğunu belirlemiştir.

Tozlu, (1997), Sarıkamış (Kars)'ta 1996 ve 1997 yıllarında titrek kavak (*Populus tremula* L.)'ta zarar yapan böcek türlerinin tespiti ve bunlardan bazı önemli türlerin biyolojisi üzerinde yaptığı çalışmalarda, daha çok sarı çam (*Pinus sylvestris* L.) ormanları içerisinde bireysel gruplar halinde kendiliğinden yetişen titrek kavak ağaçları üzerinde beslenen 18 böcek türü tespit etmiştir. Bu türlerden; *Chionaspis salicis* (L.), *Lepidosaphes ulmi* (L.), *Chaitophorus tremulae* (Koch), *Chrysomela collaris* (L.), *Crepidodera aurea* (Geoffroy), *Bytiscus betulae* (L.) ve *Phyllonorycter apparella* (Herrich-Schäffer) yörede yaygın olan ve yer yer yüksek popülasyon oluşturan zararlılar olduğunu, *Poecilonota variolosa* (Paykull), *Cerambyx (Mesocerambyx) scopolii* (Fuesslin), *Hylotrupes bajulus* (L.), *Leptura quadrifasciata* (L.), *Rhagium bifasciatum* (F.), *Saperda (Anaerea) carcharias* (L.), *S. (Argalia) perforata* (Pallas) ve *Xylotrechus rusticus* (L.) türlerinin ise az sayıda bulunan ve fazla yaygın olmayan türler olduğunu saptamıştır. Yüksek popülasyon oluşturan türlerden *C. collaris* ile *B. betulae'nın* biyolojisi üzerine çalışarak, diğer türler üzerinde bazı biyolojik gözlemler yapmıştır.

Selek, (1998), İzmit ve Adapazarı yöresinde kavak ağaçlarında zarar yapan Lepidoptera türleri ve bu türlerin yayılışı, biyolojileri ve zararları ile ilgili çalışmalar yapmıştır. Çalışma sonunda Lepidoptera takımından 9 familyaya ait 21 tür tespit etmiştir.

Şimşek, (1998), Çankırı (Kenbağı Orman Fidanlığı)'da *Paranthrene tabaniformis* (Rott.) ile mücadelede kitlesel tuzaklama (mass-trapping)'nın etkinliğini ve kelebek uçuşları dikkate alınarak kimyasal mücadelenin belirlenmesi amacıyla yaptığı

çalışmada kitle halinde tuzakla yakalama yönteminin izole olmayan kavak fidanlıklarında kullanılamayacağı, türe özgü feromonla uçuş seyrinin kolaylıkla izlenebileceğini, ergin uçuşlarının görüldüğü tarihlerde yapılacak ilaçlamalarla zararlının kontrol altına alınabileceğini belirlemiştir.

Aslan ve ark., (1999), Erzurum'da söğüt ve kavaklar üzerindeki çalışmalarında yapraklar üzerinde yoğun zarar yapan yeni böcek türünün *Isochus populicola* (Silfverbeng) (Coleoptera: Curculionidae) olduğunu belirlemiştir. Zararlının bulaşık olduğu alanlar ile biyolojisi ve zararı, doğal koşullarda tel kafeslerde kültüre alınarak izlenmiştir. Mayıs ayı başlarından itibaren görülen zararlının temmuzun ilk haftasında yaprak başına 34 ergin bireyle en fazla yoğunluk oluşturduğunu saptamışlardır.

Kanat, (2000), Kahramanmaraş'ta kavaklarda zarar yapan Lepidoptera ve Coleoptera türlerini ortaya koymuş ve Coleoptera takımından değişik familyalara ait 10 tür (*Capnodis carbonaria*, *Capnodis miliaris* (Klug.), *C. porosa*, *Melanophila picta* (Pall.), *Chrysomela populi* (L.), *Anoxia orientalis*, *Polyphylla fullo* (L.), *Anomala osmanlis*, *Bytiscus populi* (L.)), 10 tane de Lepidopter türü (*Cossus cossus*, *Paranthrene tabaniformis*, *Saturnia pyri*, *Laothoe populi*, *Leucoma salicis* (L.), *Mesogona oxalina*, *Acronicta megacephala* (Denis ve Schiffermüller), *A. acaris*, *Catocala elocata* (Esp.), *C. puerpera*) tespit etmiştir.

Özay ve ark., (2000), Bursa, İzmit, Sakarya, Edirne, Samsun-Bafra illerinde *Populus* ve *Salix* türlerinde zarar yapan *Pygaera anastomosis* (L.) (Lep.)'in yayılışı ve biyolojisi konusunda çalışmışlardır. Ortaya çıktığı ilk zaman önemli yaprak kayıplarına sebep olan zararlının popülasyon yoğunluğunda daha sonra büyük düşüşlerin olduğunu saptamışlardır.

Şimşek, (2000), Ilgaz Dağı Milli Parkı'nda bulunan Lepidoptera türleri ve popülasyon dalgalanmasını araştırmıştır. Çalışma alanında 35 bitki zararlısı böcek türü bulunmasına karşın biyolojik dengenin varlığı nedeniyle zararlı duruma gelmediklerini belirlemiştir.

Şahin ve Uğur, (2002), Ankara ilinde 2001-2002 yıllarında, kavak zararlısı Coleoptera ve Lepidoptera takımına bağlı türleri tespit etmek amacıyla yürüttüğü çalışmada, Ankara ilinde kavaklarda zarar yapan Coleoptera takımından 3 familyaya

ait 7 tür, Lepidoptera takımından 10 familyaya ait 15 tür tespit etmiştir. Behiçbey Orman Fidanlığı'nda *Agrilus ater* (L.), *Phyllodecta vitellinae* (L.), *Paranthrene tabaniformis* (Rott.); Atatürk Orman Çiftliği Fidanlığı'nda *Agrilus ater* (L.), *Capnodis miliaris* (Klug.), *Bytiscus betulae* (L.), *Paranthrene tabaniformis* (Rott.), *Malocosoma neustria* (L.), *Lymantria dispar* (L.), *Hyphantria cunea*, (Drury), *Acronycta megacephala* (Denis ve Schiffermüller); Çubuk Abadan köyünde ise *Agrilus ater* (L.), *Capnodis miliaris* (Klug.), *Bytiscus betulae* (L.), ve *Malocosoma neustria* (L.)'nın diğer türlere göre daha yoğun olduğu gözlenmiştir.

Şahbaz ve Uysal, (2005), Konya ilinde 2003 ve 2004 yıllarında kavak alanlarında yaptıkları çalışmada Aphidoidea üst familyasının Aphididae familyasına bağlı Aphidinae, Chaitophorinae, Pemphiginae ve Pterocommatinae alt familyalarına ait üç cinse ait on tür belirlemişlerdir.

Kolaş, (2007), Konya ilinde kavak ağaçlarında zarar yapan böcekler ile avcı böcek türlerinin belirlenmesi üzerine araştırmalar yapmıştır. Bu çalışma 2005–2006 yıllarında kavak ağaçlarının yoğun olarak bulunduğu Konya merkez, Selçuklu, Karatay ve Meram ilçelerindeki orman-park, yol kenarları ve peyzaj alanlarında yürütülmüş ve kavaklarda zararlı böcek ve predatör böcek türlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bitki zararlısı türler olarak; *Rhytidodus decimusquartus* (Schrk.) (Homoptera: Cicadellidae) ve aynı familyadan cins düzeyinde teşhis edilmiş 8 tür, *Monosteira unicostata* (M.R.) (Heteroptera: Tingidae), *Chrysomela populi* (L.) ve *Crepidodera aurea* (Geoffrey) (Coleoptera: Chrysomelidae) ile aynı familyadan 4 tür, *Smerinthus populi* (L.) (Lepidoptera: Sphingidae) ve *Euproctis chrysorrhoea* (L.) (Lymantriidae) bulunmuştur. Bu türlerden *Chrysomela populi* en yaygın olan türdür. Predatör türler olarak *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) ve Coccinellidae familyasından 8 tür bulunmuştur.

Aktaş ve ark., (2008), İç Anadolu Bölgesi'nde kavaklarda kurumalara neden olan *Cytospora chrysosperma* "Pers." Fr.'nin morfolojik özellikleri, zarar durumu ve *Paranthrene tabaniformis* (Rott.) (Lepidoptera: Sesiidae) arasındaki ilişkiler üzerine bir çalışma yapmış ve Çankırı Kenbağ Orman Fidanlığı ve Orta Anadolu Bölgesinde yetiştirilen kavak ağaçlarındaki kurumalara *Cytospora* kanseri (*Cytospora chrysosperma* "Pers." Fr.)'nin neden olduğunu tespit etmişlerdir.

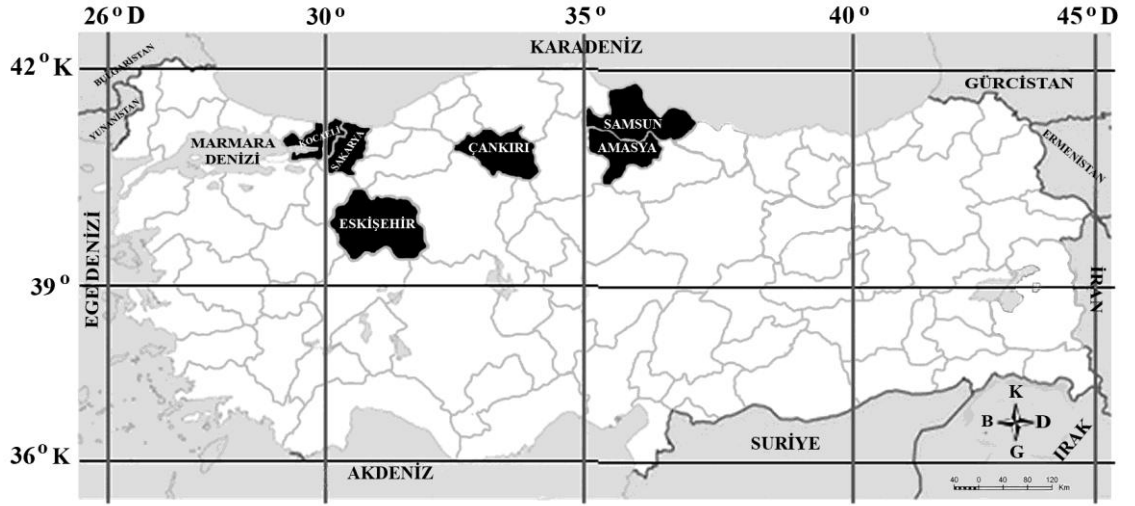
Şimşek ve Aktaş, (2010), Çankırı kavak alanlarında *Cytospora* kavak kanseri (*Cytospora chrysosperma* “Pers” Fr.)’nin biyolojisi ile saydam kanatlı kavak kelebeği (*Paranthrene tabaniformis* (Rott.))’nin popülasyon seyri ve bunların mücadelelerine ilişkin bir çalışma yapmışlardır. *C. chrysosperma* hastalığının, kavak fidan üretim alanlarında özellikle üretim aşamasında bulaştığı, yayılmasında hastalığın vektör, rüzgâr ve yağmurla sağlıklı ağaçlara bulaştığı; hastalık ve zararlılarla bulaşık fidanların üreticilere ulaşmasıyla yayılış alanlarının bölge düzeyinde genişlediği; fungal etmen yara paraziti olduğundan böcek veya başka faktörler nedeniyle meydana gelen yaralardan giriş yaparak hastalık oluşumuna neden oldukları, bulaşıklılığın yüksek olmasında, bu hastalıkla mücadele yöntemlerinin yeterince bilinmemesinin de etkili olduğu kanısına varılmıştır.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Materyal

4.1.1. Böceklerin Toplanması İçin Arazi Çalışmaları

Bu tez çalışmasında metot alanı, aralarında coğrafik farklılıklar olacak şekilde seçilmiştir. Kavak ağacının yaygın olduğu iller göz önüne alınarak çalışma alanları Kocaeli (İzmit), Sakarya (Akyazı), Samsun, Çankırı, Amasya ve Eskişehir illeri olarak tespit edilmiş, tez süresince kullanılacak ergin *Chrysomela populi* örnekleri bu illerden temin edilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Örnekleme Alanları

4.1.2. Örneklerin Alınması

Kocaeli (İzmit), Sakarya (Akyazı), Samsun, Çankırı, Amasya ve Eskişehir illerinden Nisan-Eylül 2013 tarihleri arasında örnekleme yapılmıştır. Canlı, ergin *Chrysomela populi* örnekleri yaprak üzerindeyken, ağacın alt kısmına bez sermek ve dallara sopa ile vurarak ya da dalları sallayarak beze düşen erginleri toplamak suretiyle elde edilmiştir. Toplanan örnekler steril tüplere konularak Ordu Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarına getirilmiş, bakteri izolasyonu yapılana kadar -20°C’de muhafaza edilmiştir.

4.1.3. Böceklerin Teşhisi

Arazi çalışmaları sonrasında örnekler Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde Prof. Dr. Mustafa YAMAN tarafından tayin anahtarı kullanılarak yapılmıştır.

4.2. Yöntemler

4.2.1. Total Bakteri İzolasyonu

Toplanan örneklerden ölü ve sağlıklı olmayanlardan, bakteri izole etmek için ayrı ayrı her bir ilden en az 10 tane ergin böcek seçilip steril tüplere konulmuştur. Tüplere konulan örneklerin yüzey sterilizasyonu %70’lik alkolle yapılmıştır (Poinar ve Thomas, 1978). Bu işlemden sonra aseptik şartlarda örnekler iki kez steril saf suyla yıkanmıştır. Tüplere 10’ar mL steril saf su ilave edilerek örnekler saf su içerisinde homojen hale gelene kadar ezilmiştir. Bu işlem bittikten sonra Nutrient Agar (Merck) üzerine 100 µL ilave edilerek yayma plaka ekimi yapılmıştır. Steril tüp içerisinde kalan homojen karışım *Bacillus* türleri izole etmek için 80°C’de bir saat bekletilmiş ve Nutrient Agar (Merck) üzerine 100 µL ilave edilerek yayma plaka ekimi yapıldıktan sonra 37°C’de 1-2 gün inkübasyona bırakılmıştır.

4.2.2. Saf Kültürlerin Hazırlanması

İnkübasyon sonunda Nutrient Agar (Merck) üzerinde oluşan koloniler tek tek tespit edilmiştir. Bunlar arasında koloni morfolojisine ve rengine göre birbirinden farklı olanlar belirlenmiştir ve bu koloniler alınarak çizgi ekim yöntemi ile Nutrient Agar

(Merck) üzerine ekim yapılarak saf kültürler hazırlanmıştır. Birbirlerinden morfolojik olarak farklı olan örneklere çeşitli boyama yöntemleri uygulanmıştır. Boyama sonucunda bakteri şekil ve renklerine göre ayrılan örnekler deney materyali olarak seçilmiştir. Saf kültürleri elde edilen izolatlara laboratuvar kodu verilmiştir. İzolatların temin edildikleri iller Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Bakteriyel İzolatların Laboratuvar Numaraları ve Temin Edildikleri İller

Laboratuvar kodu	Tür	Lokalite
ED001	<i>Chrysomela populi</i>	Sakarya (Akyazı)
ED002	<i>Chrysomela populi</i>	Sakarya (Akyazı)
ED003	<i>Chrysomela populi</i>	Samsun
ED004	<i>Chrysomela populi</i>	Sakarya (Akyazı)
ED005	<i>Chrysomela populi</i>	Kocaeli (İzmit)
ED006	<i>Chrysomela populi</i>	Sakarya (Akyazı)
ED007	<i>Chrysomela populi</i>	Samsun
ED008	<i>Chrysomela populi</i>	Samsun
ED009	<i>Chrysomela populi</i>	Sakarya (Akyazı)
ED010	<i>Chrysomela populi</i>	Sakarya (Akyazı)
ED011	<i>Chrysomela populi</i>	Samsun
ED012	<i>Chrysomela populi</i>	Sakarya (Akyazı)
ED013	<i>Chrysomela populi</i>	Samsun
ED014	<i>Chrysomela populi</i>	Sakarya (Akyazı)
ED015	<i>Chrysomela populi</i>	Kocaeli (İzmit)
ED016	<i>Chrysomela populi</i>	Sakarya (Akyazı)
ED017	<i>Chrysomela populi</i>	Sakarya (Akyazı)
ED018	<i>Chrysomela populi</i>	Samsun
ED019	<i>Chrysomela populi</i>	Samsun
ED020	<i>Chrysomela populi</i>	Sakarya (Akyazı)
ED021	<i>Chrysomela populi</i>	Sakarya (Akyazı)
ED022	<i>Chrysomela populi</i>	Sakarya (Akyazı)
ED023	<i>Chrysomela populi</i>	Samsun
ED024	<i>Chrysomela populi</i>	Kocaeli (İzmit)
ED025	<i>Chrysomela populi</i>	Samsun
ED026	<i>Chrysomela populi</i>	Çankırı
ED027	<i>Chrysomela populi</i>	Sakarya (Akyazı)
ED028	<i>Chrysomela populi</i>	Amasya
ED029	<i>Chrysomela populi</i>	Amasya
ED030	<i>Chrysomela populi</i>	Amasya
ED031	<i>Chrysomela populi</i>	Amasya
ED032	<i>Chrysomela populi</i>	Amasya
ED033	<i>Chrysomela populi</i>	Amasya
ED034	<i>Chrysomela populi</i>	Amasya
ED035	<i>Chrysomela populi</i>	Amasya

4.2.3. Saf Kùltürlerin Stoklanması

Yapılacak olan testlerde ana stok olarak kullanmak için izolatların stokları yapılmıştır. Stok için %20'lik gliserol stok hazırlanmıştır. Nutrient Broth'la (Merck) hazırlanan %20'lik gliserol stoklar eppendorf tüplerine 1.50 mL koyularak 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır. Bu işlemden sonra Nutrient Agar (Merck)'daki taze saf kùltürler steril öze yardımıyla tüplere inoküle edilerek -20°C'de saklanmıştır.

4.2.4. Bakteriyel İzolatların Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

4.2.4.1. Koloni Morfolojisinin Belirlenmesi

Saflaştırılan izolatlar Nutrient Agar (Merck) üzerine çizgi ekim yöntemiyle ekilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sonuçlar koloni rengine ve kenar morfolojisine göre değerlendirilmiştir (Saygılı ve ark., 2006).

4.2.4.2. Basit Boyama

Elde edilen izolatların hücre şekillerinin belirlenmesi amacı ile ilk olarak basit boyamalar yapılmıştır. Bu amaçla her bir izolat Nutrient Agar (Merck) besiyerine ekilerek 24 saat 37°C'ye ayarlı etüvde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra kùltürlerden bakteriyel smear hazırlanarak ve alevden geçirilmek sureti ile tespit edilmiştir. Daha sonra Kristal Viyole (Merck) boya solüsyonu ilave edilip 1-2 dakika sonra, ddH₂O ile yıkanıp mikroskop altında incelenmiştir (Benson, 1985). İnceleme sonucunda izolatların hücre şekilleri belirlenmiştir.

4.2.4.3. Gram Boyama

Gram boyama için her bir izolat Nutrient Agar (Merck) besiyerine ekilmiş ve 37°C'ye ayarlı etüvde 16-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bakteriyel smear hazırlanmış ve alevden geçirilerek tespit edilmiştir. Gram Boyama için Merck marka gram boyama kiti kullanılmıştır. Hazırlanan smear 1 dakika kristal viyole ile muamele edilerek ddH₂O ile yıkanmıştır. Kuruması beklenmeden 3 dakika lügolle muamele edilmiş ve alkolle yıkanmıştır. Daha sonra renk kaybını durdurmak için hemen ddH₂O ile yıkanmıştır. 30-60 saniye safranin ile muamele edilerek ve tekrar ddH₂O ile yıkanmıştır. Açık havada kurutulduktan sonra mikroskop altında incelenmeye alınmıştır. Pembe renge boyanan hücreler Gram negatif, mor renge

boyanan hücreler ise Gram pozitif olarak kaydedilmiştir (Cappuccino ve Sherman, 1992).

4.2.4.4. Endospor Boyama

İzolatların endospor oluşturup oluşturmadığını ve varsa endosporun hücre içersindeki pozisyonunu belirlemek amacıyla, herbir izolat Nutrient Agar (Merck) besiyerine ekilmiştir ve 48-72 saat 37°C'ye ayarlı etüvde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından bakteriyel smear hazırlanmış alevden geçirilerek tespit edilmiştir. Hazırlanan smearlar filtre kâğıdı ile kapatılarak, Malaşit Yeşili (Merck) ile 5 dakika boyunca su buharı üzerinde boyanmış ve ddH₂O ile yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra 30-60 saniye boyunca safranin ile muamele edilip tekrar ddH₂O ile yıkanarak açık havada kurutulmuş ve mikroskop altında incelenmiştir (Cappuccino ve Sherman, 1992).

4.2.4.5. Kristal Boyama

İzolatların *Bacillus thuringiensis* bakterisinde bulunan kristal protein içerip içermediğini belirlemek amacıyla kristal boyama tekniği kullanılmıştır. Bu yöntem için Coomassie Brilliant Blue (Merck) (%50 etanol ve %7 asetik asit solusyonu içinde %25 oranında CBB) boyası kullanılmıştır. İzolatlar Nutrient Agar (Merck) besiyerine ekilmiş, 24 saat 37°C'ye ayarlı etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Smearları hazırlanan bakteriler, CBB ile boyanıp 3 dakika beklendikten sonra musluk suyu ile yıkanmıştır. Sonuçlar ışık mikroskobu ile incelenmiş, kristal proteinlerin varlığı araştırılmıştır (Fadel ve ark., 1988).

4.2.5. Bakteriyel İzolatların Özelliklerinin VITEK® 2 Advanced Colorimetry™ Sistemiyle Belirlenmesi

İzolatlar Nutrient Agara (Merck) ekim yapılarak bir günlük inkübasyon sonrası biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla Ordu ve Giresun Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlükleri'nde bulunan Vitek® 2 Advanced Colorimetry™ (Biome'rieux) cihazları kullanılmıştır. Bu işlem sırasında izolatların taze olmasına dikkat edilmiştir. İzolatlar için Gram-Negatif (GN), Gram-Pozitif (GP) ve Bacil (BCL) kartlar kullanılmıştır. GN kart kuyucuk içerikleri Çizelge 4.2'de, GP kart kuyucuk içerikleri Çizelge 4.3'te ve BCL kart kuyucuk içerikleri Çizelge 4.4'te

gösterilmiştir. İzolatlar 3 mL salin çözeltisine (su içeriği %0.45 ile %0.50 NaCl, pH 4.50 ile 7) saydam plastik (polistiren) test tüpüne (12 mm x 75 mm) Gram pozitif ve Gram negatifler için aseptik olarak aktarılmıştır. Hazırlanan salin tüpüne organizmalar steril öze ile inoküle edilmiştir. Kalibrasyonu yapılmış bir McFarland cihazı kullanılarak yoğunluğu McFarland No: 0.50-0.60'a eşdeğer olan, homojen organizma süspansiyonunu hazırlanmıştır. Bu işlem her örnek için tekrarlanmıştır.

Baciller için de aynı yöntem kullanılarak yoğunluğu McFarland No: 1.80-2.20'ye eşdeğer olan, homojen organizma süspansiyonunu hazırlanmıştır. Bu işlem her örnek için tekrarlanmıştır. Süspansiyon tüpleri ve kartlar kasete yerleştirildikten sonra kartların barkodları okutulmuş ve bilgisayara laboratuvar kodları girilmiştir. Bu işlemden sonra kaset VITEK® 2 cihazına yerleştirilerek kartların dolun işlemi gerçekleşmiş ve 8 saat sonra sonuçlar alınmıştır.

VITEK® 2 sistemi floresan temelli yeni bir teknolojiyi kullanmaktadır. Sistemde sıvı dilüsyon bazlı Gram negatif, Gram pozitif, maya ve küf gibi organizmaların tanımlanmalarını sağlayan 64 kuyucuklu kart kullanılmaktadır (Verweij ve ark., 1999; Pincus, 2002).

Gram-Negatif identifikasyon kartı (GN) VITEK® 2 System ile birlikte birçok klinik olarak anlamlı fermantasyona yol açan ve fermantasyona yol açmayan Gram-negatif basilin otomatik identifikasyonu için tasarlanmıştır. VITEK® 2 GN identifikasyon kartı atılabilen, tek kullanımlık bir malzemedir. GN kartı, karbon kaynağı kullanımı, enzimatik aktiviteler ve direnci ölçen kanıtlanmış biyokimyasal yöntemlere ve yeni geliştirilen substratlara dayanır. 47 adet biyokimyasal test ve bir negatif kontrol kuyucuğu mevcuttur. Dekarboksilaz Negatif Kontrol Kuyucuğu Dekarboksilaz test kuyucukları için baz çizgisi referansı olarak kullanılır. Kesin sonuçlar yaklaşık 10 saat ve daha kısa süre içinde elde edilir.

Gram pozitif identifikasyon kartı (GP) kanıtlanmış biyokimyasal yöntemlere ve yeni geliştirilen substratlara dayanır. Karbon kaynağı kullanımı, enzimatik aktiviteler ve direnci ölçen 43 biyokimyasal test mevcuttur. Kesin identifikasyon sonuçlar yaklaşık sekiz saat ve daha kısa süre içinde elde edilir.

Bacillus identifikasyon kartı (BCL) kanıtlanmış biyokimyasal yöntemlere ve yeni geliştirilen substratlara dayanır. Karbon kaynağı kullanımı, inhibisyon direnci ve

enzimatik aktiviteleri ölçen 46 biyokimyasal test mevcuttur. Kesin identifikasyon sonuçları yaklaşık 14 saat içinde elde edilir.

Çizelge 4.2. Gram Negatif Kartı Kuyucuk İçerikleri

Test	Anımsatıcı	Test	Anımsatıcı
Ala-Phe-Pro Arilamidaz	APPA	Sakkaroz/Sükroz	SAC
Adonitol	ADO	D-Tagatoz	dTAG
L-Pirolidonil-Arilamidaz	PyrA	D-Trehaloz	dTRE
L-Arabitol	lARL	Sitrat (Sodyum)	CIT
D-Selobiyoz	dCEL	Malonat	MNT
Beta-Galaktozidaz	BGAL	5-Keto-Glukonat	5KG
H ₂ S Oluşumu	H ₂ S	L-Laktat alkalileşmesi	ILATk
Beta-N-Asetil Glikozaminidaz	BNAG	Alfa-Glikosidaz	AGLU
Glutamil Arilamidaz Pna	AGLTp	Sükkinat alkalileşmesi	SUCT
D-Glikoz	dGLU	Beta-N-Asetil-Galaktozaminidaz	NAGA
Gama-Glutamil-Transferaz	GGT	Alfa-Galaktozidaz	AGAL
Fermantasyon/Glikoz	OFF	Fosfataz	PHOS
Beta-Glikosidaz	BGLU	Glisin Arilamidaz	GlyA
D-Maltoz	dMAL	Ornitin Dekarboksilaz	ODC
D-Mannitol	dMAN	Lizin-Dekarboksilaz	LDC
D-Mannoz	dMNE	L-Histidin asimilasyonu	IHISa
Beta-Ksilosidaz	BXYL	Kurmarat	CMT
Beta-Alanin	BAlap	Beta-Glukuronidaz	BGUR
L-Prolin Arilamidaz	ProA	O/129Direnci (comp. vibrio.)	O129R
Lipaz	LIP	Glu-Gli-Arg-Arilamidaz	GGAA
Palatinoz	PLE	L-Malat asimilasyonu	IMLTa
Tirosin Arilamidaz	TyrA	Ellman	ELLM
Üreaz	URE	L-Laktat asimilasyonu	ILATa
D-Sorbitol	dSOR		

Çizelge 4.3. Gram Pozitif Kartı Kuyucuk İçerikleri

Test	Anımsatıcı	Test	Anımsatıcı
D-Amigdalın	AMY	Polimiksin B Direnci	POLYB
Fosfatidilinositol Fosfolipazc	PIPLC	D-Galaktoz	dGAL
D-Ksiloz	dXYL	D-Riboz	dRIB
Arginin Dihidrolaz 1	ADH1	L-Laktat alkalileşmesi	ILATk
Beta-Galaktosidaz	BGAL	Lactose	LAC
Alfa-Glikosidaz	AGLU	N-Asetil-D-Glikozamin	NAG
Ala-Phe-Pro Arilamidaz	APPA	D-Maltoz	dMAL
Siklodekstrin	CDEX	Basitrasın Direnci	BACI
L-Aspartat Arilamidaz	AspA	Novobiosin Direnci	NOVO
Beta-Galaktopiranosidaz	BGAR	%6.50 NaCl'de Çoğalma	NaCl %6.50
Alfa-Mannosidaz	AMAN	D-Manitol	dMAN
Fosfataz	PHOS	D-Mannoz	dMNE
Lösin Arilamidaz	LeuA	Metil-B-D-Glukopiranosid	MBdG
L-Prolin Arilamidaz	ProA	Pullulan	PUL
Beta Glukuronidaz	BGURr	D-Rafinoz	dRAF
Alfa-Galaktosidaz	AGAL	O/129 Direnci (comp. vibrio.)	O129R
L-Pirolidonil-Arilamidaz	PyrA	Salisin	SAL
Beta-Glukuronidaz	BGUR	Sakkaroz/Sükroz	SAC
Alanin Arilamidaz	AlaA	D-Trehaloz	dTRE
Tirosin Arilamidaz	TyrA	Arginin Dihidrolaz 2	ADH2s
D-Sorbitol	dSOR	Optokin Direnci	OPTO
Üreaz	URE		

Çizelge 4.4. Bacil Kartı Kuyucuk İçerikleri

Test	Anımsatıcı	Test	Anımsatıcı
Beta-Ksilosidaz	BXYL	D-Mannitol	dMAN
L-Lizin Arilamidaz	LysA	D-Mannoz	dMNE
L-Aspartat Arilamidaz	AspA	D-Melezitoz	dMLZ
Lösün Arilamidaz	LeuA	N-Asetil-D-Glikozamin	NAG
Fenilalanin Arilamidaz	PheA	Palatinoz	PLE
L-Prolin Arilamidaz	ProA	L-Ramnoz	IRHA
Beta-Galaktosidaz	BGAL	Beta-Glikosidaz	BGLU
L-Pirolidonil-Arilamidaz	PyrA	Beta-Mannosidaz	BMAN
Alfa-Galaktosidaz	AGAL	Fosforil Kolin	PHC
Alanin Arilamidaz	AlaA	Piruvat	PVATE
Tirosin Arilamidaz	TyrA	Alfa-Glikosidaz	AGLU
Beta-N-Asetil-Glikozaminidaz	BNAG	D-Tagatoz	dTAG
Ala-Phe-Pro Arilamidaz	APPA	D-Trehaloz	dTRE
Siklodekstrin	CDEX	Inulin	INU
D-Galaktoz	Dgal	D-Glikoz	dGLU
Glikojen	GLYG	D-Riboz	dRIB
Myo-İnositol	INO	Putresin asimilasyonu	PSCNa
Metil-A-D- Glukopiranosid asitleşmesi	MdG	%6.50 NaCl'de çoğalma	NaCl %6.50
Ellman	ELLM	Kanamisin Direnci	KAN
Metil-D-Ksilosid	MdX	Oleandomisin Direnci	OLD
Alfa-Mannosidaz	AMAN	Eskülin hidrolizi	ESC
Maltotrioz	MTE	Tetrazolium Kırmızısı	TTZ
Glisin Arilamidaz	GlyA	Polimiksin_B Direnci	POLYB_R

4.2.6. İzolatların İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi

Böceklerden izole edilen mikroorganizmaların, izole edildikleri böcek üzerinde patojenik bir etkiye sahip olup olmadıkları virulans testleriyle belirlenir.

Bu testler için böceğin biyolojisi göz önünde tutularak yaşayabilecekleri uygun ortamlar hazırlanır ve sağlıklı böcekler kullanılır. *In vitro* şartlarda üretilen mikroorganizmaların saf kültürleri hazırlanır ve uygulanır. *In vitro* olarak üretilmeyen virüsler, protozoalar ve diğer mikroorganizmaların enfeksiyon numunesi, ölü ve hastalıklı böceklerden elde edilir. Böceklerin enfeksiyonu için birçok metot bilinmektedir. Bu metodlar; besin içinde enfeksiyon, kütikula içine enfeksiyon, ağız ve çevresi içine enfeksiyon, mikroorganizmaları oral ve anal açıklıklar üzerine yerleştirmek, mikrobeseleme ve mikroenfeksiyon şeklinde sıralanabilir (Lipa, 1975).

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

Bu tez çalışmasında elde edilen izolatların ergin böcekler üzerine etkisini belirlemek amacıyla her bir izolat için 20 sağlıklı böcek seçilerek deney grubu oluşturulmuştur. Böceklerin aynı instarlarda olmasına dikkat edilmiştir. Çünkü aynı tür böceğin, farklı instarlardaki dönemlerde biyolojik ajanlardan etkilenme oranları da farklı olmaktadır (Çökmüş ve Younsten, 1994).

Deney gruplarının beslenmesi için hazırlanan çözeltiliye Mcfarland ile yoğunluğu ayarlanmış organizmalar aseptik şartlarda ilave edilerek 7 gün boyunca gözlemlenmiştir. Test, ölü ve hayatta kalan böceklerin varlığına dikkat edilerek 7 gün sonunda bitirilmiştir (Kampfer, 1995). Test süresince oluşturulan deney grupları günlük olarak kontrol edilmiştir. Kontrol süresi boyunca ölen böcekler kaplardan pens yardımıyla çıkarılmıştır (Ombui ve ark., 1996; Swiecicka, 2001). Her gün ölen böcek sayısı tespit edilerek ortalama ölüm oranları belirlenmiştir. Bu uygulama her

bir izolat için üç kez tekrarlanmıştır. Yapılan uygulama için kontrol grupları da kullanılmıştır. Ölüm oranının hesaplanması için Abbott (1925) formülü kullanılmıştır.

4.2.7. İzolatların Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerinde Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması

Elde edilen izolatların bazı patojen mikroorganizmalar üzerinde etkilerine bakılarak biyolojik mücadele ajanı geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu çalışmada *Chrysomela populi* (L.)'den izole edilen bakterilerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılan mikroorganizmalar; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853, *Escherichia coli* ATCC®25922, *Staphylococcus aureus* ATCC®25923, *Klebsiella pneumoniae* ATCC®13883, *Yersinia enterocolitica* ATCC®27729, *Aspergillus niger* ATCC®9642, *Candida albicans* ATCC®10231 ve *Saccharomyces cerevisiae* ATCC®9763'dir.

Kültürler; Amerikan Tip Kültür Koleksiyonundan (ATCC) temin edilmiştir. Kullanılan mikroorganizma türleri Çizelge 4.5'de verilmiştir.

Çalışmada kullanılan Nutrient Agar (Merck) besiyeri çalışmaya başlamadan önce otoklavda (Nüve OT 4060) sterilize edilmiş (15 dk, 1.50 atm ve 121°C) ve sonrasında 45-50°C'ye kadar soğuması beklenmiştir. Daha sonra agar besiyerleri 90 mm çapındaki steril petri kutularına steril pipetler ile 20 mL kadar dağıtılmıştır. Besiyerinin homojen bir şekilde dağılması sağlanarak donması beklenmiştir.

Petri üzerindeki katılaştıran agar üzerine swap yöntemi ile mikroorganizma ekimi (15 µL) yapıldıktan sonra hazırlanan ekstraktlardan, petriye hafifçe bastırılarak yerleştirilen diskler üzerine 15'er µL damlatılmıştır. Bakteri suşları 37±0.10°C'de 24 saat süreyle, aynı şekilde hazırlanan maya ve küf suşları ise 25±0.10°C'de 48 saat süreyle etüvde (Nüve EN 500) inkübe edilmiştir. Süre sonunda izolatların patojen mikroorganizmalar üzerinde etki göstererek zon oluşturması beklenmiştir.

Çizelge 4.5. Antimikrobiyal Aktivite Tespitinde Kullanılan Mikroorganizmalar ve Gram Özellikleri

Mikroorganizmalar	Gram özellikleri
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC®27853	Gram (-)
<i>Escherichia coli</i> ATCC®25922	Gram (-)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC®25923	Gram (+)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC®13883	Gram (-)
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC®27729	Gram (-)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC®9763	-
<i>Aspergillus niger</i> ATCC®9642	-
<i>Candida albicans</i> ATCC®10231	-

5. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada, Kocaeli (İzmit), Sakarya (Akyazı), Samsun, Çankırı, Amasya ve Eskişehir illerinden toplanan *Chrysomela populi* örneklerinin bakteri florası belirlenmeye çalışılmıştır. 100 ergin böcekten yapılan çalışmalar sonucunda 50 farklı izolat elde edilmiştir. Saf kültür olarak elde edilen bu izolatlardan 35 tanesi koku, renk ve kolonilerin morfolojik özelliklerine bakılarak çalışmada kullanılmak için seçilmiştir. İzolatların tür tayinlerinin yapılabilmesi için VITEK® 2 sistemi kullanılmıştır. VITEK® 2 sonucuna göre izolatların 32 tanesi tür düzeyinde tanımlanırken 3 tanesi tür altı kategoride tanımlanmıştır. 9 farklı tür (3 tanesi tür altı) olduğu düşünülen izolatlardan insektisidal etki gösterebilme potansiyeli olan 4 türün *Chrysomela populi* üzerinde etkisi incelenmiş ve bu türlerin patojen mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır.

5.1. Bakteriyel İzolatların Morfolojik Özellikleri

İzolatların morfolojik özellikleri basit boyama, Gram boyama, endospor boyama ve kristal boyama ile belirlenmiştir (Çizelge 5.1).Yapılan basit boyama sonucu ED001, ED002, ED004, ED006, ED009, ED010, ED012, ED014, ED016, ED017, ED020, ED021, ED022, ED029, ED030 ve ED032 numaralı izolatlar çubuk (bacil) şeklinde; ED003, ED005, ED007, ED008, ED011, ED013, ED015, ED018, ED019, ED023, ED02, ED025, ED026, ED027, ED028, ED031, ED033, ED034 ve ED035 numaralı izolatlar yuvarlak (coccus) olarak tespit edilmiştir.

Gram boyama sonucunda ED034 ve ED035 numaralı organizmalar Gram negatif (pembe); ED003, ED005, ED007, ED008, ED011, ED013, ED015, ED018, ED019, ED023, ED024 ve ED025 numaralı organizmalar ise Gram pozitif (mor) olarak belirlenmiştir.

Yapılan endospor boyama sonucunda Gram negatif ve Gram pozitif organizmalarda endospor yapısı oluşumu gözlenmezken bacil olarak tespit edilen organizmalarda endospor yapısının varlığı tespit edilmiştir.

Bacil organizmalara uygulanan kristal boyama sonucu ED001, ED004, ED006, ED009, ED012, ED014, ED017, ED020, ED022, ED029, ED030 ve ED032 numaralı organizmalarda kristal proteini yapısına rastlanmazken ED002, ED010, ED016 ve ED021 numaralı organizmalarda bu yapı tespit edilmiştir.

İzolatların koloni morfolojisine bakıldığında ED001, ED004, ED006, ED009, ED012, ED014, ED017, ED020, ED022, ED029, ED030 ve ED032 numaralı organizmaların koloni kenarlarının tırtıklı; renklerinin açık krem olduğu, ED002, ED010, ED016 ve ED021 numaralı organizmaların koloni kenarlarının tırtıklı; renklerinin krem-açık sarı olduğu, ED003, ED007, ED008, ED011, ED013, ED018, ED019, ED023, ED025 ve ED026 numaralı organizmaların koloni kenarlarının düz, yuvarlak; renklerinin açık krem olduğu, ED005, ED015 ve ED024 numaralı organizmaların koloni kenarlarının düz, yuvarlak; renklerinin sarı olduğu; ED027 numaralı organizmanın koloni kenarının düz; renginin saydam olduğu; ED028 numaralı organizmanın koloni kenarının düz; renginin açık krem-saydam olduğu; ED031 numaralı izolatın koloni kenarının düz; renginin saydam olduğu; ED033 numaralı izolatın koloni kenarının düz; renginin sarımsı-krem olduğu; ED034 ve ED035 numaralı izolatların koloni kenarlarının düz; renklerinin açık sarı olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 5.1. Bakteriyel İzolatların Morfolojik Özellikleri

İzolatlar	Basit Boyama	Gram Boyama	Endospor Boyama	Kristal Boyama
ED001	Bacil	Mor (BCL)	+	-
ED002	Bacil	Mor (BCL)	+	+
ED003	Coccus	Mor (GP)	-	-
ED004	Bacil	Mor (BCL)	+	-
ED005	Coccus	Mor (GP)	-	-
ED006	Bacil	Mor (BCL)	+	-
ED007	Coccus	Mor (GP)	-	-
ED008	Coccus	Mor (GP)	-	-
ED009	Bacil	Mor (BCL)	+	-
ED010	Bacil	Mor (BCL)	+	+
ED011	Coccus	Mor (GP)	-	-
ED012	Bacil	Mor (BCL)	+	-
ED013	Coccus	Mor (GP)	-	-
ED014	Bacil	Mor (BCL)	+	-
ED015	Coccus	Mor (GP)	-	-
ED016	Bacil	Mor (BCL)	+	+
ED017	Bacil	Mor (BCL)	+	-
ED018	Coccus	Mor (GP)	-	-
ED019	Coccus	Mor (GP)	-	-
ED020	Bacil	Mor (BCL)	+	-
ED021	Bacil	Mor (BCL)	+	+
ED022	Bacil	Mor (BCL)	+	-
ED023	Coccus	Mor (GP)	-	-
ED024	Coccus	Mor (GP)	-	-
ED025	Coccus	Mor (GP)	-	-
ED026	Coccus	Mor (GP)	-	-
ED027	Coccus	Mor (GP)	-	-
ED028	Coccus	Mor (GP)	-	-
ED029	Bacil	Mor (BCL)	+	+
ED030	Bacil	Mor (BCL)	+	+
ED031	Coccus	Mor (GP)	-	-
ED032	Bacil	Mor (BCL)	+	+
ED033	Coccus	Mor (GP)	-	-
ED034	Coccus	Pembe (GN)	-	-
ED035	Coccus	Pembe (GN)	-	-

5.2. Bakteriyel İzolatların Biyokimyasal Özellikleri

İzolatların biyokimyasal özelliklerini tespit etmek ve bu sayede tanımlama yapabilmek için Vitek® 2 sistemi kullanılmıştır (Şekil 5.1). İzolatların biyokimyasal özellikleri Çizelge 5.2, Çizelge 5.3 ve Çizelge 5.4’te verilmiştir. Bu sistem için izolatlar Nutrient Agar (Merck)’da büyütülmüştür. Her bir izolattan 3-4 koloni steril öze ile alınarak steril tuzlu su bulunan plastik tüplere aktararak süspansiyon hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyon homojenize edilerek yoğunluğu baciller için 1.80-2.20; coccuslar için 0.50-0.80 McFarland’a ayarlanmıştır. Daha sonra süspansiyon tüpü ile birlikte identifikasyon kartları (ID) kasete yerleştirilmiştir. ID kartları üzerindeki seri numaraları barkod okuma sistemi ile bilgisayara kaydedilmiştir. Kaydedilen kaset cihazın otomatik inokülasyon kısmına yerleştirilmiştir. Cihaz bu bölümde ters osmatik basınç uygulayarak test tüpleri içerisindeki süspansiyonun ID kartlara geçmesini sağlar. Daha sonra kaset inokülasyon kısmından alınarak inkübasyon kısmına yerleştirilmiştir. Burada ID kartlar $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ ’ de inkübe edilmiştir. Her 15 dakikalık döngüler ile kartlardaki renk değişimi optik sistem ile ölçülerek dalga boyları kaydedilerek organizmaların tanımlanma işlemi tamamlanmıştır.



Şekil 5.1. Vitek® 2 Cihazı Kullanım Aşamaları (Orijinal Fotoğraflar)

Çizelge 5.2. Bacil Kartı Kullanılan İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları

TESTLER	İZOLATLAR															
	ED001	ED002	ED004	ED006	ED009	ED010	ED012	ED014	ED016	ED017	ED020	ED021	ED022	ED029	ED030	ED032
Beta-Ksilosidaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
L-Lizin Arilamidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
L-Aspartat Arilamidaz	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Lösün Arilamidaz	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Fenilalanin Arilamidaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Prolin Arilamidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Beta-Galaktosidaz	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
L-Pirolidonil-Arilamidaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Alfa-Galaktosidaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
Alanin Arilamidaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Tirosin Arilamidaz	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+
Beta-N-Asetil-Glikozaminidaz	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Ala-Phe-Pro Arilamidaz	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
Siklodekstrin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Galaktoz	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Glikojen	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Myo-İnositol	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
Metil-A-D-Glukopiranosid asitleşmesi	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
Ellman	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-
Metil-D-Ksilosid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alfa-Mannosidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltotrioz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
Glisin Arilamidaz	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+

Çizelge 5.2. Bacil Kartı Kullanılan İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları (devamı)

TESTLER	İZOLATLAR															
	ED001	ED002	ED004	ED006	ED009	ED010	ED012	ED014	ED016	ED017	ED020	ED021	ED022	ED029	ED030	ED032
D-Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
D-Mannoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
D-Melezitoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N-Asetil-D-Glikozamin	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Palatinoz	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-
L-Ramnoz	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-
Beta-Glikosidaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Beta-Mannosidaz	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Fosforil Kolin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Piruvat	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Alfa-Glikosidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Tagatoz	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
D-Trehaloz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Inulin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
D-Glikoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Riboz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Putresin asimilasyonu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
%6,5 NaCl'de çoğalma	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Kanamisin Direnci	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-
Oleandomisin Direnci	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Eskülin hidrolizi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tetrazolium Kırmızısı	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
Polimiksin-B Direnci	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+

Çizelge 5.3. Gram Pozitif Kartı Kullanılan İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları

TESTLER	İZOLATLAR																
	ED003	ED005	ED007	ED008	ED011	ED013	ED015	ED018	ED019	ED023	ED024	ED025	ED026	ED027	ED028	ED031	ED033
D-Amigdalın	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Fosfatidilinositol Fosfolipaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Ksiloz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Arginin Dihidrolaz 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-
Beta-Galaktosidaz	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
Alfa-Glikosidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ala-Phe-Pro Arilamidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Siklodekstrin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
L-Aspartat Arilamidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Beta-Galaktopiranosidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alfa-Mannosidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fosfataz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lösin Arilamidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Prolin Arilamidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Beta Glukuronidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alfa-Galaktosidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
L-Pirolidonil-Arilamidaz	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
Beta-Glukuronidaz	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
Alanin Arilamidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tirosin Arilamidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
Üreaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Polimiksin B Direnci	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-

Çizelge 5.3. Gram Pozitif Kartı Kullanılan İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları (devamı)

TESTLER	İZOLATLAR																
	ED003	ED005	ED007	ED008	ED011	ED013	ED015	ED018	ED019	ED023	ED024	ED025	ED026	ED027	ED028	ED031	ED033
D-Galaktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
D-Riboz	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
L-Laktat alkalileşmesi	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
Lactose	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
N-Asetil-D-Glikozamin	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-
D-Maltoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-
Basitrasin Direnci	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Novobiosin Direnci	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
% 6,5 NaCl'de Çoğalma	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
D-Manitol	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-
D-Mannoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Metil-B-D-Glukopiranosid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Pullulan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Rafinoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
O/129 Direnci (comp.vibrio.)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
Salisin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Sakkaroz/Sükroz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
D-Trehaloz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Arginin Dihidrolaz 2	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Optokin Direnci	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Çizelge 5.4. Gram Negatif Kartı Kullanılan İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları

TESTLER	İZOLATLAR		TESTLER	İZOLATLAR	
	ED034	ED035		ED034	ED035
Ala-Phe-Pro Arilamidaz	-	-	Sakkaroz/Sükroz	-	-
Adonitol	-	-	D-Tagatoz	-	-
L-Pirolidonil-Arilamidaz	-	-	D-Trehaloz	-	-
L-Arabitol	-	-	Sitrat (Sodyum)	-	-
D-Selobiyoz	+	+	Malonat	-	-
Beta-Galaktozidaz	-	-	5-Keto-Glukonat	-	-
H ₂ S Oluşumu	-	-	L-Laktat alkalileşmesi	+	+
Beta-N-Asetil Glikozaminidaz	-	-	Alfa-Glikosidaz	-	-
Glutamil Arilamidaz Pna	-	-	Sükkinat alkalileşmesi	-	-
D-Glikoz	+	+	Beta-N-Asetil-Galaktozaminidaz	-	-
Gama-Glutamil-Transferaz	-	-	Alfa-Galaktozidaz	-	-
Fermantasyon/Glikoz	-	-	Fosfataz	-	-
Beta-Glikosidaz	-	-	Glisin Arilamidaz	-	-
D-Maltoz	+	+	Ornitin Dekarboksilaz	-	-
D-Mannitol	-	-	Lizin-Dekarboksilaz	-	-
D-Mannoz	-	-	L-Histidin asimilasyonu	-	-
Beta-Ksilosidaz	-	-	Kurmarat	+	+
Beta-Alanin	-	-	Beta-Glukuronidaz	-	-
L-Prolin Arilamidaz	-	-	O/129Direnci (comp.vibrio.)	-	-
Lipaz	-	-	Glu-Gli-Arg-Arilamidaz	-	-
Palatinoz	-	-	L-Malat asimilasyonu	-	-
Tirosin Arilamidaz	+	-	Ellman	-	-
Üreaz	-	-	L-Laktat asimilasyonu	-	-
D-Sorbitol	-	-			

5.3. VİTEK® 2 ile Tanımlanan Organizmalar

VİTEK® 2 ile yapılan çalışmalar sonucunda 35 izolatın tamamı tanımlanmış, 9 farklı bakteri türü (3 tanesi tür altı) elde edilmiştir. İzolatlardan ED001 %85, ED004 %85, ED006 %86, ED009 %88, ED012 %87, ED014 %86, ED017 %89, ED020 %86, ED022 %86, ED029 %88, ED030 %88 ve ED032 %86 oranlarında *Bacillus vallismortis*; ED002 %89, ED010 %93, ED016 %91 ve ED021 %94 oranlarında *Bacillus cereus*, *B. thuringiensis* veya *B. mycoides*; ED003 %96, ED007 %98, ED008 %98, ED011 %97, ED013 %98, ED018 %98, ED019 %96, ED023 %98, ED025 %97 ve ED026 %98 oranlarında *Staphylococcus haemolyticus*; ED005 %87, ED015 %85 ve ED024 %86 oranlarında *Aerococcus viridans*; ED027 %92 oranında *Enterococcus faecium*; ED028 %94 oranında *Leucanostoc mesenteroides* spp. *cremoris*; ED031 %87 oranında *Staphylococcus hominis* spp. *hominis*; ED033 %99 oranında *Staphylococcus cohnii* spp. *cohnii*; ED034 %93 ve ED035 %88 oranlarında *Sphingomonas paucimobilis* olarak tespit edilmiştir (Çizelge 5.5).

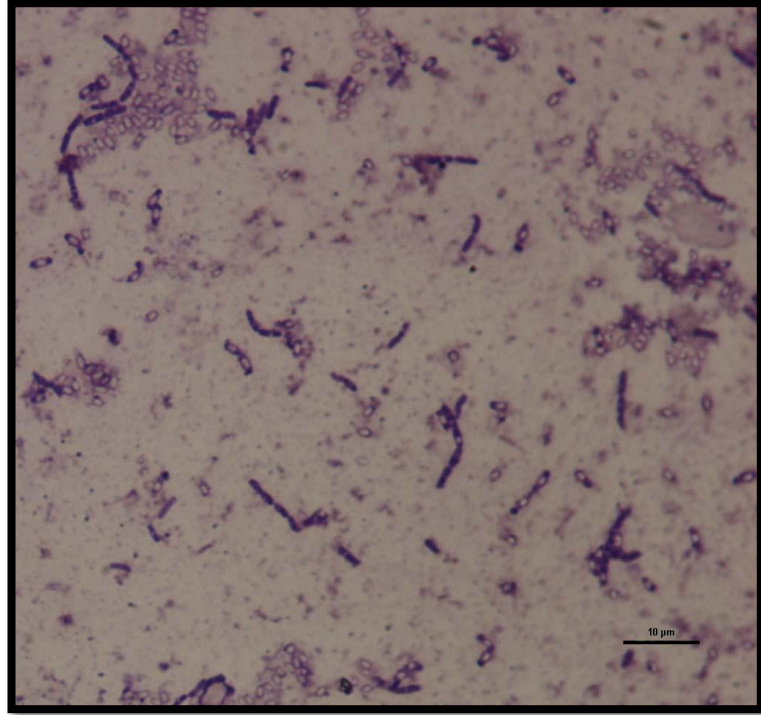
Çizelge 5.5. VİTEK® 2 İle Tanımlanan Organizmaların Tür İsimleri ve Tanımlanma Yüzdeleri

İZOLATLAR	SONUÇ	YÜZDE	LOKALİTE
ED001	<i>Bacillus vallismortis</i>	%85	Sakarya (Akyazı)
ED002	<i>Bacillus cereus/thuringiensis/mycoides</i>	%89	Sakarya (Akyazı)
ED003	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	%96	Samsun
ED004	<i>Bacillus vallismortis</i>	%85	Sakarya (Akyazı)
ED005	<i>Aerococcus viridans</i>	%87	Kocaeli (İzmit)
ED006	<i>Bacillus vallismortis</i>	%86	Sakarya (Akyazı)
ED007	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	%98	Samsun
ED008	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	%98	Samsun
ED009	<i>Bacillus vallismortis</i>	%88	Ssakarya (Akyazı)
ED010	<i>Bacillus cereus/thuringiensis/mycoides</i>	%93	Sakarya (Akyazı)
ED011	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	%97	Samsun
ED012	<i>Bacillus vallismortis</i>	%87	Sakarya (Akyazı)
ED013	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	%98	Samsun
ED014	<i>Bacillus vallismortis</i>	%86	Sakarya (Akyazı)
ED015	<i>Aerococcus viridans</i>	%85	Kocaeli (İzmit)
ED016	<i>Bacillus cereus/thuringiensis/mycoides</i>	%91	Sakarya (Akyazı)
ED017	<i>Bacillus vallismortis</i>	%89	Sakarya (Akyazı)
ED018	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	%98	Samsun
ED019	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	%96	Samsun
ED020	<i>Bacillus vallismortis</i>	%86	Sakarya (Akyazı)
ED021	<i>Bacillus cereus/thuringiensis/mycoides</i>	%94	Sakarya (Akyazı)
ED022	<i>Bacillus vallismortis</i>	%86	Sakarya (Akyazı)
ED023	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	%98	Samsun
ED024	<i>Aerococcus viridans</i>	%86	Kocaeli (İzmit)
ED025	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	%97	Samsun
ED026	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	%98	Çankırı
ED027	<i>Enterococcus faecium</i>	%92	Sakarya (Akyazı)
ED028	<i>Leucanostoc mesenteroides</i> spp. <i>cremoris</i>	%94	Amasya
ED029	<i>Bacillus vallismortis</i>	%88	Amasya
ED030	<i>Bacillus vallismortis</i>	%88	Amasya
ED031	<i>Staphylococcus homonis</i> spp. <i>hominis</i>	%87	Amasya
ED032	<i>Bacillus vallismortis</i>	%86	Amasya
ED033	<i>Staphylococcus cohnii</i> spp. <i>cohnii</i>	%99	Amasya
ED034	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	%93	Amasya
ED035	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	%88	Amasya

Morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre tanımlanan 9 farklı bakteri türünden (3 tanesi tür altı) *Bacillus thuringiensis* olarak tanımlanan ED021 numaralı izolatın petri ve mikroskop görüntüleri Şekil 5.2 ve 5.3'te, *Bacillus vallismortis* olarak tanımlanan ED017 numaralı izolatın petri ve mikroskop görüntüleri Şekil 5.4 ve 5.5'te, *Staphylococcus haemolyticus* olarak tanımlanan ED008 numaralı izolatın petri ve mikroskop görüntüleri Şekil 5.6 ve 5.7'de, *Aerococcus viridans* olarak tanımlanan ED008 numaralı izolatın petri ve mikroskop görüntüleri Şekil 5.8 ve 5.9'da, *Enterococcus faecium* olarak tanımlanan ED027 numaralı izolatın petri ve mikroskop görüntüleri Şekil 5.10 ve 5.11'de, *Leucanostoc mesenteroides* spp. *cremoris* olarak tanımlanan ED028 numaralı izolatın petri ve mikroskop görüntüleri Şekil 5.12 ve 5.13'te, *Staphylococcus hominis* spp. *hominis* olarak tanımlanan ED031 numaralı izolatın petri ve mikroskop görüntüleri Şekil 5.14 ve 5.15'te, *Staphylococcus cohnii* spp. *cohnii* olarak tanımlanan ED033 numaralı izolatın petri ve mikroskop görüntüleri Şekil 5.16 ve 5.17'de, *Sphingomonas paucimobilis* olarak tanımlanan ED034 numaralı izolatın petri ve mikroskop görüntüleri Şekil 5.18 ve 5.19'da gösterilmiştir.



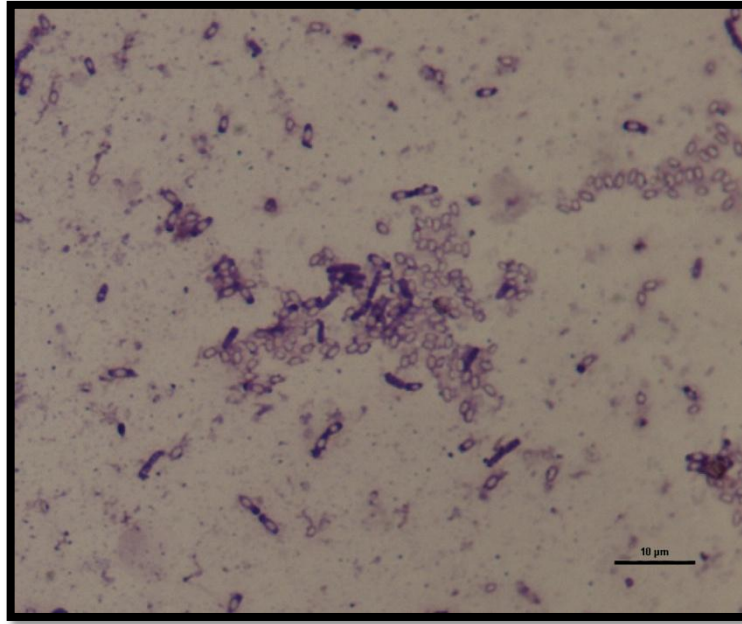
Şekil 5.2. ED021 Numaralı İzolatın (*Bacillus thuringiensis*) Çizgi Ekimi (Orijinal Fotoğraf)



Şekil 5.3. ED021 Numaralı İzolatın (*Bacillus thuringiensis*) Gram Boyama Sonucu (Orijinal Fotoğraf Nikon ECLIPSE E400 100x)



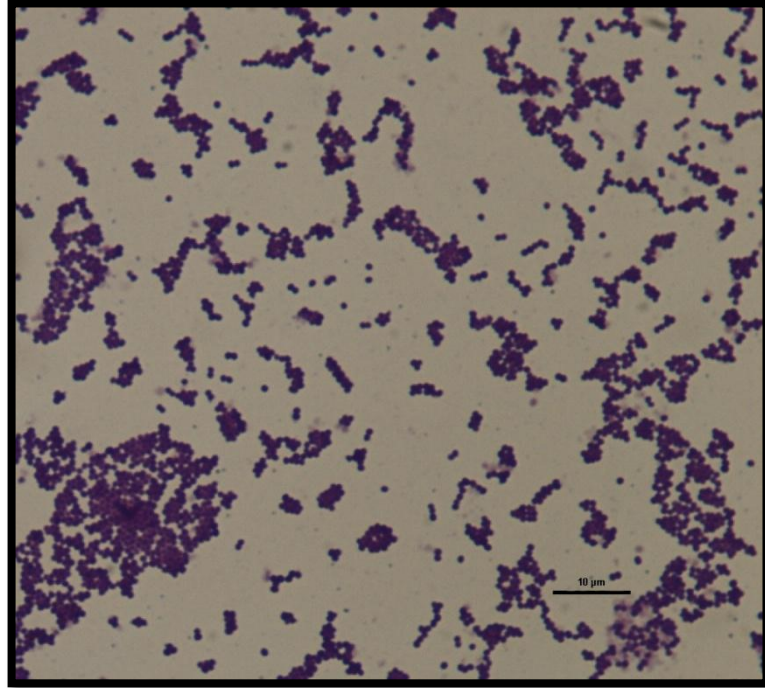
Şekil 5.4. ED017 Numaralı İzolatın (*Bacillus vallismortis*) Çizgi Ekimi (Orijinal Fotoğraf)



Şekil 5.5. ED017 Numaralı İzolatın (*Bacillus vallismortis*) Gram Boyama Sonucu (Orijinal Fotoğraf Nikon ECLIPSE E400 100x)



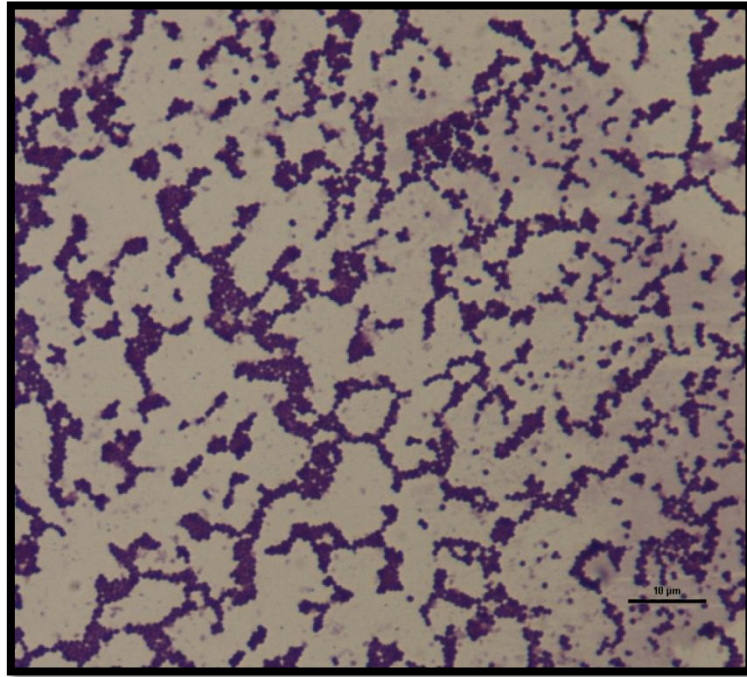
Şekil 5.6. ED008 Numaralı İzolatın (*Staphylococcus haemolyticus*) Çizgi Ekimi (Orijinal Fotoğraf)



Şekil 5.7. ED008 Numaralı İzolatın (*Staphylococcus haemolyticus*) Gram Boyama Sonucu (Orijinal Fotoğraf Nikon ECLIPSE E400 100x)



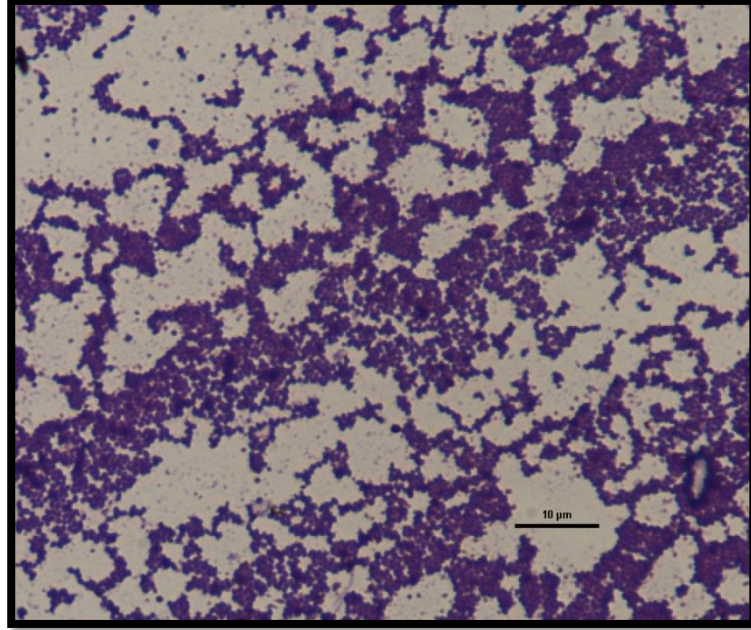
Şekil 5.8. ED005 Numaralı İzolatın (*Aerococcus viridans*) Çizgi Ekimi (Orijinal Fotoğraf)



Şekil 5.9. ED005 Numaralı İzolatın (*Aerococcus viridans*) Gram Boyama Sonucu (Orijinal Fotoğraf Nikon ECLIPSE E400 100x)



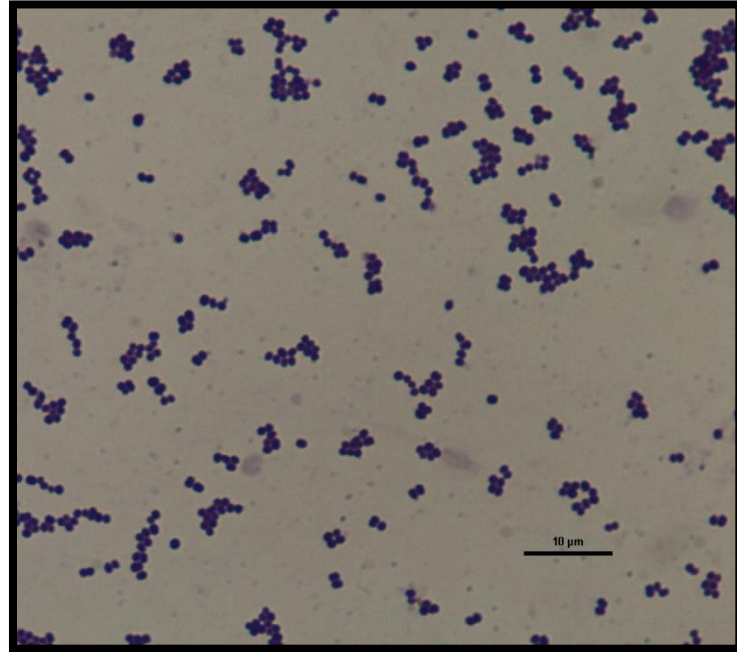
Şekil 5.10. ED027 Numaralı İzolatın (*Enterococcus faecium*) Çizgi Ekimi (Orijinal Fotoğraf)



Şekil 5.11. ED027 Numaralı İzolatın (*Enterococcus faecium*) Gram Boyama Sonucu (Orijinal Fotoğraf Nikon ECLIPSE E400 100x)



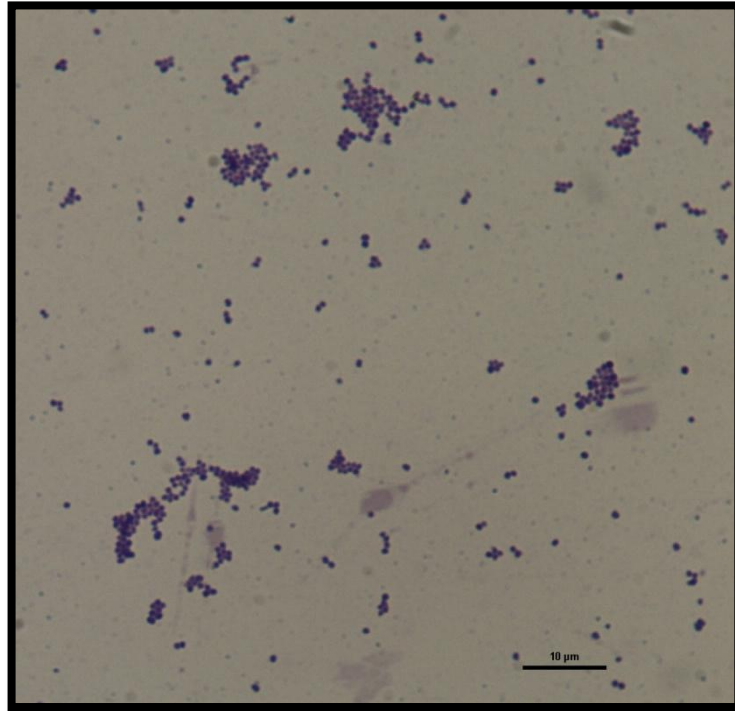
Şekil 5.12. ED028 Numaralı İzolatın (*Leucanostoc mesenteroides* spp. *cremoris*) Çizgi Ekimi (Orijinal Fotoğraf)



Şekil 5.13. ED028 Numaralı İzolatın (*Leucanostoc mesenteroides* spp. *cremoris*) Gram Boyama Sonucu (Orijinal Fotoğraf Nikon ECLIPSE E400 100x)



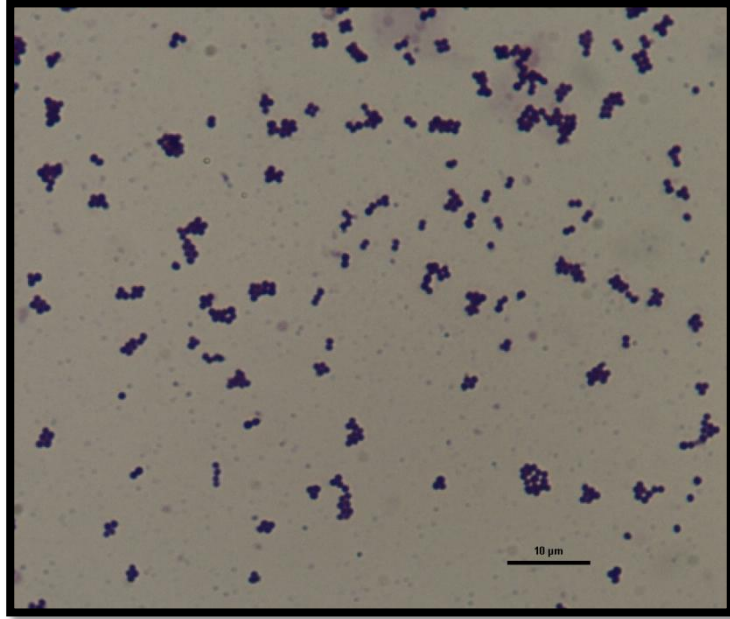
Şekil 5.14. ED031 Numaralı İzolatın (*Staphylococcus hominis* spp. *hominis*) Çizgi Ekimi (Orijinal Fotoğraf)



Şekil 5.15. ED031 Numaralı İzolatın (*Staphylococcus hominis* spp. *hominis*) Gram Boyama Sonucu (Orijinal Fotoğraf Nikon ECLIPSE E400 100x)



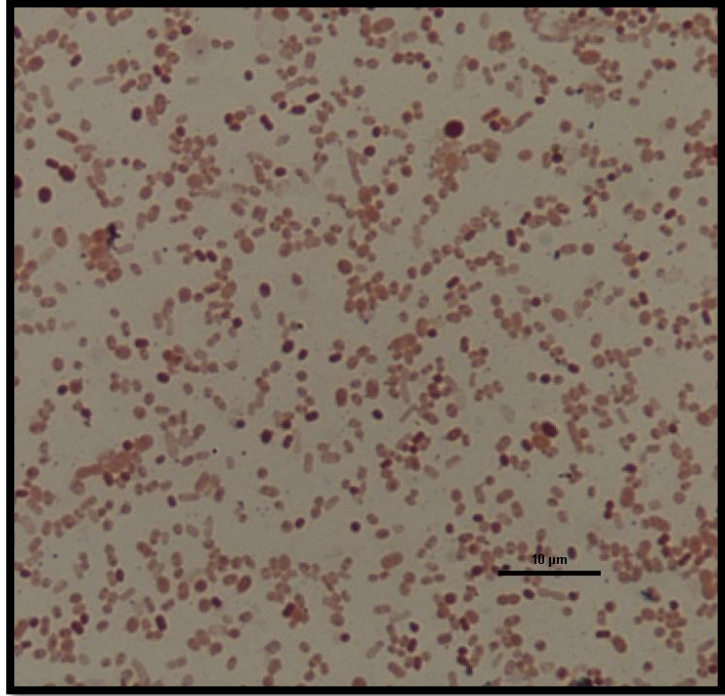
Şekil 5.16. ED033 Numaralı İzolatın (*Staphylococcus cohnii* spp. *cohnii*) Çizgi Ekimi (Orijinal Fotoğraf)



Şekil 5.17. ED033 Numaralı İzolatın (*Staphylococcus cohnii* spp. *cohnii*) Gram Boyama Sonucu (Orijinal Fotoğraf Nikon ECLIPSE E400 100x)



Şekil 5.18. ED034 Numaralı İzolatın (*Sphingomonas paucimobilis*) Çizgi Ekimi (Orijinal Fotoğraf)



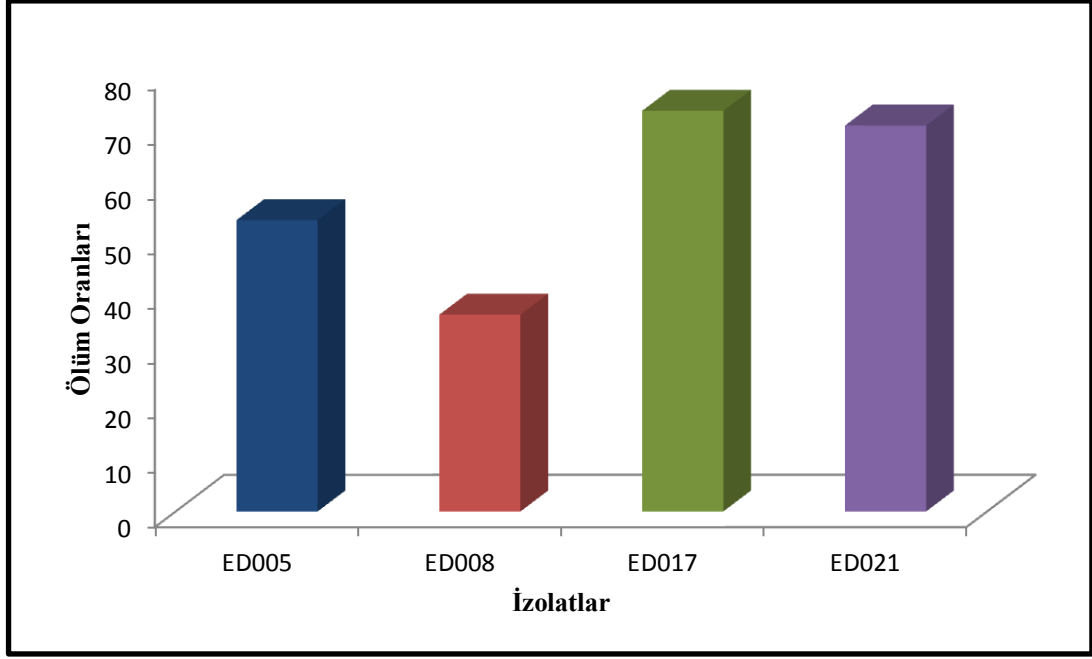
Şekil 5.19. ED033 Numaralı İzolatın (*Sphingomonas paucimobilis*) Gram Boyama Sonucu (Orijinal Fotoğraf Nikon ECLIPSE E400 100x)

5.4. İzolatların İnsektisidal Etkileri

VİTEK® 2 sonuçları değerlendirilip, insektisidal etkiye sahip olduğu düşünülen 4 izolatla biyoassay çalışması yapılmıştır. Her bir izolat için 20 sağlıklı *Chrysomela populi* kullanılmış ve çalışma üç tekerrür şeklinde tamamlanmıştır. Bioassay çalışmasının sonuçları Abbott analizi formülüne göre hesaplanmıştır (Çizelge 5.6). Hesaplama sonucunda ED017 ve ED021 nolu izolatların yüksek insektisidal özellik gösterdiği tespit edilirken, ED005 nolu izolatın orta derecede insektisidal özelliğe sahip olduğu belirlenmiş ve ED008 nolu izolatın düşük insektisidal özellik gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 5.10).

Çizelge 5.6. Abbott's Analizi Sonuçları

İzolatlar	Ölüm Oranı	VİTEK® 2	İller
ED005	%53.30	<i>Aerococcus viridans</i>	Kocaeli (İzmit)
ED008	%36.00	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Samsun
ED017	%73.30	<i>Bacillus vallismortis</i>	Sakarya (Akyazı)
ED021	%70.60	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Sakarya (Akyazı)



Şekil 5.20. Bioassay Sonuçlarının Sütun Grafiği

5.5. İzolatların Bazı Patojenik Mikroorganizmalar Üzerindeki Antimikrobiyal Etkileri

İnkübasyon sonrası *in vitro* yapılan testlerde patojen mikroorganizmalar üzerine ekim yapılarak izolatların bu patojen mikroorganizmaların büyümesini inhibe edecek herhangi bir etkin madde içeriğine sahip olmadıkları izolatların zon çapı oluşturmadığı sonucunda tespit edilmiştir. Test edilen izolatlar patojen mikroorganizmalar üzerinde büyüme göstermiş fakat bu patojenlere karşı antimikrobiyal etki göstermemiştir.

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Son zamanlarda uygulanan biyolojik mücadele çalışmalarıyla paralel ve bu çalışmalara alternatif olabilecek bir mikrobiyal mücadele ajanının geliştirilmesi amacıyla yapılan bu çalışmada Kocaeli (İzmit), Sakarya (Akyazı), Samsun, Çankırı, Amasya ve Eskişehir illerinden Nisan-Eylül 2013 tarihleri arasında yapılan örneklemeler sonucunda *Chrysomela populi*'nin bakteriyel florası belirlenmiştir.

Bakterilerin tanı çalışmalarında tür tayininde rutin olarak kullanılan sitolojik, morfolojik ve biyokimyasal özelliklerin dışında, son yıllarda bakterilerin tür tayinlerinin doğru bir şekilde yapılabilmesi için florosan temelli yeni bir teknoloji olan Vitek® 2 sistemi (bioMe'rieux) kullanılmıştır. Ayrıca *Bacillus thuringiensis* türü bakteri olup olmadığının anlaşılması için bakterilere kristal boyama tekniği uygulanmıştır. Morfolojik ve biyokimyasal karakterizasyonu yapılmış izolatlardan insektisidal etki gösterebilme potansiyeline sahip olduğu düşünülen türlerin Coleoptara takımı Chrysomelidae familyasından olan *Chrysomela populi* üzerinde herhangi bir insektisidal etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır. Bu çalışmalara ek olarak Vitek® 2 ile tanımlanan 9 türün patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkilerine bakılmıştır.

Vitek® 2 ve kristal boyama sonuçlarına göre tanımlanan 35 izolattan 9 farklı tür (3 tanesi tür altı kategoride) elde edilmiştir. Vitek® 2 tanımlama sistemine göre ED001, ED004, ED006, ED009, ED012, ED014, ED017, ED020, ED022, ED029, ED030 ve ED032 numaralı izolatlar *Bacillus vallismortis*; ED002, ED010, ED016 ve ED021, numaralı izolatlar *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis* veya *Bacillus mycoides*; ED003, ED007, ED008, ED011, ED013, ED018, ED019, ED023, ED025, ED026 numaralı izolatlar *Staphylococcus haemolyticus*; ED005, ED015 ve ED024 numaralı izolatlar *Aerococcus viridans*; ED027 numaralı izolat *Enterococcus faecium*; ED028 *Leucanostoc mesenteroides* spp. *cremoris*; ED031 numaralı izolat *Staphylococcus hominis* spp. *hominis*; ED033 numaralı izolat *Staphylococcus cohnii* spp. *cohnii*; ED034 ve ED035 numaralı izolatlar *Sphingomonas paucimobilis* olarak tanımlanmıştır.

ED021 numaralı izolat Vitek® 2 sonuçlarına göre %94 oranında *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides* veya *Bacillus thuringiensis* bakterilerine benzemektedir. Bu izolata kristal boyama uygulanmış ve kristal protein yapısına rastlanmıştır. Bu yapının varlığı türün *Bacillus thuringiensis* olabileceğini desteklemiştir. Ayrıca yapılmış olan basit boyama, Gram boyama ve endospor boyamada çıkan pozitif sonuçlar ve bu izolatın %70.60 oranındaki insektisidal etkisi göz önünde bulundurularak *Bacillus thuringiensis* türü olabileceği kanısına varılmıştır.

ED017 numaralı izolat Vitek® 2 sonuçlarına göre %89 oranında *Bacillus vallismortis* olarak tanımlanmıştır. Koloni morfolojisi ve basit boyama, Gram boyama, endospor boyama, kristal boyama gibi morfolojik testler bu izolatın *Bacillus vallismortis* olabileceğini desteklemiştir. Bu izolatın %73.30 oranındaki insektisidal etkisi göz önünde bulundurularak türün *Bacillus vallismortis* olabileceği kanısına varılmıştır.

ED005 numaralı izolat Vitek® 2 sonuçlarına göre %87 oranında *Aerococcus viridans* olarak tanımlanmıştır. İzolatın koloni morfolojisi ve pozitif Gram boyama sonucu bu tanımlamayı desteklemiştir. İzolatın %53.30 oranındaki insektisidal etkisi göz önünde bulundurularak bu izolatın *Aerococcus viridans* türü olabileceği kanısına varılmıştır.

ED008 numaralı izolat Vitek® 2 sonuçlarına göre %98 oranında *Staphylococcus haemolyticus* olarak tanımlanmıştır. İzolatın koloni morfolojisi ve pozitif Gram boyama sonucu bu tanımlamayı desteklemiştir. İzolatın %36 oranındaki insektisidal etkisi göz önünde bulundurularak bu izolatın *Staphylococcus haemolyticus* türü olabileceği kanısına varılmıştır.

ED027 numaralı izolat Vitek® 2 sonuçlarına göre %92 oranında *Enterococcus faecium* olarak tanımlanmıştır. İzolatın koloni morfolojisi, basit boyama ve pozitif Gram boyama sonucu bu tanımlamayı desteklemiştir.

ED028 numaralı izolat Vitek® 2 sonuçlarına göre %94 oranında *Leucanostoc mesenteroides* spp. *cremoris* olarak tanımlanmıştır. İzolatın koloni morfolojisi, basit boyama ve pozitif Gram boyama sonucu bu tanımlamayı desteklemiştir.

ED031 numaralı izolat Vitek® 2 sonuçlarına göre %87 oranında *Staphylococcus hominis* spp. *hominis* olarak tanımlanmıştır. İzolatın koloni morfolojisi, basit boyama ve pozitif Gram boyama sonucu bu tanımlamayı desteklemiştir.

ED033 numaralı izolat Vitek® 2 sonuçlarına göre %99 oranında *Staphylococcus cohnii* spp. *cohnii* olarak tanımlanmıştır. İzolatın koloni morfolojisi, basit boyama ve pozitif Gram boyama sonucu bu tanımlamayı desteklemiştir.

ED034 numaralı izolat Vitek® 2 sonuçlarına göre %93 oranında *Sphingomonas paucimobilis* olarak tanımlanmıştır. İzolatın koloni morfolojisi, basit boyama ve negatif Gram boyama sonucu bu tanımlamayı desteklemiştir.

ED027, ED028, ED031, ED033 ve ED034 numaralı izolatların insektisidal etkilerine bakılmamıştır. Bu izoların Kocaeli (İzmit), Sakarya (Akyazı), Samsun, Çankırı, Amasya ve Eskişehir illerindeki dağılımları değerlendirilmiş ve bu türlerin sadece Amasya iline ait izolatlardan tanımlandığı tespit edilmiştir.

Morfolojik ve biyokimyasal karakterizasyonu yapılmış izolatlardan insektisidal etki gösterebilme potansiyeline sahip olduğu düşünülen *Bacillus cereus*, *B. mycoides* veya *B. thuringiensis*, *Bacillus vallismortis*, *Staphylococcus haemolyticus* ve *Aerococcus viridans* türlerinin *Chrysomela populi* üzerindeki insektisidal etkileri araştırılmış ve bu şekilde *C. populi*'ye karşı biyoajan tespiti gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada *Bacillus vallismortis* ve *B. thuringiensis* olduğu düşünülen izolatların insektisidal etkileri sırasıyla %73.30 ve %70.60 olarak tespit edilirken; Keçeci, (2014), yapmış olduğu çalışmada aynı türlerin sırasıyla %15 ve %10 oranlarında insektisidal etkiler gösterdiğini tespit etmiştir. Benzer bir çalışmayla Odabaş, (2011), *Bacillus cereus*, *B. mycoides* veya *B. thuringiensis* olarak tanımladığı izolatın insektisidal etkisini %20 olarak tespit etmiştir. Bu çalışmalara ek olarak Sezen ve Demirbağ, (2007), benzer şekilde yapmış oldukları çalışmalarında *B. weihenstephanensis* ve *B. thuringiensis*'in %80 gibi yüksek bir oranda insektisidal etki gösterdiklerini ortaya koymuşlardır.

Potansiyel biyoajanların geniş patojen grubuna karşı etkili olmalarının biyolojik mücadelede önemli olmasından dolayı bu çalışmada biyoajan olarak tespit edilen bakteri türlerinin farklı patojen gruplarına karşı bakteriyel etkileri araştırılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda biyoajan olarak belirlenen *Bacillus cereus*, *B. mycoides* veya *B. thuringiensis*, *Bacillus vallismortis*, *Staphylococcus haemolyticus*

ve *Aerococcus viridans* türlerinin antibakteriyel etki göstermedikleri tespit edilmiştir. Bu çalışmaya benzer şekilde Odabaş, (2011), yapmış olduğu çalışmada *Bacillus* türlerini biyoajan olarak kullanıp bu türlerin antibakteriyel etkisinin olmadığını tespit ederken, daha önce yapılan benzer çalışmalarda biyoajan olarak kullanılan türlerin patojen gruba karşı antibakteriyel etkisi rapor edilmiştir (Kotan ve ark., 2000; Kotan 2002; Kotan ve Şahin, 2006; Kotan ve ark., 2009). Yapılan birçok çalışmada; bakterilerin antibakteriyel etkilerinin çoğunlukla içerdikleri etkili maddelerden ileri geldiği ve etkili maddeyi oluşturan bileşiklerin miktarının bakteriden bakteriye değişiklik gösterdiği, ayrıca bu bileşiklerin etkinliklerinin bakterinin türü, izole edildiği yer veya organizma türüne bağlı olarak değişebildiği belirtilmiştir (Bastaban, 2008).

Bacillus cinsi bakterilerin sınıflandırılmasında, aerobik, Gram-pozitif, çubuk şekilli olmaları ve endospor oluşturmaları önemli yer tutmasına rağmen, türlerin ayrımının güç olduğu ve yanlış tanımlamalar yapılabileceği bildirilmektedir. Yüksek derecede heterojenitenin standart testler ile tanımlamayı zorlaştırdığı ifade edilmektedir (Rosovitz ve ark., 1998; Priest, 1993). Cinsin sahip olduğu geniş fenotipik çeşitliliğin aynı zamanda geniş bir filogenetik dağılıma neden olduğu ve gelişmiş moleküler tekniklerle elde edilen kriterlerin organizmanın gruplandırılmasında esas yeri teşkil ettiği belirtilmiştir (Rosovitz ve ark., 1998).

İzole edilen birçok suşun birbiriyle karşılaştırılması, suşlar arasında ayırım geliştirmek ve suşların teşhisinin doğruluğunu ispatlamak zorunluluğunu gündeme getirmiştir. Ancak, sınıflandırma için geliştirilen morfolojik ve biyokimyasal testler ve fenotipik özellikler suşların ayırımı için yeterli olmadığından moleküler yöntemler geliştirilmiştir (Bağcı ve ark., 1991).

Özellikle 16S rRNA genleri bakteri türleri arasında filogenetik yakınlığın belirlenmesi için oldukça sık kullanılan tanımlayıcı yapılardır (Rainey ve ark., 1994).

Bacillus cereus'un tanımlanması ve *B. cereus* ile yakın olan türlerin ayırımı biyokimyasal testler ile yapılmaktadır. Ancak *B. cereus*, *B. thuringiensis* ve *B. mycoides* türlerinin birbirinden ayırımı biyokimyasal testler ile tam olarak yapılamamaktadır. Bu nedenle bu bakterilerin 16S rRNA genlerinin incelenmesi gerekmektedir. 16S rRNA dizi analizinin tür ya da cins seviyesinde bilinmeyen

bakterilerin tanımlanması ve sınıflandırılması için temel yöntemlerden biri olduğu düşünülmektedir (Siefert ve ark., 2000).

Katı, (2011)'nin yaptığı bir çalışmada aynı izolata ait bir bakteri suşunun Vitek® 2, yağ asidi profilleri (MIS) yöntemi ve 16S rRNA genleri moleküler tanımlama yöntemlerine göre çıkan sonuçları karşılaştırıldığında her birinde farklı tür bakteri tanımlandığı görülmüştür. Bu yüzden daha da ayrıntılı çalışmaların yapılması gerektiği öngörülmüştür.

Sınıflandırmadaki mevcut problemleri çözmek ve modern bakteriyel taksonomiye yardımcı olmak amacıyla son yıllarda Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA-PZR (RAPD-PZR), 16S rRNA Dizi Analizi, DNA-DNA hibridizasyonu, Polimeraz Zincir Reaksiyonu Parça Uzunluk Polimorfizmi (PZR-RFLP), Toplam Hücre proteinlerinin sodyum dodesil sulfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) gibi moleküler yöntemler kullanılarak türler arasındaki farklılıklar ve benzerlikler belirlenmeye çalışılmaktadır (Chang ve ark., 2003).

Bacillus thuringiensis, günümüzde en çok kullanılan biyolojik böcek kontrol ajanı olup endüstriyel olarak üretilmekte ve sayısız biyokimyasal ve genetik araştırmalara konu olmaktadır. *B. thuringiensis* baz alınarak geliştirilen biyoinsektisitler özellikle Lepidoptera, Diptera ve Coleoptera takımlarında bulunan böcek türlerinin kontrolünde önemlidir. *B. thuringiensis* sentetik kimyasal pestisitlere alternatif olarak tarımda, ormancılıkta, sivrisinek kontrolünde etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Buna rağmen hala tarımda kullanılan biyolojik pestisidlerin miktarı sentetik kimyasal pestisitlerin çok aşağısındadır.

Mikroorganizmalar tarafından üretilen insektisitler hedef böcek türü 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 nedeniyle bunların kullanımları kısıtlanmaktadır.

Son zamanlarda özellikle gelişmiş ülkelerde tarım alanlarında büyük ekonomik kayıplara neden olan zararlı böcekler ile mücadele kullanılan kimyasal ilaçların ekosistemde meydana getirmiş olduğu zararlı etkiler nedeniyle alternatif yöntemler geliştirilmeye başlanmıştır. Bu yöntemlerin en önemlisi de biyolojik mücadeledir.

Biyolojik mücadelede bakteriler, virüsler, mantarlar, nematodlar ve protozoa grubuna ait organizmalar biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılmaktadır. Bunlar arasında toprak grubu bakteriler en çok gelecek vaat eden biyolojik kontrol ajanlarıdır. Özellikle *Bacillus* grubu bakteriler önemli bir yer teşkil ederler. Biyolojik mücadelede kullanılan mikroorganizmaların %90'ını *Bacillus thuringiensis* oluşturmaktadır (Öztürk, 2007). Yapmış olduğumuz bu tez çalışması da bu tür çalışmaları destekleyici nitelikte sonuç vermiştir.

Sonuç olarak yapılan literatür araştırması sonucunda daha önce *Chrysomela populi*'nin biyolojik florası veya biyolojik kontrol ajanının geliştirilmesi ile ilgili herhangi bir çalışma tespit edilememiştir. Bu tez çalışmasında elde edilen türlerden biyolojik aktiviteleri Coleoptara takımına ait Chrysomelidae familyasından olan *Chrysomela populi* erginleri üzerinde yapılan denemelerle belirlenmeye çalışılmıştır. Denemeler üçlü tekrar grupları şeklinde yedi gün süresince yapılmıştır. Ergin böcekler üzerinde yapılan deneme sonuçları yedinci günün sonunda ortalama ölüm oranları alınarak belirlenmiştir. *Bacillus* cinsinden *Bacillus vallismortis* olduğu düşünülen izolat %73.30 oranında etki gösterirken, *Bacillus thuringiensis* olduğu düşünülen izolat %70.60 oranında insektisidal etki göstermiştir. Bu sonuçlar bu iki izolatın *Chrysomela populi*'ye karşı biyolojik ajan olarak kullanılabilirliğini gösterirken *Staphylococcus haemolyticus* olduğu düşünülen izolatın %36.00'lık ölüm oranı zayıf insektisidal etki olarak kabul edilmiştir. *Aerococcus viridans* olduğu düşünülen izolatın ise %53.30'luk ölüm oranının son zamanlarda kullanımı hızla yayılan biyolojik mücadele çalışmaları için yetersiz olduğu öngörülmüştür.

Zararlılara karşı mikrobiyal bir ajan geliştirmek maksadıyla yapılan bu tür çalışmalar sayesinde zararlı böceklere karşı kullanılacak insektisidal aktivitesi yüksek, güvenilir ve ülkemize ait biyolojik kontrol ajanlarının oluşturulması yolunda önemli adımlar atılmış olacaktır.

Bu çalışmanın ülkemizde hem *Chrysomela populi*'ye hem de diğer zararlılara karşı bakteriyel kontrol ajanlarının seçimini, geliştirilmesini ve kullanımını teşvik edeceği, biyolojik mücadele açısından büyük öneme sahip yeni böcek bakterilerinin tespitine yönelik çalışmalara örnek olacağı düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Abbott, W.S. 1925. A Method of Computing of Effectiveness of on Insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265–267.
- Aktaş, H., Şimşek, Z., Kondur, Y. 2008. İç Anadolu Bölgesi'nde kavaklarda kurumlara neden olan *Cytospora chrysosperma* “Pers.” Fr.’nin morfolojik özellikleri, zarar durumu ve *Paranthrene tabaniformis* (Rott.) (Lepidoptera: Sesiidae) arasındaki ilişkiler. *Bitki Koruma Bülteni*, 48(3): 1-14.
- Aktaş, H., Şimşek, Z. 2010. Orta Anadolu Bölgesi'nde *Cytospora chrysosperma* “Pers” Fr. ile önemli kavak delici böcekleri [*Melanophila picta* (Pall.), *Paranthrene tabaniformis* (Rott.)]'nin yaygınlık ve zarar durumları. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 34(1): 117-130.
- Alström, S. 2000. Root colonizing Fungi from oilseed rape and their inhibition of *Verticillium dahliae*. *Journal of Phytopathology*, 148, 418-423.
- Anonim, 2012. National Poplar Commission of Turkey (PERIOD: 2008-2012).
- Anşin, R., Özkan, Z.C. 2006. Tohumlu Bitkiler (Spermatophyta) Odunsu Taksonlar. 3. Baskı, K.T.Ü. Basımevi, Trabzon.
- Aslan, İ., Özbek, H. 1996. Erzurum'da karakavaklarda yeni bir zararlı, *Chrysomela collaris* L. (Col., Chrysomelidae) üzerinde araştırmalar. *Türkiye 3. Entomoloji Kongresi*, 24-28 Eylül, 235-242, Ankara.
- Aslan, İ. 1997. Erzurum ilinde söğüt (*Salix* spp.) ve kavak (*Populus* spp.)'larda zararlı olan yaprak böcekleri (Coleoptera, Chrysomelidae) üzerinde bir araştırma. *İ.Ü.Orman Fakültesi Dergisi seri B, sayı 47, bölüm 3*, 1-11, İstanbul.
- Aslan, İ., Yıldırım, E., Özbek, H. 1999. Erzurum'dan Türkiye faunası için yeni bir kayıt ve yeni bir söğüt (*Salix alba* L.) zararlısı, *Isochnus populicola* Silfverberg. (Col: Curculionidae). *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 23(1): 57-62.
- Bağcı, H., Shareef, S.R., Özdamar, K. 1991. *Bacillus thuringiensis* varyetelerinin sınıflandırılmasında sayısal taksonomi uygulanması. *Doğa Turkish Journal of Biology*, 5: 70-81.
- Ball, J., Carle, J., del Lungo, A. 2005. Contribution of Poplars and Willows to Sustainable Forestry and Rural Development. *FAO Unasylva Volume 56*.
- Bastaban, B. 2008. Botanik Pestisit Kingbo Ve Fungusit Vegard'ın Bitki Patojeni Bakteri ve Fungus Türleri Üzerine Etkilerinin *In vitro* ve *In vivo* Koşullarda Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- Baum, J.A., Malvar, T. 1995. Regulation of insecticidal crystal protein production in *Bacillus thuringiensis*. *Molecular Microbiology*, 18(1): 1-12.
- Ben-Dov, E., Zaritsky, A., Dahan, E., Barak, Z., Sinal, R., Manasherob, R., Khamraev, A., Troitskaya, E., Dubitsky, A., Berezina, N., Margalith, Y. 1997. Extended screening by PCR for seven *cry*-group genes from field collected strains of *Bacillus thuringiensis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 63: 4883-4890.

- Benson, H.J. 1985. Microbiological Applications, a Laboratory Manuel in General Microbiology. Brock, Fourt Editin, Wm C. Brown Publishers, Dubuque, Iowa.
- Bernhard, K., Jarrett, P., Meadows, M., Butt, J., Ellis, D.J., Roberts, G.M., Pauli, S., Rodgers, P., Burges, H.D. 1997. Natural isolates of *Bacillus thuringiensis*: worldwide distribution, characterization and activity against insect pests. Journal of Invertebrate Pathology, 70: 59-68.
- Birler, A.S., Diner, A. 1994. Türkiye Kavakçılığı'nın Alan Servet ve Değer Yönlerinden İncelenmesi. Kavak ve Hızlı Gelişen Orman Ağaçları Araştırma Enstitüsü Dergisi No: 21, İzmit.
- Birler, A.S. 2006a. Endüstriyel Plantasyonlar (Orman Ağaçları Tarımı). Açık Öğretim Fakültesi Çalışma Kitabı, s: 175-189.
- Birler, A. 2006b. Endüstriyel Plantasyonlar (Orman Ağaçları Tarımı). Anadolu Üniversitesi Yayınları, S: 114-116.
- Black, R., Sweetmore, A. 1994. Appropriate Bacterial Identification Systems for Small Plant Pathology Laboratories Overseas Incorporating the Biolog Method. Plant Pathology, 43: 438-441.
- Bobrowski, V.L., Pasquali, G., Bodanese-Zanettini, M.H., Pinto, L.M.N., Fiuza, L.M. 2002. Characterization of two *Bacillus thuringiensis* isolates from South Brazil and their toxicity against *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). Biological Control 25: 129-135.
- Boucias, D.G., Pendland, J.C. 1998. Priciples of Insect Pathology. Kluvar Academic Publisher, London.
- Bowyer, J., Guillry, P., Fernholz, K. 2005. Fast Growth Tree Plantations for Wood Production-Environmental Threat or A Means of "Saving" Natural Forests. Dovetail Partners, Inc.
- Bravo A., Gill S.S., Soberón, M. 2005. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. Toxicon, 49(4): 423-435.
- Bravo, A., Likitvivatanavong, S., Gill, S.S., Soberón, M. 2011. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. Insect Biochemistry and Molecular Biology 41(7): 423-431.
- Braxton, S.M., Onstad, D.W., Dockter, D.E., Giordano, R., Larsson, R., Humber, R.A. 2003. Description and Analysis of two Internet-Based Databases of Insect Pathogens: EWDIP and VIDIL, Journal of Invertebrate Pathology, 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.
- Burges, H.D. 1981. Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980, Academic Press, London.
- Buyer, J.S. 2002. Identificition of Bacteria from Single Colonies by Fatty Acid Analysis. Journal of Microbiological Methods, 48: 259-265.

- Can, P. 1988. Kavaklıklarımızda yeni bir yaprak zararlısı (*Pygaera anastomosis* L.). Kavak ve Hızlı Gelişen Yabancı Tür Orman Ağaçları Araştırma Enstitüsü Dergisi, 1, 89-92 İzmit.
- Cappuccino, J.G., Sherman, N. 1992. Microbiology, a Laboratory Manual. Third Edition, Rockland Community College, Suffern, New York.
- Chang, Y.H., Shangkuan, Y.H., Lin, H.C., Liu, H.W. 2003. PCR assay of the groEL gene for detection and differentiation of *Bacillus cereus* group cells, Applied and Environmental Microbiology, 69(8): 4502-4510.
- Chattopadhyay, A., Bhatnaga, N.B., Bhatnagar, R. 2004. Bacterial Insecticidal Toxins. Critical Reviews in Microbiology, 30.
- Charnley, A.K., Collins, S.A. 2007. Entomopathogenic fungi and their role in pest control. The Mycota IV: Environmental and Microbial Relationships (2nd edition), Eds: Kubicek, C.P. and Druzhinina, I.S., Springer-Verlag, Berlin, 159-187.
- Choma, C.T., Surewicz, W.K., Kaplan, H. 1991. The toxic moiety of the *Bacillus thuringiensis* protoxin undergoes a conformational change upon activation. Biochem Biophys Res Commun 179: 933-938.
- Crickmore, N., Zeigler, D.R., Schnepf, E., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Bravo, A., Dean, D.H. 2010. *Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature. http://www.lifesci.sussex.ac.uk/Home/Neil_Crickmore/Bt/ (Erişim tarihi: 20.07.2014).
- Çakmakçı, R., Erdoğan, Ü. 2005. Organik Tarım. Hamza Polat Meslek Yüksek Okulu Ders Yayınları, No: 2, 121-124.
- Çanakçıoğlu, H. 1989. Orman Entomolojisi (Genel Bölüm), İst. Üniv. Orman Fakültesi Yayın No: 382, İstanbul.
- Çobanoğlu, S. 1992. Edirne ilinde kavaklarda zararlı kavak beyaz kelebeği *Leucoma salicis* (L.) (Lep. Lymantriidae)'in yayılışı ve kısa biyolojisi üzerinde araştırmalar. Türkiye II. Entomoloji Kongresi, 28-31 Ocak, 571- 583, Adana.
- Çökmüş, C., Younsten A.A. 1994. Characterization of *Bacillus sphaericus* strains by SDS-PAGE. Journal of Invertebrate Pathology, 64: 276-268.
- Demir, İ., Sezen, K., Demirbağ, Z. 2002. The First Study on Bacterial Flora and Biological Control Agent of *Anoplus roboris* (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Microbiology, 40: 104-108.
- DPT, 2005. Dokuzuncu Kalkınma Planı Özel İhtisas Komisyonu Orman Ürünleri Arz-talep Bölümü, Ankara.
- Delen, N., Özbek, T. 1993. Pestisitlerin çevre kirlenmesindeki rolleri. I. Ulusal Ekolojik ve Çevre Kongresi, 5-7 Ekim, İzmir.
- Delen, N., Tosun, N. 1997. Türkiye'de pestisit kullanımının toksikolojik değerlendirilmesi. II. Ulusal Toksikoloji Kongresi, 3-6 Nisan, Antalya.
- Demirbağ, Z., Nalçacıoğlu, R., Katı, H., Demir, İ., Sezen, K., Ertürk, Ö. 2008. Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele, Ofset Basım., Trabzon.

- Dunfield, K.E., Xavier, L.J.C., Germida, J.J. 1999. Identification of *Rhizobium leguminosarum* and *Rhizobium* sp. (Cicer) Strains Using a Custom Fatty Acid Methyl Ester (FAME) Profile Library. *Journal of Applied Microbiology*, 86: 78-86.
- Dursun, E. 2000. Meme Aşınmasının Pülverizasyon Karakteristiklerine Etkileri. *Ekin Dergisi*, 6: 21.
- Ecevit, O. 1988. Ziraat Mücadele İlaçları ve Çevreye Olan Etkileri. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayınları, No:27, Samsun.
- Eken, C., Demirci, E. 1997. Fungusların biyolojik mücadelede kullanımı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 28(1): 138-152.
- Evans, H.F. 1986. Ecology and Epizootiology of Baculoviruses. In "The Biology of Baculoviruses, Vol 2, Practical Application for Insect Control" (Granados, R. R. ve Federici, B.A., Eds.), 89-132, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Fadel A., Sharif N., Alaeddinoğlu G. 1988. A rapid and simple method for staining of the crystal protein of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Industrial Microbiology*, 3: 227-229.
- Gamo, M., Shoji, T. 1999. A Method of Profiling Microbial Communities Based on a Most-Probable-Number Assay that Uses Biolog Plates and Multiple Sole Carbon Sources, *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 4419-4424.
- Gaugler, R. 1997. Alternative Paradigms for Commercializing Biopesticides. *Phytoparasitica*, 25: 179-182.
- Ghosheh, H.Z. 2005. Constraints in implementing biological weed control: A review. *Weed Biology and Management*, 5(3): 83-92.
- Goertz, D., Pilarska D., Kereselidze M., Solter L.F., Linde, A. 2004. Studies on the impact of two *Nosema* isolates from Bulgaria on the gypsy moth (*Lymantria dispar* L.). *Journal of Invertebrate Pathology* 87: 105-113.
- Goodfellow, M., Dickinson, C.H. 1985. Delineation and description of microbial populations using numerical methods. In *Computer-assisted bacterial systematics*. Edited by Goodfellow, M.; Jones, D. and Priest, F.G. Academic Press, London, 165-225.
- Goodfellow, M. 1995. Numerical taxonomy. In *Biology of the prokaryotes*. Edited by Schlegel, H.G. and Lengeler, J.W. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Gunning, R.V., Dang, H.T., Kemp, F.C., Nicholson, I.C. ve Moores, G.D. 2005. New resistance mechanism in *Helicoverpa armigera* threatens transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 2558-2563.
- Gökmen, H. 1973. Kapalı Tohumlular, Angiospermae, OGM Yayın No. 564/53, Şark Matbaası, Ankara.
- Güler, N., Can, P. 1994. Orta ve Güneydoğu Anadolu'da kullanılan kavak klonlarında görülen zararlılar. Kavak ve Hızlı Gelişen Tür Orman Ağaçları Araştırma Enstitüsü Teknik Bülten No: 166, İzmit, 24s.

- Güler, N., Can, P., Özay, F. 1995. *Cryptorhynchus lapathi* L.'ye karşı mücadele. Kavak ve Hızlı Gelişen Tür Orman Ağaçları Arş. Enstitüsü Teknik Bülten no:172, İzmit.
- Güler, N., Can, P. 1995. Kavak fidanlıklarında *Sciapteron tabaniformis* Rott. Problemi. Kavak ve Hızlı Gelişen Tür Orman Ağaçları Arş. Enstitüsü Teknik Bülten No: 173, İzmit. 22s.
- Gürboy, B., Bayramoğlu, M., Koçer, S. 2008. Türkiye'de lignoselülozik biyokütle kaynağı olarak kavağın biyoetanol potansiyelinin değerlendirilmesi. VII. Ulusal Temiz Enerji Sempozyumu, 17-19 Aralık 2008, İstanbul.
- Griffits, J., Aroian, R.V. 2005. Many roads to resistance: how invertebrates adapt to Bt toxins. *Bio Essays* 27: 614-624.
- Hakyemez, A. 1995. Zonguldak Bölge Müdürlüğü ormanlarında yaşayan Noctuidae (Lepidoptera) türleri. Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 118 s.
- Hassan, F.R., Mahmoud, T.T. 2008. Field observation on the poplar leaf beetle *Melasoma populi* L. with special concern to the biological study. *Journal of Dohuk University* 11: 43-47.
- Hoffman, M.P. Frodsham, A.C. 1993. Naturel Enemies of Vegetable Insect Pests. Cooperative Extension, 63, Cornell University, Ithaca.
- Hunter-Fujita, F.R., Entwistle, P.F., Evans, H.F. 1998. Insect viruses and pest management. John Wiley & Sons.
- Johansson, C.B. 1999. Bakterilerin Sınıflandırılması. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Editörler: Ustaçelebi, S., Mutlu, G., Cengiz, A.T., Tümbay, E., Mete, Ö., Güneş Kitabevi, Ankara, 1339.
- Kampfer, P. 1995. An efficient method for preparation of extracts from Gram-Positive bacteria for comparison of cellular protein patterns. *Journal of Microbiological Methods*, 21: 55-66.
- Kanat, M. 2000. Kahramanmaraş yöresinde kavak ağaçlarında saptanan bazı böcek türleri. Türkiye IV. Entomoloji Kongresi 12-15 Eylül, 469-475, Aydın.
- Katı, A. 2011. *Xylosandrus germanus* (Blandford) (Coleoptera: Curculionidae)'dan İzole Edilen Bakterilerin Tanımlanması, İnsektisidal ve Antibakteriyel Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Giresun Üniversitesi, Giresun, 75 s.
- Kaya, H.K. 1976. Insect Pathogens in Natural and Microbial Control of Forest Defoliators. In "Perspectives in Forest Entomology" (Anderson, J.F. ve Kaya, H.K., Eds.), 251-263, Academic Press, New York.
- Kaya, H.K., Stock, S.P. 1997. Techniques In Insect Nemaology. In "Manuel of Techniques in Insect Pathology" (Lacey, L.A., Ed.), 281-324, Academic Press, London.
- Kayacık, H. 1963. Orman ve Park Ağaçlarının Özel Sistematiği. II Cilt, Angiospermae, İ.Ü. Orman Fakültesi Yayınları No. 985/83 İstanbul.
- Keçeci, D. 2014. Türkiye'de Farklı İllerden Toplanan Bal Arılarında (*Apis Mellifera* L.) Mezofilik Bakteri Florasının Belirlenmesi ve Arılar Üzerindeki İnsektisidal

- Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ordu.
- Kılıç, N., Alaoğlu, Ö. 1996. Erzurum'da kavaklarda zarar yapan kavak beyaz keleşi *Leucoma salicis* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae)'in biyolojisi ve parazitoidleri üzerinde araştırmalar. Türkiye Entomoloji Dergisi, 20(4): 269-279.
- Koçer, S., Diner, A. 2003. Ülkemizde Kavakçılığın Ekonomik Görünümü. Türkiye Milli Kavak Komisyonu VII. Olağan Kurulu Tebliğleri. Kavak ve Hızlı Gelişen Orman Ağaçları Araştırma Enstitüsü, s. 60-83.
- Kolaş, E. 2007. Konya ilinde kavak ağaçlarında zarar yapan böcekler ile avcı böcek türlerinin belirlenmesi üzerine araştırmalar. Yüksek lisans tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Konya.
- Konopka, A., Oliver, L., Turco, R. F. 1998. The Use of Carbon Substrate Utilization Patterns in Environmental and Ecological Microbiology. Microbiology Ecology, 35: 103-115.
- Kotan, R., Şahin, F., Demirci, E., Özbek, A., Eken, C., Miller, S.A. 2000. Evaluation of antagonistic bacteria for control of *Fusarium* dry rot of potato. Phytopathology, 89: 41.
- Kotan, R. 2002. Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarından izole edilen patojen ve saprofitik bakteriyel organizmaların klasik ve moleküler metotlar ile tanısı ve biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı. Doktora Tezi, 217s.
- Kotan, R., Şahin, F. 2006. Biological control of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and nutritional similarity in carbon source utilization of pathogen and its potential biocontrol agents. Journal of Turkish Phytopathology, 35(1-3): 1-13.
- Kotan, R., Dikbaş, N., Bostan, H. 2009. Biological control of post harvest disease caused by *Aspergillus flavus* on stored lemon fruits. African Journal of Biotechnology, 8(2): 209-214.
- Kök, G. 2009. Dünyada ve Türkiye'de Orman Ürünleri Arz Talep İlişkileri. II. Ormancılıkta Sosyo-ekonomik Sorunlar Kongresi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta.
- Kuzina, L.V., Miller, E.D., Ge, B., Miller, T.A. 2002. Transformation of *Enterobacter gergoviae* Isolated from Pink Bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae) Gut with *Bacillus thuringiensis* Toxin. Current Microbiology, 44: 1-4.
- Lacey, L.A., Fransen, J.J., 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. 1997. Bacteria: Laboratory Bioassays of Bacteria Against Aquatic Insects with Emphasis on Larvae of Mosquitoes and Black Flies. In "Manual of

- Techniques in Insect Pathology (Lacey, L.A., Ed.), 79–88, Academic Press, New York.
- Lacey, L.A., Kaya, H.K. 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., Vail, P. 2001. Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future?. *Biological Control*, 21: 230-248.
- Latgé, J.P., Papierok, B. 1988. Aphid Pathogens. In “Aphids: Their Biology, Natural Enemies and Control” (Minks, A. K. and Harrewijn, P., Eds.), Vol. B, 323-335, Elsevier, Amsterdam.
- Lelliot, R., Stead, D. 1978. Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants. *Method in Plant Pathology*, 2, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 216s.
- Lipa, J.J. 1975. An Outline of Insect Pathology, Warsaw, Poland.
- Logan, N.A. 1994. Bacterial systematics. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Lui, Y.B., Tabashnik, B.E. 1997. Experimental evidence that refuges delay insect adaptation to *Bacillus thuringiensis*. *Proc. R. Soc. London (B)* 264: 605-610.
- Ma, G., Roberts, H., Sarjan, M., Featherstone, N., Lahnstein, J., Akhurst, R., Schmidt, O. 2005. Is the mature endotoxin Cry1Ac from *Bacillus thuringiensis* inactivated by a coagulation reaction in the gut lumen of resistant *Helicoverpa armigera* larvae?. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 35: 729-739.
- MacDonell, M.J., Colwell, R.R. 1985. The contribution of numerical taxonomy to the systematics of Gram-negative bacteria in *Computer-Assisted Bacterial Systematics* Edited by M. Goodfellow, D. Jones and F.G. Priest, Academic Press, London, 107-135.
- Maddox, J.V. 1987. Protozoan Diseases. In “Epizootiology of Insect Diseases” (Fuxa, J.R. ve Tanada, Y., Eds.), 417-452, Wiley, New York.
- Manfio, G.P. 1995. Towards Minimal Standards for the Description of *Streptomyces* species. Ph.D. Thesis, University of Newcastle, Newcastle upon Tyne, UK.
- Mark, E.W., Byron, A.W. 2003. Bt: Mode of Action and Use. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 54: 200–211.
- Martin, F.N., Bull C.T. 2002. Biological approaches for control of root pathogens of strawberry. *Phytopathology*, 92: 1356-1362.
- McCoy, C.W., Samsun, R.A., Boucias, D.G. 1988. Entomogenous Fungi. In “Handbook of Natural Pesticides, Vol 5: Microbial Insecticides, Part A: Entomogenous Protozoa and Fungi”, (Ignoffo, C.M. and Mandava, N.B., Eds.), 151-236, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Miller, L., Berger, T. 1985. Bacteria Identification by Gas Chromatography of Whole Cell Fatty Acids. 1-8, In “Hewlett-Packard Application Note, 228-241”, Hewlett-Packard, Avondale, Pa.

- Murillo, R., Munoz, D., Lipa, J., Cabellero, P. 2001. Biochemical characterization of three nucleopolyhedrovirus isolates of *Spodoptera exigua* and *Mamestra brassicae*. *Journal of Applied Entomology*, 125: 267-70.
- National Research Council, 1984. Subcommittee on Insect Pest. Insect Pest Management and Control, Washington, 150-155.
- Novillo, C., Castanera, P., Ortego, F. 1997. Characterization and distribution of chymotrypsin-like and other digestive proteases in Colorado potato beetle larvae. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 36: 181-201.
- Odabaş, D. 2011. Ordu İli ve İlçelerinden Toplanan Toprak Numunelerinden *Bacillus* sp. Suşlarının İzolasyonu ve İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ordu.
- OGM, 2006. Orman varlığımız, Orman Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Oğurlu, İ. 2000. Biyolojik Mücadele. Süleyman Demirel Üniversitesi, Yayın No: 8, Isparta.
- Ohba, M., Wasano, N., Mizuki, E. 2000. *Bacillus thuringiensis* soil populations naturally occurring in the Ryukyus, a subtropic region of Japan. *Microbiological Research*, 155: 17-22.
- Ombui, J.N., Mathenge, J.M., Kimotho, A.M., Macharia, J.K., Nduhiu, G. 1996. Frequency of antimicrobial resistance and plasmid profiles of *Bacillus cereus* strains isolated from milk. *East African Medical Journal*, 73(6): 380-384.
- Oppert, B., Kramer, K.J., Beeman, R.W., Johnson, D., McGaughey, W.H. 1997. Proteinase-mediated insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. *Journal of Biological Chemistry* 272: 23473-23476.
- Osborn, F., Berlioz, L., Vitelli-Flores, J., Monsalve, W., Dorta, B., Lemoine, V.R. 2002. Pathogenic Effects of Bacteria Isolated from Larvae of *Hylesia metabus* Crammer (Lepidoptera: Saturniidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 80: 7-12.
- Öner, N., Aslan, S. 2002. Titrek kavak (*Populus tremula* L.) odununun teknolojik özellikleri ve kullanım yerleri. *SDÜ Orman Fakültesi Dergisi*, A1: 135-146.
- Örtücü, S., Algur, Ö.F. Aydoğan, M.N. 2010. Entomopatojen Fungus Toksinlerinin İnsektisidal Etkileri. 1. Ulusal Palandöken Toksikoloji Sempozyumu, 28-30 Mayıs 2010, Erzurum.
- Özay, F.S. 1992. Meriç Havzası kavak ağaçlandırmalarının entomolojik problemleri. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 67 s.
- Özay, F.S., Güler, N., Uluer, K., Selek, F. 2000. Kavaklara arız olan *Pygaera (Clostera) anastomis* (L.) üzerine araştırmalar. Kavak ve Hızlı Gelişen Orman Ağaçları Araştırma Enstitüsü Teknik Bülten no: 191, İzmit, 19s.
- Özcan, E., Ünal, S. 2006. Taşköprü Fidanlığında (Kastamonu) Zarar Yapan Böceklerin Belirlenmesi. *Kastamonu Eğitim Dergisi*, 13(1): 149-158.
- Özdemir, C. 1993. Yabancı otlarla biyolojik mücadelede mikoherbisitlerin önemi. Türkiye 1. Herboloji Kongresi, s: 385-389, 3-5 Şubat, Adana.

- Özkurt, A. 2002. Türkiye'deki Okaliptüs Plantasyonları: Problemler, Yönetim ve Fırsatlar. Doğu Akdeniz Ormancılık Araştırma Müdürlüğü, DOA Dergisi, Sayı: 8.
- Öztürk, F. 2007. Ankara'daki topraklardan izole edilen *Bacillus* türlerinin tanımlanması, moleküler düzeyde tiplendirilmesi ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 145 s.
- Parrott, J., Mackenzie, N. 2008. Aspen in Scotland: Biodiversity and Management. Proceedings of a Conference, Scotland 3-4 October 2008, Scotland.
- Pilarska, D., Solter, L., Kereselidze, M., Linde, A., Hoch, G. 2006. Microsporidian infections in *Lymantria dispar* larvae: Interactions and effects of multiple species infections on pathogen horizontal transmission. *Journal of Invertebrate Pathology*, 93: 105-113.
- Pincus, D.H. 2002. Microbiology Identification Using The Bio'merieux VİTEK® 2 System. Bio'merieux Inc., Hazelwood, MO, USA.
- Poinar, G.O., Thomas G.M. 1978. Diagnostic Manual for the Identification of Insect Pathogens. Plenum Press, New York, 218.
- Poinar, G.O. 1979. Nematodes for Biological Control of Insects. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Priest, F.G. 1993. *Bacillus*, Biotechnology, Biological Fundamentals. Vol. 1, by edited Sahm H., Wiley-Vch Verlag GmbH, Weinheim, 1267-1280.
- Priest, F., Austin, B. 1993. Modern bacterial taxonomy. 2nd ed. Chapman & Hall, London.
- Rainey, F.A., Fritze, D., Stackebrandt, E. 1994. The phylogenetic diversity of thermophilic members of the genus *Bacillus* as revealed by 16S rDNA analysis. *FEMS Microbiology Letters*, 115: 205-212.
- Raymond, B., Johnston, P.R., Nielsen-LeRoux, C., Lereclus, D. ve Crickmore, N. 2010. *Bacillus thuringiensis*: an impotent pathogen?. *Trends in Microbiology*, 18: 189-194.
- Rosovitz, M.J., Voskuil, M.I., Chambliss, G.H. 1998. *Bacillus*, Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. Systematic Bacteriology, 9nd Edition, Volume 2, by edited Collier L., Balows, A. and Susman, M., Oxford University Pres, New York, 709-730.
- Sackin, M.J., Jones, D. 1993. Computer-assisted classification. In Handbook of new bacterial systematics. Edited by Goodfellow, M. & O'Donnell, A.G. Academic Press, London, 281-313.
- Sasser, M.S. 1990. Identification of by Gas Chromatography of Cellular Fatty Acids. Technical Note 101, Newark, DE, Microbial ID Inc.
- Saygılı, H., Şahin, F., Aysan, Y. 2006. Fitobakteriyoloji. İzmir, İstanbul, Adana, 65-75.

- Schnepf E., Crickmore N., Van Rie J., Lereclus D., Baum J., Feitelson J., Zeigler D.R., Dean D.H. 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3): 775–806.
- Sekendiz, O.A. 1974. Türkiye hayvansal kavak zararları üzerine araştırmalar. Karadeniz Teknik Üniversitesi Genel yayın No: 62, Orman Fak. Yayın No: 3, İstanbul, 195 s.
- Selek, F. 1998. İzmit ve Adapazarı yöresinde kavaklarda zarar yapan Lepidoptera türleri. Kavak ve Hızlı Gelişen Tür Orman Ağaçları Enstitüsü Müdürlüğü, Çeşitli Yayınlar Serisi, No: 13, İzmit, 45 s.
- Sezen, K., Demirbağ, Z. 1999. Isolation and Insecticidal Activity of Some Bacteria from the Hazelnut Beetle (*Balaninus nucum* L.). *Applied Entomology and Zoology*, 34: 85-89.
- Sezen, K., Demirbağ, Z. 2007. Adi Mayıs Böceği (*Melalontha melalontha*, Coleoptera: Scarabaeidae)'nin Biyolojik Kontrol Ajanının Araştırılması. *Ekoloji Dergisi*, 16(63): 34-40.
- Siefert, J.L., Larios-Sanz, M., Nakamura, L.K., Slepecky, R.A., Paul, J.H., More, E.R., Fox, G.E., Jurtshuk Jr., P. 2000. Phylogeny of marine *Bacillus* isolated from Gulf of Mexico. *Current Microbiology*, 41: 84-88.
- Sneath, P.H.A. 1957a. Some thoughts on bacterial classification. *Journal of General Microbiology*, 17: 184-200.
- Sneath, P.H.A. 1957b. The application of computers to taxonomy. *Journal of General Microbiology*, 17: 201-226.
- Sneath, P.H.A., Sokal, R.R. 1973. *Numerical Taxonomy: The Principles and Practice of Numerical Classification*. W.H. Freeman, Baltimore.
- Sneath, P.H.A. 1978. Classification of microorganisms. In *Essays in Microbiology*, Section 9. Edited by J.R. Norris and M.H. Richmond. John Wiley and Sons Ltd., Chichester, 1-31.
- Soberon M., Fernandez L.E., Perez C., Gill S.S., Bravo A. 2007. Mode of action of mosquitocidal *Bacillus thuringiensis* toxins. *Toxicon*, 49: 597–600.
- Steinhaus, E.A. 1956. Microbial Control: The Emergence of an Idea. *Journal of Agriculture Science*, 26: 107-160.
- Swiecicka, I. 2001. Protein Profile and Biochemical Properties of *Bacillus circulans* Isolated from Intestines of Small Free-living Animals in Poland. *Folia Microbiologica*, 42(2): 165-171.
- Şahbaz, A., Uysal, M. 2005. Konya İlinde Kavaklarda Beslenen Yaprak Biti (Homoptera: Aphididae) türleri ile parazitoit ve predatörlerinin belirlenmesi üzerine araştırmalar. Selçuk Üniv. Zir. Fak. Yüksek Lisans Tezi, Konya, 63 s.
- Şahin, Ö., Uğur, A. 2002. Ankara ilinde kavak zararlısı Coleopter ve Lepidopter türlerinin saptanması üzerinde araştırmalar. Ankara Üniv. Zir. Fak. Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 66 s.

- Şahin, F. 2003. Moleküler Tanı Yöntemleri. 2003 Biyoinformatik-I Lisansüstü Yaz Kursu Kitabı, 6. Bölüm (Telefoncu, A., Küfrevioğlu, İ. ve Pazarlıoğlu, N., Eds.), Ege Üniv. Basımevi, İzmir.
- Şimşek, Z. 1998. Çankırı'da kavak fidanlıklarında kavak yalancı arısı (*Paranthrene tabaniformis* (Rott.) (Lepidoptera: Sesiidae)) ile mücadelede kitlesel tuzaklama ve kimyasal mücadelesi. Kavak ve Hızlı Gelişen Orman Ağaçları Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Araştırma Dergisi, 25: 69-81, İzmit.
- Şimşek, Z. 2000. Ilgaz Dağı Milli Parkı (Yenice ve Doruk)'nda bulunan Lepidoptera türleri ve populasyon dalgalanması. Batı Karadeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Dergi serisi, 3: 1-37, Bolu.
- Şimşek, Z., Aktaş, H. 2010. Çankırı kavak alanlarında *Cytospora* kavak kanseri (*Cytospora chrysosperma* "Pers" Fr.)'nin biyolojisi ile saydam kanatlı kavak kelebeği [*Paranthrene tabaniformis* (Rott.)]'nin popülasyon seyri ve bunların mücadeleleri. Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi Seri: A, Sayı: 2, ISSN: 1302-7085, Sayfa: 16-36.
- Tabashnik, B.E., Sisterson, M.S., Ellsworth, P.C., Dennehy, T.J., Antilla, L., Liesner, L., Whitlow, M., Staten, R.T., Fabrick, J.A., Unnithan, G.C., Yelich, A.J., Eilers-Kirk, C., Harpold, V.S., Li, X., Carriere, Y. 2010. Suppressing resistance to Bt cotton with sterile insect releases. Nature Biotechnology, 28(12): 1304-1307.
- Tanada, Y., Kaya, H.K. 1993. Insect Pathology. Academic Press, New York.
- Tiryaki, O., Canhilal, R., Horuz, S. 2010. Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 26(2): 154-169.
- Toper, A. 1995. Bartın yöresinde kavaklarda zarar yapan böcekler. Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Bartın, 38s.
- Tozlu, G. 1997. Sarıkamış (Kars)'ta Titrek Kavak (*Populus tremula* L.)'ta zarar yapan böcek türlerinin tespiti ve bunlardan bazı önemli türlerin biyolojisi üzerinde çalışmalar. Türkiye Entomoloji Dergisi, 25(2): 133-146.
- Tozlu, G. 2001. Sarıkamış (Kars)'ta Titrek Kavak (*Populus tremula* L.)'ta zarar yapan böcek türlerinin tespiti ve bunlardan bazı önemli türlerin biyolojisi üzerinde araştırmalar. Türkiye Entomoloji Dergisi, 25(2): 133-146.
- Uribe, D., Martinez, W., Cero'n, J. 2003. Distribution and diversity of cry genes in native strains of *Bacillus thuringiensis* obtained from different ecosystems from Colombia, Journal of Invertebrate Pathology, 82: 119-127.
- Uygun, N., Ulusoy, M.R., Satar, S. 2010. Biyolojik mücadele. Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 1: 1-14.
- Ünal, G. 1998. Ziraî Mücadele İlaçları Toksikolojisi ve Çevre. Ankara Ziraî Mücadele Enstitüsü Seminer Notları, Ankara.
- Vavra, J., Maddox, J., Hylis, M., Vossbrinck, C., Pilarska, D., Linde, A., Weiser, J., Mcmanus, M., Hoch, G., Solter, L. 2006. *Vairimorpha disparis* (Microsporidia: Burenellidae): A Redescription of the *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae) Microsporidium, *Thelohania disparis* Timofejeva 1956, Journal of Eukaryotic Microbiology, 53(4): 292-305.

- Verweij, P.E., Breuker, I.M., Rijs, A.J. 1999. Comparative study of seven commercial yeast identification systems. *Journal of Clinical Pathology*, 52: 271- 273.
- Vietto , L., Chiarabaglio, P.M. 2004. Restoration of Floodplain Woodlands with Native *Poplars* (*Populus nigra* L. and *Populus alba* L.) in Italy: some case studies on the Po River. International Conference on River Restoration in Europe, Zagreb, 6 p.
- Vilas-Boas, G.T., Lemos, M.V.F. 2004. Diversity of cry genes and genetic characterization of *Bacillus thuringiensis* isolated from Brazil. *Canadian Journal of Microbiology*, 50: 605-613.
- Visser, B., Bosch, D., Honee, G. 1993. Domain-function studies of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. 71-88, Cory, P.F., Bailey, J.S., Higgs, M.J., A Genetic Approach *Bacillus thuringiensis*, An Environmental Biopesticide, Theory and Practice, Willey and Sons, New York, 330 s.
- Von Wühlisch, G. 2009. EUFORGEN Technical guidelines for genetic conservation and use of Eurasian Aspen (*Populus tremula*). Bioversity International, Rome, Italy, 6 pp.
- Wang, J., Boets, A., Van Rie, J., Ren, G. 2003. Characterization of cry1, cry2, and cry9 genes in *Bacillus thuringiensis* isolates from China. *Journal of Invertebrate Pathology*, 82: 63-71.
- Woods, S.A., Elkinton, J.S. 1987. Biomodal Patterns of Mortality from Nuclear Polyhedrosis Virus in Gypsy Moth (*Lymantria dispar*) Populations. *Journal of Invertebrate Pathology*, 50: 151-157.
- Xue, J., Liang, G., Crickmore, N., Li, H., He, K., Song, F., Feng, X., Huang, D., Zhang, J. 2008. Cloning and characterization of a novel Cry1A toxin from *Bacillus thuringiensis* with high toxicity to the Asian corn borer and other lepidopteran insects. *Microbiology Letters*, 280: 95-101.
- Yaltrık, F. 1993. Dendroloji Ders Kitabı II Angiospermae (Kapalı Tohumlular). Bölüm I, 2. Baskı, İstanbul.
- Yaman, M., Radek, R. 2003. *Nosema chaetocnema* sp., a microsporidian (Microspora; Nosematidae) parasite of *Chaetocnema tibialis* (Chrysomelidae, Coleoptera). *Acta Protozoologica*, 42: 231-237.
- Yaman, B., Sarıbaş, M. 2004. Türkiye'nin exuine bölgesindeki doğal kavak (*Populus* sp.) taksonlarında yükseltiyle ilişkili olarak trahe hücre boyutlarındaki varyasyonlar. *SDÜ Orman Fakültesi Dergisi*, A1: 111-123.
- Yaman, M. 2008. The First Record of Nucleopolyhedrovirus Isolated from the Satin Moth *Leucoma salicis* L. (*Lepidoptera*, *Lymantriidae*) in Turkey. *Folia Biologica*, 56: 273-276.
- Yaman, M., Radek, R., Tosun, O., Aydın Ç., Ertürk, Ö. 2009. First Record of the Insect Pathogenic Alga *Helicosporidium* sp. (Chlorophyta: Trebouxiophyceae) Infection in Larvae and Pupae of *Rhizophagus grandis* Gyll. (Coleoptera, Rhizophagidae) from Turkey. *Journal of Invertebrate Pathology*, 102: 182-184.

- Yaman, M. 2012. Biyolojik Mücadelede Entomopatojenler için Böcek Patolojisi Atlası, Sage Yayıncılık, Trabzon, 186 s.
- Yıldırım, E. 2000. Tarımsal Zararlılarla Mücadele Yöntemleri ve Kullanılan İlaçlar. Atatürk Üniv. Zir. Fak. Yay., Erzurum, 344 s.
- Yıldız, N. 1975. *Saperda populnea* L.'nin Türkiye'deki yayılışı, biyolojisi, koruma ve savaş metotları üzerinde araştırmalar. Kavak ve Hızlı Gelişen Yabancı Tür Orman Ağaçları Araştırma Enstitüsü, yıllık bülten no: 10: 261- 280, İzmit.
- Yıldız, B., Aktoklu, E. 2010. Bitki Sistematigi. Ankara, Türkiye, 396 s.
- Yılmaz, H. 2004. *Dendroctonus micans*'ın Bakteriyel Florası ve Mikrobiyal Mücadele Ajanlarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, KTÜ, Trabzon.
- Yılmaz, S. 2010. Çeşitli Habitatlardan İzole Edilen *Bacillus thuringiensis* Suşlarının Moleküler Karakterizasyonu ve Bazı Zararlı Böceklerle Karşı Mücadelede Kullanımı. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
- Yılmaz, Ş. 2013. *Bacillus thuringiensis* Ekzopolifosfataz Genine (Ppx) Ait Olası Promotorun Aktivitesinin Lusiferaz Haberci Geni Aracılığıyla Ölçülmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gebze İleri teknoloji Enstitüsü, Gebze.
- Yiğit, F. 2005. Bitki patojenlerinin kontrolünde kullanılan biyokontrol ürünler ve özellikleri. S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 19(36): 70-77.
- Yücel, E. 2005. Ağaçlar ve Çalılar 1. (Ornamental Plants (Trees and Shrubs)), Eskişehir, 301 s.
- Zaitzev, Yu.M., Medvedev, L.N. 2009. Larvae of leaf beetles of Russia. Tovarishchestvonauchnykh izdaniy KMK, Moscow.
- Zeki, H., Toros, S. 1992. *Chrysomela populi* L. ve *Chrysomela tremulae* F. (Coleoptera, Chrysomelidae)'nin gelişmeleri üzerine konukçunun etkisi. Türkiye II. Entomoloji Kongresi Bildirileri. 28-31 Ocak 43-53, Adana.
- Zeki, H., Toros, S. 1996. *Chrysomela populi* L. ve *Chrysomela tremulae* F. (Col.:Chrysomelidae) erginlerine konukçunun etkisi, Bitki Koruma Bülteni, 36 (1-2): 25-38.
- Zhang, Y., Wallace, J.M., Battisti, D.S. 1997. ENSO-like interdecadal variability: 1900-93. Journal of Climate, 10: 1004-1020.
- Zobel, B. 1984. The changing quality of the world wood supply. Wood Science and Technology, 18: 1-17.

EKLER LİSTESİ

EK 1. Kùltür Ortamının Bileşimi ve Hazırlanışı

1.1. Nutrient Agar (Merck)

Pepton from meat	5 g
Meat extract	3 g
Agar-agar	12 g
Saf su	1 000 mL

Dehidre besiyeri 1 000 mL'de 20 g olacak şekilde saf su içersinde ısıtılarak çözülmüştür. Çözülen besiyeri otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir. 45-50°C'ye kadar soğuduktan sonra steril petrilere aseptik şekilde dökülmüştür. 25°C'de pH'sı 7.0±0.2'dir.

EK 2. Çözeltiler

2.1. %20'lik Gliserol Stok Çözeltisi

Gliserol stok izolatların uzun süre -20°C 'de saklanması için hazırlanmıştır.

Gliserol 20 mL

Nutrient broth 80 mL

%20'lik gliserol çözeltisi hazırlandıktan sonra cryo tüplere 1.5 mL konulmuştur ve 121°C 'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

EK 3. Sterilizasyon Teknikleri

3.1. Basınçlı Buhar ile Sterilizasyon

Sterilizasyona dayanıklı cam tüpler, petri plakları, otomatik pipet uçları, kültür ortamları ve solüsyonların sterilizasyonunda ısı ve basınçtan faydalanılır. Bu teknik, sterilizasyonu sağlanacak olan materyallerin, 121°C ısıya ayarlanmış otoklav adı verilen alet içerisinde 15 dakika bekletilmesi ile gerçekleşir. Bununla birlikte, yüksek ısıya dayanıksız kimyasal maddeler, karbon ve azot kaynakları ile antibiyotik gibi maddeler, farklı sterilizasyon teknikleri kullanılarak steril edilmiştir.

3.2. Yakma ve Alevden Geçirme ile Sterilizasyon

Yakma ve alevden geçirme ile sterilizasyon tekniği, direkt ısıda bozulmayacak madeni araç-gereçlerin veya camdan yapılmış bazı aletlerin sterilizasyonunda kullanılır. İnokülasyonda kullanılan özeler, akkor haline gelene kadar yakılarak; alevden geçirilerek steril edilmiştir.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Eda DEMİRKOL
Doğum Yeri : KIRIKKALE
Doğum Tarihi : 29.04.1988
Yabancı Dili : İngilizce
E-mail : edademirkol@hotmail.com
İletişim Bilgileri : Ordu Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
0554 237 79 78

Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/ Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji	Ordu Üniversitesi	2012
Y. Lisans	Biyoloji	Ordu Üniversitesi	2014

Yayımlar :

1. Ülkemizde Arı Sokmalarına Karşı Kullanılan Halk İlaçları. Arıcılık Dergisi, 2013.
2. Kavak Zararlıları ve Mücadele Yöntemleri. Yüksek Lisans Semineri, Ordu Üniversitesi, 2013.
3. Rize İlinden Toplanan Çayların Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri ve Biyoaktif Bileşenlerinin Tayini. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi (Poster), Eskişehir, 2014.