



*Araştırma makalesi*

***Sitona puncticollis* Stephens, 1831 (Coleoptera: Curculionidae) türünün  
sindirim sistemi bakteri florasının incelenmesi<sup>a</sup>**

**Hatice ÖĞÜTÇÜ<sup>1\*</sup>, Yasemin ERBEY<sup>2</sup>, Mahmut ERBEY<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 40100, Bağbaşı Kırşehir.

<sup>2</sup> Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, 40100, Bağbaşı Kırşehir.

<sup>3</sup> Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 40100, Bağbaşı Kırşehir.

\* Sorumlu yazar (Corresponding author): [hogutcu@gmail.com](mailto:hogutcu@gmail.com)

Makale alımı (Received): 23.06.2022 / Kabul (Accepted): 16.08.2022 /Yayınlanma (Published): 16.12.2022

**ÖZ**

Bu çalışmada, ekolojik ve ekonomik önemi olan Curculionidae (Coleoptera) familyasından *Sitona puncticollis* Stephens, 1831 (Curculionidae: Entiminae) türünün sindirim sistemindeki bakteri florası incelenmiştir. Bu organizmanın yonca (*Medicago sativa* L.) bitkisinde konukçu olduğu ve popülasyon artışıyla birlikte önemli zararlar verdiği ifade edilmektedir. *S. puncticollis* türleri Özbağ kasabası (Kırşehir) civarında bulunan yonca tarlalarından atrapla süpürme tekniği kullanılarak toplanmıştır. Örnekler steril tüpler içerisinde canlı olarak laboratuvara getirilmiş, disekte edilerek sindirim kanalları çıkarılmış ve bakteri izolasyonu yapılmıştır. Bakteriyolojik inceleme sonucunda tek bir izolat elde edilmiş, tanımlanması için morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik testler uygulanmıştır. Testler neticesinde; izolatın Gram pozitif, hareketsiz, nutrient agar ve kanlı agardaki kolonileri pigmentsiz, 15-37°C sıcaklık aralığında optimum büyüme gösterdiği ve tuz toleransının %10 NaCl olduğu belirlenmiştir. Elde edilen verilerin zararlılara karşı yapılacak biyolojik mücadele konusunda önemli bir alt yapı oluşturacağı değerlendirilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Sitona puncticollis*, yonca, flora, hortumlu kınkanatlı, sindirim mikrobiyotası

## Investigation of the Bacterial Flora of the Digestive System of *Sitona puncticollis* Stephens, 1831 (Coleoptera: Curculionidae)

### ABSTRACT

In this study, the bacterial flora in the digestive system of *Sitona puncticollis* Stephens, 1831 (Curculionidae: Entiminae) from the Curculionidae (Coleoptera) family, which has ecological and economic importance, was investigated. It is stated that this organism causes significant damage with the increase in population on the host alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants. *S. puncticollis* species were collected from the alfalfa fields around the town of Özbağ (Kırşehir) using the scraper sweeping technique. The samples were brought to the laboratory alive in sterile tubes and dissected, the digestive tracts were removed and bacterial isolation was made. Morphological, biochemical and physiological tests were applied to identify a single isolate as a result of bacteriological examination. As a result of the tests; it was determined that the isolate is gram positive, motionless, colonies on nutrient agar and blood agar are non-pigmented, optimum growth temperature range is 15-37°C and salt tolerance is 10% NaCl. It has been emphasized that the data obtained will form an important infrastructure for biological control against pests.

**Keywords:** *Sitona puncticollis*, clover, flora, proboscised beetle, gut microbiota

© Kırşehir Ahi Evran University, Faculty of Agriculture

### Giriş

Curculionidae; Coleoptera takımının tür sayısı bakımından en zengin familyalarından biridir. Bu familya, üyelerinin baş kısımlarının ileriye doğru uzamasıyla oluşan hortumdan dolayı “Hortumlu Kınkanatlılar” olarak bilinmektedir. Kınkanatlıların büyük bir kısmı Polyphaga alttakımına aittirler. Curculionidae familyası bu alttakım içerisinde yer almaktadır (Borror vd. 1989).

Araştırmamızda yer alan Curculionidae familyası, ekonomik ve ekolojik öneme sahip olan organizma grubudur. Bu familyaya ait türlerin birkaçı dışında tümü fitofagdır (Ross 1963). Familya içindeki larva ve ergin bireyler bitkilerin kök, gövde, yaprak ve meyveleriyle beslenmektedir (Mihajlova 1978). En çok zarar verdiği dönem larva dönemidir. Pupa dönemini aynı bitki üzerinde veya toprakta geçirdikten sonra çıkan ergin zarara devam etmektedir (Richard ve Davies 1977). Çiğneyici tipte olan ağız parçaları hortumun ucunda yer almaktadır. Mandibullar çok değişik şekillerde olmakla birlikte genellikle küçük ve hançer şeklinde görünmektedir. Mandibulların iç yüzeyi genellikle dişli, dış yüzeyi düzdür. (Marvaldi ve Lanteri 2005). Ülkemizde zirai, tarımsal ve ormanlık alanlar oldukça yoğun bulunmaktadır. Familya bireyleri ekonomik önemi olan bitkilerde, tarımsal ürünlerde ve ormanlık alanlarda önemli derecede zararlar meydana getirmektedirler.

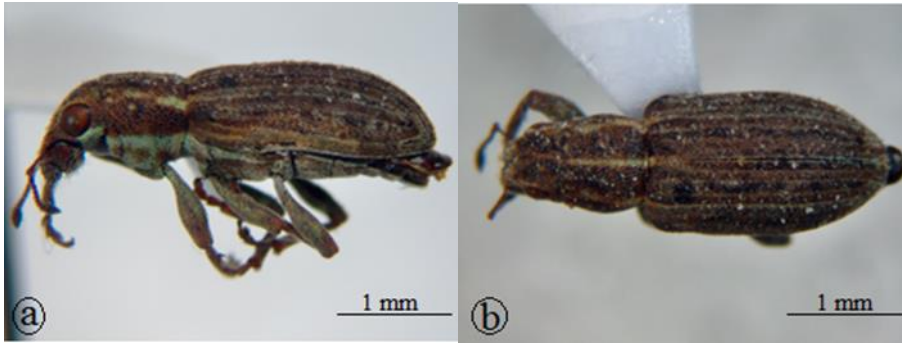
Kırşehir ili tarım ve zirai faaliyet açısından oldukça etkili bir ilimizdir. Hayvancılığın yoğun yapılması sonucunda tarımsal ürünler ve özellikle de yem bitkileri önemli oranda yetiştirilmektedir. Curculionidae (Coleoptera) familyası bireyleri ise fitofag oldukları için oldukça zararlı bir grubu teşkil etmektedirler. Bu familya bireyleri birçok bitkisel üründe önemli ölçüde ürün kayıplarına neden olmaktadır. Bunlardan birisi de yonca bitkisi. Kırşehir’de hayvancılık yapıldığı için yonca yaygın bir şekilde ekilmektedir. Dolayısıyla yonca bitkisinde zararlı olan bu organizma grubu yonca verimliliğini doğrudan etkilemektedir. Tarımsal ürünlerde zararlı olan organizmalara karşı birçok mücadele yöntemi uygulanmaktadır. Son zamanlarda bağırsakta yer alan bakteri florasının tespiti ve buna bağlı olarak gerçekleştirilen biyolojik mücadele bu yöntemlerden biridir. Literatür incelendiğinde *Sitona puncticollis* türünün yoncada yaygın bir yayılış gösterdiği belirlenmiştir (Lodos vd. 2003, Avgın ve Colonnelli 2011).

Bu çalışmada, *S. puncticollis* Stephens, 1831 (Curculionidae: Entiminae) türünün sindirim kanalında bulunan bakteri florasının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen verilerin biyolojik mücadeleye katkısının olacağı değerlendirilmektedir.

## Materyal ve Yöntem

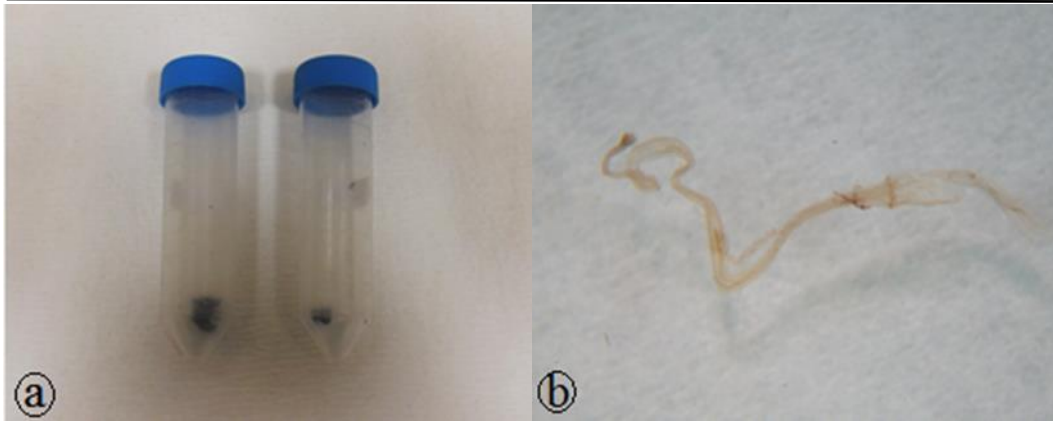
### *Sitona puncticollis*’in Sindirim Sisteminden Bakteri İzolasyonu

*S. puncticollis* türleri yonca tarlalarından atrapla süpürme tekniği kullanılarak toplanmış ve steril tüpler içerisine konulmuştur. Örnekler canlı bir şekilde laboratuvara getirilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. *Sitona puncticollis*; a- Lateral görünüm, b- Dorsal görünüm

Örneklerin teşhisi Doç. Dr. Mahmut ERBEY tarafından yapılmış ve numuneler hijyenik koşullarda disekte edilerek sindirim kanalları çıkarılmıştır. Çıkarılan sindirim kanalları steril fizyolojik tuzlu su içerisinde cam baget ile ezilerek, vorteks yardımıyla homojenize edilmiştir (Şekil 2a ve Şekil 2b).



**Şekil 2.** a- Steril tüp içerisindeki canlı örnekler b- Çıkarılmış sindirim kanalı

Elde edilen homojenattan ayrı ayrı 10 cm çapında içerisinde steril nutrient agar bulunan petrilere yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Bunun için orijinal örnekten otomatik pipet yardımıyla 1000 µl alınarak petrilere aktarılmış, alkol ile steril edildikten sonra iyice yakılarak steril edilmiş drigalski spatülü ile tüm agar yüzeyine yayılmıştır. Sonra petrilere aerob ve anaerob şartlarda 32°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen farklı koloniler seçilerek saflaştırılmak amacı ile nutrient agar petrilere ekim yapılmıştır.

#### *İzolatin Morfolojik, Biyokimyasal ve Fizyolojik Testleri*

İzolatların morfolojik özelliklerinin belirlenmesinde, Gram boyama ve % 4’lük yumuşak agarda hareketlilik testleri yapılmıştır (Orhan 2013, Ögütçü ve Algur 2014). Biyokimyasal özelliklerin belirlenmesi için ise; katalaz, oksidaz, hemoliz, Voges-Proskauer, Simmon sitrat ve üç şekerli demir agar testleri yapılmıştır (Tetik 2007, Temiz 2010, Ögütçü vd. 2010, Adıgüzel vd. 2010, Çelebi 2012). Bakteriyel izolatların fizyolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla; tuz toleransları ölçülmüş ve farklı sıcaklıklarda üreme yetenekleri tespit edilmiştir (Tetik 2007, Çelebi 2012, Orhan 2013, Ögütçü ve Algur 2014).

#### **Bulgular ve Tartışma**

Çalışma sonucunda, *S. puncticollis* Stephens, 1831 (Curculionidae: Entiminae) türünün sindirim sisteminden tek bir izolat elde edilmiş ve YHS-2 olarak kodlanmıştır.

#### *Elde Edilen İzolatin Morfolojik Test Sonuçları*

YHS-2 izolatının yuvarlak (kok) şekilde, Gram pozitif ve %4’lük yumuşak nutrient agar’da yapılan hareketlilik testi sonucunda hareketsiz olduğu belirlenmiştir (Tablo 1).

**Tablo 1.** Bakteriyel İzolatin Morfolojik Özellikleri

İzolat	Gram Boyama	Hücre Şekli	Hareket
YHS-2	+	kok	-

### Elde Edilen İzolatın Biyokimyasal Test Sonuçları

Katalaz ve oksidaz testlerinde YHS-2 izolatının negatif sonuç verdiği tespit edilmiştir. Hemoliz testinde ise YHS-2 izolatı kanlı agar besiyerinde hemolitik zon oluşturmamıştır. Yine YHS-2 izolatı glikoz metabolizması sonucu metil kırmızısı besiyerinde renk değişimi meydana getirmemiştir. Glukoz fosfat peptonlu su ile yapılan Voges-Proskauer testi sonucuna göre ise; YHS-2 izolatında pembe renk değişimi gerçekleştiği için pozitif olarak değerlendirilmiştir. Simmon sitrat agara ekim yapılarak uygulanan sitrat test sonucunda, YHS-2 izolatı sitratı tek karbon kaynağı olarak kullanmadığı için yeşilden maviye renk değişimi gözlenmemiş ve negatif olarak belirlenmiştir. Üç şekerli demir agar testinde izolatın hidrojen sülfür oluşturmadığı gözlemlenmiştir (Tablo 2).

**Tablo 2.** Bakteriyel İzolatın Biyokimyasal Test Sonuçları

İzolat	Katalaz	Oksidaz	Hemoliz	MR	VP	Sitrat	TSI			H <sub>2</sub> S	TSA
							Glikoz	Laktoz-sakkaroz	Gaz		
YHS-2	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+

### Elde Edilen İzolatların Fizyolojik Test Sonuçları

YHS-2 izolatının %10'a kadar tuzu tolere ettiği ve farklı sıcaklıklarda üreme özelliği incelendiğinde ise YHS-2 izolatının 15-37°C aralığında büyüebildiği tespit edilmiştir (Tablo3).

**Tablo 3.** Bakteriyel İzolatın Fizyolojik Test Sonuçları

İzolat	%10 NaCl	%15 NaCl	15°C	37°C	45°C
YHS-2	+	-	+	+	-

### Sonuç

Bu çalışmada, *S. puncticollis* (Curculionidae: Entiminae) türünün sindirim kanalı çıkarılmış ve bakteriyel florası incelenmiştir. *S. puncticollis* türünün sindirim sisteminde, morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik testler sonucunda elde edilen YHS-2 izolatının; Gram pozitif, fakültatif anaerob, oval, hareketsiz ve sporsuz, nutrient agar ve kanlı agardaki kolonileri pigmentsiz, düz, pürüzsüz ve dairesel, 15-37°C sıcaklık aralığında büyüebildiği ve tuz toleransının %10 NaCl olduğu belirlenmiştir (Tablo1, Tablo2, Tablo3).

Dharne vd. (2006), mikrobiyal simbiyontların böceklerin sindirim kanalında bulunan patojenlerin yayılmasının kontrolünde ve dolayısıyla biyolojik mücadelede etkili olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir. Muratoğlu vd. (2009), patates böceği olan *Leptinotarsa*

---

*decemlineata* (Coleoptera: Crysomelidae)'dan yeni bir bakteri izole etmişler ve bu böceğin larvası üzerinde insektisidiyal etkisini test etmişlerdir. Elde edilen sonuçların (Ld4 izolatu) *L. decemlineata*'nın biyolojik kontrolünde etkili olabileceğini ifade etmişlerdir. Yine Muratoğlu vd. (2011), önemli bir ladin zararlısı olan *Ips typographus* (L.) türünden 8 bakteri izolatu (*Bacillus sphaericus*, *Acinetobacter* sp., *Kluyvera cryocrescens*, *Acinetobacter* sp., *Vagococcus* sp., *Acinetobacter* sp., *Proteus vulgaris* ve *Serratia liquefaciens*) elde etmişlerdir. İnsektisidiyal etki sonuçlarına göre en yüksek etkiyi gösteren *Serratia liquefaciens* bakterisinin *Ips typographus* türüne karşı biyolojik kontrol özelliğine sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Böceklerde sindirim sistemi, mikrobiyal koloniler ve bakteriler için önemli bir ortam olmasının yanısıra mikrobiyal toplulukları etkileyen çok farklı morfolojik ve fizikokimyasal faktörler içerdiği ifade edilmiştir. Böceklerin sindirim sisteminde yeralan bakteriler, onların immün sistemini parazit ve patojenlere karşı koruduğu ancak bu rollerinin henüz tam olarak bilinmediği belirtilmiştir (Engel ve Moran 2013).

Sonuç olarak; tarımsal ürünlerde zararlı olan organizma gruplarına karşı yapılan mücadele oldukça önem kazanmaktadır. Bu zararlılara karşı yapılan kimyasal (pestisitler vb.) mücadele yetersiz kalmakta ve etkin sonuç alınamamakta dolayısıyla bu gruplara karşı biyolojik mücadele ön plana çıkmaktadır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde son zamanlarda gerek dünyada ve gerekse ülkemizde biyolojik mücadele yöntemleri üzerinde durulduğu görülmektedir. Bu amaçla zararlıların sindirim sistemlerindeki bakteri floraları tespit edilmekte ve bu mikroorganizmaların özellikleri belirlenerek biyolojik kontrol konusunda stratejiler geliştirilmektedir. Bu çalışmada Curculionidae (Coleoptera) familyasından *S. puncticollis* (Curculionidae: Entiminae) türünün sindirim sistemindeki bakteri florası tespit edilmiş ve özellikleri belirlenmiştir. Böylelikle elde edilen verilerin bu zararlılara karşı yapılacak biyolojik mücadele konusunda önemli bir alt yapı oluşturacağı değerlendirilmektedir. Bu çalışmanın ileride bu tür ile ilgili yapılacak çalışmalara ışık tutacağı da düşünülmektedir.

### **Teşekkür**

- Bu çalışma Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi, No: Fen.4003/2.13.002, 201, 2013'lu proje ile desteklenmiştir.

- Bu çalışma Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri öğrencisi Yasemin ERBEY'in Yüksek Lisans Tezinin bir kısmından yararlanarak hazırlanmıştır.

### **Çıkar Çatışması**

Makalenin hiçbir yazarı için bilinen ya da olası bir çıkar çatışması yoktur.

### **Kaynaklar**

Adıguzel A, Ogutcu H, Baris O, Karadayi M, Gulluce M, Sahin F (2010). Genetic diversity of Rhizobium strains isolated from wild vetch collected from high altitudes in Erzurum-Turkey. Romanian Biotechnological Letters 15(1): 5017-5024.

---

Avgın S S ve Colonnelli E (2011). Curculionoidea (Coleoptera) from southern Turkey. African Journal of Biotechnology 10(62): 13555-13597.

Borror D J, Triplehorn CA, Johnson N F (1989). Introduction to the study of insects. Saund Coll Publi, Philadelphia, pp. 1-875.

Çelebi Ö (2012). *Eurygaster integriceps* (Put.) (Hemiptera: Scutelleridae)'in bakteriyal florasının ve mikrobiyal mücadele etmenlerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize.

Dharne M, Patole M, Shouche Y S (2006). Microbiology of the insect gut: tales from mosquitoes and bees. Journal of Bioscience 31: 293-295.

Engel P ve A N Moran (2013). The gut microbiota of insects – diversity in structure and function. Microbiology Reviews, pp. 669-735.

Lodos N, Önder F, Pehlivan E, Atalay R, Erkin E, Karsavuran Y, Tezcan S, Aksoy S (2003). Faunistic studies on Curculionidae (Coleoptera) of Western Black Sea, Central Anatolia and Mediterranean Regions of Turkey. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir, pp. 1-83.

Marvaldi A E ve A A Lanteri (2005). Key to higher taxa of south American weevils based on adult characters (Coleoptera: Curculionidea). Revis Chil His Nat 78: 65-87.

Mihajlova B (1978). Contribution to the study of fauna of snout beetles (Coleoptera: Curculionidae) of Macedonia. Fragmenta Balkanica 10 (14): 1-234.

Muratoğlu H, Sezen K, Demirbağ Z (2011). Determination and pathogenicity of the bacterial flora associated with the spruce bark beetle, *Ips typographus* (L.) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Turkish Journal of Biology 35: 9-20.

Muratoğlu M, Kati H, Demirbağ Z, Sezen K (2009). High insecticidal activity of *Leclercia adecarboxylata* isolated from *Leptinotarsa decemlineata* (Col.: Chrysomelidae). African Journal of Biotechnology 8(24): 7111-7115.

Orhan F (2013). Doğu Anadolu Bölgesi'ndeki tuzlu topraklardan izole edilen tuza dayanıklı bakterilerin moleküler karakterizasyonu. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Türkiye.

Ögütçü H, Kasımoğlu C, Elkoca E (2010). Influence of *Rhizobium* strains isolated from wild chickpeas on the growth and symbiotic performance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under salt stress. Turkish Journal of Agricultural Forest 34: 361-371.

Ögütçü H ve Algur, ÖF (2014). Yabani baklagil bitkilerinden, mikrobiyal gübre olarak kullanılan *Rhizobium* spp. bakterilerinin izolasyonu. Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi 2(4): 181-184.

Richards O W ve R G Davies (1977). General textbook of entomology. Tenth edition A Halsted Pres Book John Wiley and Sons, New York.

---

Ross A H (1963). The beetles of the United States. The Catholic University of America Washington D.C.

Temiz A (2010). Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri, Hatipođlu Yayıncılık, Ankara.

Tetik Z (2007). Tabanidae (İnsecta: Diptera) türlerinin sindirim sistemlerinden bakteri izolasyonu ve tanımlanması. Yüksek Lisans Tezi, Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.