

## *Xyleborinus saxesenii* (Coleoptera: Curculionidae)'den İzole Edilen Bakterilerin Tanımlanması

Hatice Katı<sup>1\*</sup>, Ahmet Katı<sup>2</sup>, Serpil Ugraş<sup>3</sup>, Hüseyin Yılmaz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Giresun Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Güre Yerleşkesi, Giresun

<sup>2</sup>Deterjan ve Kimya Teknolojileri Bölümü, Hayat Kimya Ar-Ge Merkezi, Başiskele, Kocaeli

<sup>3</sup>Düzce Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Düzce

Geliş Tarihi:21.02.2017

Kabul Tarihi:02.05.2017

\*Sorumlu Yazar:hatice.kati@giresun.edu.tr

### Özet

Yazıcı böceklerden, *Xyleborinus saxesenii* Ratzeburg (Coleoptera: Curculionidae) Doğu Karadeniz bölgesinde fındık bahçelerinde ciddi zararlara neden olmaktadır. Zararlı böceklere karşı biyolojik mücadele ajanı geliştirmek için böceklerden izole edilen bakteriler tanımlanmaktadır. Bu çalışmada, *X. saxesenii*'den izole edilen bakteriler morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal, yağ asit analizi ve moleküler olarak incelenmiştir. Sonuç olarak, bakteriler *Rahnella aquatilis* (Xs1), *Pseudomonas putida* (Xs2), *Sphingobacterium multivorum* (Xs3), *Serratia liquefaciens* (Xs4), *Aeromonas* sp. (Xs5), *Hafnia alvei* (Xs6, Xs7), *Acinetobacter calcoaceticus* (Xs8), *Pseudomonas* sp. (Xs9), *Pseudomonas fluorescens* (Xs10, Xs13), *Pantoea agglomerans* (Xs11) ve *Serratia marcescens* (Xs12) olarak tanımlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Gram (-) bakteri, fındık, zararlı, *Xyleborinus saxesenii*.

## Identification of Bacteria Isolated from *Xyleborinus saxesenii* (Coleoptera: Curculionidae)

### Abstract

Ambrosia beetles, *Xyleborinus saxesenii* Ratzeburg (Coleoptera: Curculionidae) causes serious damage in hazelnut orchards in the Eastern Blacksea Region. For developing biological control agents against harmful insects, it is identified bacteria isolated from insects. In this study, bacteria obtained from *X. saxesenii* were investigated as morphological, physiological, biochemical, fatty acid analysis and molecular. The identified bacteria included *Rahnella aquatilis* (Xs1), *Pseudomonas putida* (Xs2), *Sphingobacterium multivorum* (Xs3), *Serratia liquefaciens* (Xs4), *Aeromonas* sp. (Xs5), *Hafnia alvei* (Xs6, Xs7), *Acinetobacter calcoaceticus* (Xs8), *Pseudomonas* sp. (Xs9), *Pseudomonas fluorescens* (Xs10, Xs13), *Pantoea agglomerans* (Xs11) and *Serratia marcescens* (Xs12).

**Keywords:** Gram (-) bacteria, hazelnut, pest, *Xyleborinus saxesenii*.

## 1. Giriş

Fındık Doğu Karadeniz Bölgesi için önemli bir tarım ürünüdür. Fındık üreten ülkeler arasında ihracat bakımından ilk sırada yer almamıza rağmen, birim alandan alınan ürün miktarına göre diğer üretici ülkelerin gerisinde bulunmaktayız (Kılıç, 1994). Ülkemizde verimin düşük olmasının başlıca nedenlerinden biri fındık zararlısı böceklerle mücadelenin tam ve etkili bir şekilde yapılamamasıdır. Her yıl fındık üretiminde %30-40 kayıp oluşturan bu zararlılar ile mücadele büyük oranda kimyasallar ile yapılmaktadır. Bununla beraber kimyasal insektisitler sadece zararlı böceklerle değil aynı zamanda zararsız ve hatta faydalı böcekler ile diğer organizmalara da zarar vermektedir. Buna rağmen kimyasal insektisitler, ucuz ve geniş spektrumlu oldukları için diğer alternatiflerine oranla daha çok tercih edilmektedirler. Bununla beraber, dünyada kimyasal mücadelenin yerini gelecekte biyolojik mücadelenin alacağı tartışılmaktadır.

Biyolojik mücadele, böceklerin yapmış olduğu zararları en aza indirmek için bu böceklerin doğal düşmanlarını kullanma olarak tanımlanabilir. Doğal düşman terimi parazitler ve predatörlerle birlikte hastalık oluşturan organizmaları da kapsar. Ancak hastalık yapan organizmaların kullanımı, genellikle “mikrobiyal mücadele” olarak adlandırılır (Peter, 1984). Mikrobiyal mücadele içerisinde yer alan bakteriler, zararlı böceklerin çoğalmalarını engelleyebildiklerinden zirai mücadelede kullanılmaktadır. Böceklerden izole edilen bakterilerin biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılabilceğini gösteren pek çok çalışma mevcuttur (Sezen ve ark., 2005; 2008; İnce ve ark., 2008; Kati ve ark., 2009; Sevim ve ark., 2010; Muratoglu ve ark., 2011a).

Doğu Karadeniz bölgesinin en önemli tarım ürünlerinden biri olan fındıkta zarar yapan yaklaşık 150 böcek türü tespit edilmiştir. Bu türlerin sadece 10-15 tanesi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Isık ve ark., 1987). Yazıcı böcekler, bu grup böceklerin arasında önemli bir yer tutar (Ak ve ark., 2005a; 2005b; 2005c). Yazıcı böceklerden *Xyleborinus saxeseni* ilk kez Avrupa’da bulunmuştur. Daha sonra dünyaya buradan yayılmıştır (Wood ve Bright, 1992). Bu böcek ağaçların yapraklarında özellikle fındığın ölü kuru kısımlarında ve üreme ile ilgili bölgelerinde bulunmaktadır (Kurt, 1982; Selmi, 1998). *X. saxeseni* yaygın olarak Giresun, Ordu ve Samsun illerindeki fındık bahçelerinde görülmüştür (Kurt, 1982; Selmi, 1998). Bu böcek grubu üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır (Sezen ve Demirbağ, 1999; Yılmaz ve ark., 2006).

Bu çalışmada, fındıkta zararlara neden olan *X. saxeseni* böceğinden izole edilen bakteriler morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal, yağ asit analizi ve moleküler teknikler kullanılarak tanımlanmıştır.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Böceklerin Toplanması

Bu çalışma için gerekli olan *X. saxesenii* larva ve erginleri, Haziran-Temmuz 2008 tarihleri arasında, Giresun ili, Yağlıdere ilçesi, Umutbükü köyünden toplanmıştır. Bu böcekler Dr. Kibar AK (Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Samsun) tarafından tanımlanmıştır.

### 2.2. Bakteri İzolasyonu

Laboratuvara getirilen ergin ve sağlıklı böceklerden her denemede bir birey kullanılmak üzere, toplam 14 böceğin % 70'lik alkol ile yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Daha sonra steril saf su ile alkolden arındırılmıştır (Lipa ve Wiland, 1972). Yüzey sterilizasyonu yapılan böcekler, homojenizatöre alınarak 200 µL Nutrient Broth (NB) içerisinde ezilerek ekstrakt hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstraktlar süzülüş, seyreltmeler yapılmış ve seyreltiklerden 100 µL alınarak Nutrient Agar (NA) besiyerine yayma ekim yapılmıştır. Daha sonra ekim yapılan petripler 30 °C'ye ayarlı etüvde 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından farklı koloni renk ve morfolojilerine göre bakteriyel izolatlar seçilmiştir. Seçilen bakteriyel izolatlar daha sonra tanımlanmak üzere %20'lik steril gliserol içerisinde -20 °C stoklanmıştır ((Yılmaz ve ark., 2006).

### 2.3. Bakteriyel İzolatların Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

Elde edilen izolatların hücre şekillerinin belirlenmesi amacıyla ilk olarak basit boyama yapılmıştır (Benson,1985). Gram özelliğini belirlemek için Gram boyama yapılmıştır (Claus, 1992). İzolatların endospor oluşturup oluşturmadığı ve varsa endosporun hücre içerisindeki pozisyonunu belirlemek amacıyla endospor boyaması yapılmıştır. İzolatların sülfid indol hareketlilik (SIM) besiyerine ekimleri yapılarak hareketli olup olmadıkları belirlenmiştir.

### 2.4. Bakteriyel İzolatların Fizyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

İzolatların optimum büyüme sıcaklıklarının belirlenmesi amacıyla izolatlar NB besiyeri içine ekim yapılarak 25, 30 ve 40 °C'ye ayarlı su banyolarında 16-24 saat inkübe edildikten sonra spektrofotometrede (OD<sub>600</sub> nm) ölçüm yapılarak izolatların büyüme oranları tespit edilmiştir.

İzolatların büyüebildiği pH aralıklarının belirlenmesi için izolatlar farklı pH değerlerine (3, 5, 7, 9 ve 10) sahip NB besiyerine inoküle edilmişler ve 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası büyüme olup olmadığına spektrofotometrede (OD<sub>600</sub> nm) ölçümler yapılarak karar verilmiştir.

İzolatların NaCl toleranslarının belirlenmesi amacıyla % 2, 3, 4, 5, 7, 10, 12 ve 15 oranında NaCl eklenmiş NB besiyerleri hazırlanmıştır. Bu besiyerlerinden 4'er ml deney tüplerine alınarak her bir izolattan ekim yapılmıştır. 14 gün boyunca uygun sıcaklığa ayarlı etüvde inkübe edilmişlerdir. Üreme olan ve olmayan tüpler belirlenerek, İzolatların hangi oranda tuzu tolere edebildiklerine karar verilmiştir (Cappuccino ve Sherman, 1992).

## **2.5. Bakteriye İzolatların Biyokimyasal Özelliklerinin VITEK 2 ile Belirlenmesi**

İzolatlar Luria Bertani Agar (LBA) besiyerine ekim yapılarak bir gecelik inkübasyon sonrası VITEK 2 cihazı ile biyokimyasal özellikleri belirlenmiştir.

## **2.6. Bakteriye İzolatların Yağ Asidi Profillerinin Mikrobiyal İdentifikasyon Sistemi (MIS) Kullanılarak Belirlenmesi**

Saf kültür olarak -20 °C'de muhafaza edilen izolatların yağ asidi metil ester ekstraksiyonu (FAME), izolasyonu, saflaştırması ve analizi yapılmıştır (Sasser, 1990). Bilgisayar kontrollü gaz kromatografi sistemi olan Mikrobiyal İdentifikasyon Sistemi (MIS) kullanılarak kültüre alınan örneklerin tür seviyesinde tanısı Prof. Dr. Fikretin Şahin ve Uzman İsmail Demir (Yeditepe Üniversitesi) kontrolü altında gerçekleştirilmiştir.

## **2.7. Bakteriye İzolatların Moleküler Özelliklerinin Belirlenmesi**

Genomik DNA'nın izolasyonu, Sambrook ve arkadaşları (1989) tarafından geliştirilen yöntemle yapılmıştır. İzolatların 16S rDNA gen dizi analizlerinin yapılabilmesi için primerler (İleri, 5'-ATT CTA GAG TTT GAT CAT GGC TCA-3'; Geri, 5'-ATG GTA CCG TGT GAC GGG CGG TGT GTA-3') kullanılarak PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yapılmıştır (Brosius ve ark., 1978). PCR tüpüne, 2,5 ünite GoTaq DNA polimeraz (Promega), 5 µl 5x PCR tamponu (10 mM Tris-HCl, pH 8,3), 3 µl 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1,5 µl 1mM ileri primeri, 1,5 µl 1mM geri primeri, 1 µl 10 mM dNTP'den ve 1 µl genomik DNA bırakılarak steril dH<sub>2</sub>O ile 50 µl'ye tamamlanmıştır. PCR şartları; ilk denatürasyon 95 °C'de 2 dakika, 36 döngü için her döngüde 94 °C'de 1 dakika, 50 °C'de 1 dakika, 72 °C'de 2 dakika, son döngüden sonra 72 °C'de 5 dakikada gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri Macrogen firmasına (Wageningen, Hollanda) gönderilerek dizi analizi yapılmıştır.

Dizi analizi sonucunda elde edilen 16S rDNA gen bölgesi GenBank’asında bulunan diğer 16S rDNA gen bölgeleri ile NCBI web adresindeki Blast (basic local alignment search tool) programı kullanılarak karşılaştırması yapılmıştır (Altschul ve ark., 1990).

### 3. Bulgular ve Tartışma

Fındık, tarımsal gelir ve sağladığı ihracat bakımından Türkiye’nin stratejik ürünlerinden biridir. Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi, Türkiye fındık üretiminin önemli bir kısmını sağlamaktadır. Türkiye’de fındık bahçelerinde verimi düşüren birçok faktör vardır. Bu faktörlerden biri de fındık bahçelerinde bulunan zararlı böceklerdir. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de zararlı böceklerin kontrolünde çeşitli kimyasallar kullanılmaktadır. Özellikle son yıllarda kimyasal mücadelenin olumsuz yönlerinin ortaya çıkarılmasının ardından, tüm dünyada biyolojik mücadele uygulamalarına başlanmıştır.

Biyolojik mücadele ajanı olarak bakterilerin kullanılabilme potansiyelini araştırmak için böceklerden izole edilen bakteriyel izolatlar tanımlanmaktadır. Bu amaçla bu çalışmada fındık ve diğer tarım ürünlerinde önemli zararlar yapan *X.saxesenii* böceğinden izole edilen bakterilerin tanımlanması amaçlanmıştır. Morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal, yağ asit analizi ve moleküler çalışmalar değerlendirildiğinde *X.saxesenii*’den 13 bakteriyel izolat tanımlanmıştır.

Gram boyama sonucunda izole edilen tüm izolatların tamamının Gram (-) olduğu tespit edilmiştir. Tablo 1’de görüldüğü gibi Xs1, Xs4, Xs6, Xs7, Xs8, Xs10, Xs12 ve Xs13 numaralı izolatların krem renkli koloni oluşturdukları, Xs2 ve Xs11 numaralı izolatların sarı renkte koloni oluşturdukları ve Xs3, Xs5 ve Xs9 numaralı izolatların saydam renkte koloniler oluşturdukları belirlenmiştir. Bir izolat (Xs1) hariç diğerlerinin hareketli olduğu bulunmuştur.

**Tablo 1.** *X. saxesenii* böceğinden izole edilen Gram (-) bakterilerin morfolojik özellikleri.

İzolatlar	Koloni Rengi	Koloni Şekli	Hareketlilik
Xs1	Krem	Yuvarlak	-
Xs2	Sarı	Yuvarlak	+
Xs3	Saydam	Yuvarlak	+
Xs4	Krem	Yuvarlak	+
Xs5	Saydam	Yuvarlak	+
Xs6	Krem	Yuvarlak	+
Xs7	Krem	Yuvarlak	+
Xs8	Krem	Dalgalı	+
Xs9	Saydam	Yuvarlak	+
Xs10	Krem	Yuvarlak	+
Xs11	Sarı	Yuvarlak	+
Xs12	Krem	Yuvarlak	+
Xs13	Krem	Yuvarlak	+

İzolatların fizyolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla pH, sıcaklık, NaCl’e karşı tolerans özellikleri araştırılmıştır (Tablo 2). Buna göre pH tolerans testleri sonucunda; pH’sı 3 olan

besiyerinde hiçbir izolatın büyümediği; pH 5-10'da tüm izolatlar farklı oranlarda büyüdüğü tespit edilmiştir. NaCl'e karşı tolerans testleri sonucunda; %10 ve üzeri NaCl konsantrasyonlarına karşı tüm izolatların duyarlı olduğu belirlenmiştir. Xs5 ve Xs10 izolatlarının %7'lik NaCl konsantrasyonunda, Xs13 izolatının %5 NaCl konsantrasyonunda büyümedikleri bulunmuştur. Sıcaklık tolerans testleri sonucunda; 25 °C ve 30 °C'de tüm izolatların büyüebildiği 40 °C ise Xs5 ve Xs13 izolatların büyüebildiği, diğerlerinin büyümediği tespit edilmiştir.

**Tablo 2.** *X. saxesenii* böceğinden izole edilen Gram (-) bakterilerin fizyolojik özellikleri.

Deneyleler	İzolat Numarası												
	Xs1	Xs2	Xs3	Xs4	Xs5	Xs6	Xs7	Xs8	Xs9	Xs10	Xs11	Xs12	Xs13
pH 3'de büyüme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH 5'de büyüme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 7'de büyüme	++	+++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	+
pH 9'de büyüme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 10'de büyüme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kontrol (NB)	++	++	+	+++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
NB+ 2% NaCl'de büyüme	+	+	+	++	+	++	++	++	++	+	+	+++	+
NB+ 3% NaCl'de büyüme	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	++	+
NB+ 4% NaCl'de büyüme	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NB+ 5% NaCl'de büyüme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
NB+ 7% NaCl'de büyüme	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-
NB+ 10% NaCl'de büyüme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25°C'de büyüme	++	++	+	+	++	+	+	+	++	+	+	+	++
30°C'de büyüme	+	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	++	++
40°C'de büyüme	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+

+++;Güçlü büyüme , ++;iyi büyüme, +: Zayıf Büyüme , -: Büyüme Yok.

İzolatların biyokimyasal özelliklerini tespit etmek ve bu sayede tanımlama yapabilmek için VITEK 2 cihazı kullanılmıştır. Tablo 3'te izolatların biyokimyasal özellikleri verilmiştir. İzolatların VITEK 2 cihazına göre benzediği bakteriler Tablo 5'de verilmiştir.

**Tablo 3.** *X. saxesenii* böceğinden izole edilen Gram (-) bakterilerin VITEK'e göre biyokimyasal özellikleri.

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

Testler	İzolat Numarası												
	Xs1	Xs2	Xs3	Xs4	Xs5	Xs6	Xs7	Xs8	Xs9	Xs10	Xs11	Xs12	Xs13
Ala-Phe-Pro-Arilamidaz	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Adonitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
L-Pirolidonil-Arilamidaz	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
L-Arabitol	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
D- Selobiyoz	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Beta-Galaktosidaz	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-

H <sub>2</sub> S Oluşumu	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Beta-N-Asetil-Glukozaminidaz	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
Glutamil Arilamidaz pNA	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Glikoz	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gama-Glutamil-Transferaz	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Fermentation/Glikoz	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-
Beta-Glikosidaz	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-
D-Maltoz	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-
D-Mannitol	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-
D-Mannoz	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Beta-Ksilosidaz	(+)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Beta-Alanin	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
L-Prolin Arilamidaz	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+
Lipaz	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Palatinoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tirozin Arilamidaz	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ureaz	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Sorbitol	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sakkaroz/Sükroz	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-
D-Tagatoz	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
D-Trehaloz	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
Sitrat (Sodyum)	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-
Malonat	+	(-)	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-
5-Keto-D-Glukonat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Laktat alkalileşmesi	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
Alfa-Glukosidaz	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Sükkinat alkalileşmesi	+	+	-	-	+	+	+	+	(-)	-	+	-	-
Beta-N-Asetil-Galaktosaminidaz	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Alfa-Galaktosidaz	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fosfataz	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+
Glisin Arilamidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Ornitin Dekarboksilaz	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Lizin Dekarboksilaz	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-
L-Histidin assimilasyon	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kurmarat	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-
Beta-Glukuronidaz	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
O/129 Direnci (comp.vibrio.)	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-
Glu-Gli-Arg-Arilamidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
L-Malat assimilasyonu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ellman	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
L-Laktat assimilasyonu	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

İzolatların hücresel yağ asidi profilleri sistem bünyesinde bulunan elektronik kütüphaneye (Microbial Identification System-Library Generation Software) karşılaştırılarak, izolatların toplam hücresel yağ asidi profillerine göre tanısı yapılmıştır. İzolatların hücresel yağ asidi profilleri Tablo 4’de verilmiş olup yağ asidi analizi sonucuna göre benzer olduğu bakteriler tablo 5’de verilmiştir.

**Tablo 4.** *X. saxesenii* böceğinden izole edilen Gram (-) bakterilerin bazı yağ asit profilleri.

Yağ Asitleri	İzolat Numarası												
	Xs1	Xs2	Xs3	Xs4	Xs5	Xs6	Xs7	Xs8	Xs9	Xs10	Xs11	Xs12	Xs13
Doymuş													
16:0	33.96	26.73		34.06	20.52	33.71	30.55	18.26	31.07	34.35	29.93	33.87	31.88
Doymamış													
18:1 ω 9c								36.52					
Dallı													
15:0iso			24.97										
CycCyclo													
17:0cyclo	28.29			19.36		18.63	21.78		14.08	10.40	12.01	19.85	16.47
SummedFeature 2									8.86				
SummedFeature 3		35.13	45.27	15.16	39.42	16.83	14.69	18.82	26.12	25.21	22.83	11.75	16.11
SummedFeature 8		10.80			9.74	8.55	9.39			13.24	14.57	9.62	11.46

16:0; palmitik asit, 18:1; oleik asit, 15:0; pentadesilik asit, 17:0; Heptadekanoik asit, Summed Feature; çözülmemiş yağ asitleri

*X.saxesenii* böceğinden izole edilen bakterilerin 16S rDNA gen bölgeleri, PCR'ile çoğaltılmış ve yaklaşık 1400 bp uzunluğunda oldukları bulunmuştur. İzolatların 16S rDNA bölgelerinin baz sıra tayini MacroGen firması tarafından yapıldıktan sonra NCBI Blast programı kullanılarak GenBank'da bulunan bakteriler ile benzerlikleri tespit edilmiştir (Tablo 5).

VITEK 2 ve 16S rDNA gen dizi analizi sonuçlarına göre, Xs1 izolatu sırasıyla %97 ve %99 oranları ile *Rahnella aquatilis* bakterisine benzemektedir. *Rahnella*, Enterobacteriaceae familyasına ait bir cinistir ve farklı ortamlardan izole edilmiştir (Berge ve ark., 1991; Heulin ve ark., 1994; Hashidoko ve ark., 2002; Cankar ve ark., 2005; Lindow ve ark., 1998; Niemi ve ark., 2001; Brenner ve ark., 1998). *Rahnella aquatilis* böcek zararlılardan da izole edilmiştir (Sevim ve ark., 2012; Lacey ve ark., 2007). *Rahnella* suşlarında lizin ve ornitin dekarboksilaz negatiftir. Aynı zamanda bu bakterinin sarı renkli pigment üretmediği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar Farmer ve arkadaşlarının (1985) yapmış oldukları çalışmadaki sonuçlar ile uyumludur.

Xs2 izolatu VITEK 2, yağ asit analizi ve 16S rDNA gen dizi sonuçlarına göre *Pseudomonas putida* olarak tanımlanmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda bu bakteri, *Agrotis segetum* (Lepidoptera: Noctuidae) (Sevim ve ark., 2010), *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) (Muratoglu ve ark., 2011b) ve *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae)'dan da (Yılmaz ve ark., 2006) izole edilmiştir. *Pseudomonas putida*, saprofit bir toprak bakterisidir. Ksenobiyotik ve biyogenik kirleticileri degrede ederek element döngüsünü sağlayabilmeleri, çevresel açıdan önemlerini arttırmaktadır (Timmis, 2002).



**Tablo 5.** *X. saxesenii* bÖceğinden izole edilen Gram (-) bakterilerin VİTEK 2, yağ asidi analizi ve moleküler tanımlama sonucu benzediğı bakteriler.

İzolot numarası	Yağ Asit Analiz Sonuçları	Benzerlik(%)	VİTEK 2 sonuçları	Benzerlik(%)	16S rRNA gen ssekans analiz sonuçları	GenBank Erişim No.	Benzerlik(%)
Xs1	<i>Ewingella americana</i>	70,4	<i>Rahnella aquatilis</i>	97	<i>Rahnella aquatilis</i>	DQ862542	99
	<i>Serratia plymuthica</i>	57,2			<i>Tiedjeia arctica</i>	DQ107523	98
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	54,8			<i>Ewingella americana</i>	AB273745	98
	<i>Pantoea agglomerans</i>	51,7			<i>Serratia grimesii</i>	DQ086780	99
Xs2	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	90,9	<i>Pseudomonas putida</i>	99	<i>Pseudomonas putida</i>	X93997	100
	<i>Pseudomonas putida</i>	87,4			<i>P. metavorans</i>	AB302395	97
	<i>P. syringae phaseolicola</i>	84,9					
	<i>Pseudomonas savastanoi fraxinus</i>	65,8					
Xs3	<i>Sphingobacterium faecium</i>	74,7	<i>S. multivorum</i>	91	<i>S. siyangensis</i>	EU373423	97
	<i>Sphingobacterium multivorum</i>	72,6			<i>S. multivorum</i>	EU075194	98
	<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>	58,3					
Xs4	<i>Rahnella aquatilis</i>	81,3	<i>Serratia liquefaciens</i>	95	<i>Serratia proteamaculans</i>	NR_037112	99
	<i>Serratia plymuthica</i>	66,9			<i>S. grimesii</i>	NR_025340	98
	<i>Hafnia alvei</i>	60,5			<i>S. liquefaciens</i>	DQ123840	98
	<i>Cedecea davisae</i>	55,1			<i>Erwinia amylovora</i>	GQ222272	99
	<i>Pantoea agglomerans</i>	53,3			<i>S. plymuthica</i>	EU344964	98
	<i>Serratia liquefaciens</i>	50,3					
Xs5	<i>A. ichthiosmia A/hydrophila</i>	82	<i>A. hydrophila</i>	99	<i>A. salmonicida</i>	FJ936134	99
	<i>Aeromonas veronii</i>	72,4			<i>Aeromonas bestiarum</i>	NR_026089	99
	<i>Aeromonas jandaei</i>	56,3			<i>Aeromonas piscicola</i>	HQ832417	99
	<i>A. hydrophila/ichthiosmia A/sobria</i>	51,9			<i>Pasteurella multocida</i>	EU918692	99
					<i>Aeromonas molluscorum</i>	NR_025807	99
					<i>Aeromonas encheleia</i>	HQ832414	99
					<i>Aeromonas rivuli</i>	FJ976900	99

Xs6	<i>Rahnella aquatilis</i>	83,6	<i>Hafnia alvei</i>	95	<i>Hafnia alvei</i>	AB519795	99
	<i>Hafnia alvei</i>	82,1			<i>Obesumbacterium proteus</i>	FJ267522	99
	<i>Serratia plymuthica</i>	75,6					
	<i>Serratia liquefaciens</i>	55					
Xs7	<i>Serratia plymuthica</i>	74,2	<i>Hafnia alvei</i>	89	<i>Hafnia alvei</i>	AB519795	99
	<i>Rahnella aquatilis</i>	61,7			<i>O. proteus</i>	NR_025334	99
	<i>S. typhimurium</i> -GC subgroup B	61,0					
	<i>Pantoea agglomerans</i>	54,1					
	<i>Hafnia alvei</i>	52,2					
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	50,1					
Xs8	<i>Acinetobacter baumannii</i>	72,3	<i>Acinetobacter baumannia</i>	99	<i>A. calcoaceticus</i>	AM157426	100
	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	68,2			<i>A. rhizosphaerae</i>	AM921638	99
	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	66,4					
Xs9	<i>Salmonella typhimurium</i>	53,1	<i>Serratia fonticola</i>	98	<i>P. syringae</i> pv. <i>glycinea</i>	AB001443	99
	<i>Serratia fonticola</i>	52,3			<i>Pseudomonas congelans</i>	AJ492828	99
					<i>Pseudomonas tremae</i>	AJ492826	99
					<i>Pseudomonas mandelii</i>	FN811901	99
					<i>Pseudomonas cannabina</i>	AJ492827	99
					<i>P. frederiksbergensis</i>	HQ242750	98
					<i>Pseudomonas fluorescens</i>	AF094726	98
					<i>Pseudomonas congelans</i>	NR_028985	99
					<i>Pseudomonas mandelii</i>	NR_024902	98
Xs10	<i>Pseudomonas putida</i>	63,4	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	99	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	EF528294	99
					<i>Pseudomonas migulae</i>	EU111725	99
					<i>Pseudomonas collierea</i>	AM421016	99
					<i>Pseudomonas brenneri</i>	AM933521	99
Xs11	<i>Pantoea agglomerans</i>	81,7	<i>Pantoea agglomerans</i>	98	<i>Pantoea agglomerans</i>	FJ756354	99

	<i>Raoultella terrigena</i>	74,5			<i>Pantoea conspicua</i>	HQ242738	99
	<i>Kluyvera cryocrescens</i>	66			<i>Pantoea ananatis</i>	AF364847	99
	<i>Salmonella typhimurium</i>	65,3			<i>Erwinia herbicola</i>	U80202	99
	<i>Pantoea agglomerans</i>	59			<i>P. stewartii</i> subsp. <i>stewartii</i>	AF373198	98
	<i>Cedecea davisae</i>	58,1			<i>Pantoea eucalypti</i>	FM202486	98
	<i>Yersinia frederiksenii</i>	56,9					
	<i>Citrobacter freundii</i>	53,7					
	<i>Serratia liquefaciens</i>	52,9					
	<i>Rahnella aquatilis</i>	52,4					
Xs12	<i>Serratia plymuthica</i>	69,5	<i>Serratia marcescens</i>	99	<i>Serratia marcescens</i>	HM136580	99
	<i>Cedecea davisae</i>	67,3			<i>Serratia nematodiphila</i>	EU914257	99
	<i>Rahnella aquatilis</i>	57,1			<i>Pseudomonas fluorescens</i>	DQ439976	99
Xs13	<i>Pantoea agglomerans</i>	61,0	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	99	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	EF528294	99
	<i>Cedecea davisae</i>	55,2			<i>Pseudomonas brenneri</i>	FN393787	99
	<i>Serratia liquefaciens</i>	52,7			<i>Pseudomonas tolaasii</i>	AF320989	99
					<i>Pseudomonas panacis</i>	AY787208	98

Yakın zamanda yapılan çalışmalarla bu bakterinin tüm genom sekansı belirlenmiştir (Nelson vd., 2002). Bilinen bir bitki patojeni olmasına rağmen, böcekler üzerindeki patojenik etkisi tartışma konusudur (Bucher, 1981; Sneath, 1986). Literatürde *Euproctis chrysorrhoea* (Steinhaus, 1963) ve *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae) (Ivanov ve Gukasyan, 1966) üzerinde patojenik etkisi olduğu bildirilmiştir.

Xs3 izolatu, *Sphingobacterium multivorum* olarak tanımlanmıştır. VITEK 2, yağ asit analiz ve 16S rDNA gen dizi çalışmaları sonucunda sırasıyla %91, %72,6 ve %98 oranlarıyla bu bakteriye benzediği bulundu. Bu bakteri kene türlerinden de izole edilmiştir (Murrell ve ark., 2003).

Xs4 izolatu VITEK 2, yağ asit analizi ve 16S rDNA gen dizi sonuçlarına göre *Serratia liquefaciens* bakterisine benzemektedir. Bu bakteri su, bitki, böcek, yiyecek gibi farklı ortamlardan izole edilmiştir (Farmer ve ark., 1985). *Serratia* cinsi içerisinde yer alan türler böceklerde oldukça yaygındır (O'Callaghan ve Jackson, 1993; Martinez vd., 1994; Klein ve Kaya, 1995; Sikorowski ve Lawrence, 1998; Sezen ve Demirbağ, 1999; Jackson vd., 2001; Kuzina vd., 2001; Osborn vd., 2002; Jeyaprakash vd., 2003).

VITEK 2, yağ asit analizi ve 16S rDNA gen dizi çalışmaları Xs5 izolatu *Aeromonas* sp. olduğunu göstermiştir. Bazı çalışmalarda *Aeromonas* sp. ev sineklerinden de izole edilmiştir (Gray ve ark., 1990; Nayduch ve ark., 2001; Rahuma ve ark., 2005; Gupta ve ark., 2012).

VITEK 2, yağ asit analizi ve 16S rDNA gen dizi analizi sonuçları Xs6 ve Xs7 izolatların *Hafnia alvei* olduğunu göstermiştir. Prado ve arkadaşları (2002) ve Lyapunov ve arkadaşları (2008) *H. alvei*'nin sırasıyla hamam böceği (*Periplaneta americana*) ve arılar (*Apis mellifera mellifera*L.)'dan izole edildiğini rapor etmişlerdir.

Xs8 izolatu *Acinetobacter* sp. olarak tanımlanmıştır. *Acinetobacter* sp., daha önceki çalışmalarda, *Oberea linearis* (Bahar ve Demirbağ, 2007), ve *Melolontha melolontha* (Sezen ve ark., 2007a) gibi önemli fındık zararlılarından da izole edilmiştir. 16S rDNA gen dizi analizi sonuçlarına göre Xs8 izolatu %100 *A. calcoaceticus* benzemektedir. Pidiyar ve arkadaşları (2004) sivri sinekler ile Sevim ve arkadaşları (2010) sebzelerde zararlara neden olan bozkurtlar üzerine yaptıkları çalışmalarda *A. calcoaceticus* bulmuşlardır. Bu bakteri çoğunlukla su ve topraktan izole edilmektedir. Aynı zamanda klinik örneklerden de izole edilmiştir (Bouvet ve Grimont, 1986).

Xs9 izolatu 16S rDNA gen dizi analizi sonuçlarına *Pseudomonas* cinsine aittir. *Pseudomonas* türleri birçok böcekten izole edilmiştir (Erturk ve Demirbağ, 2006; Sezen ve ark., 2007a, 2007b; Bahar ve Demirbağ, 2007).

VITEK 2 ve 16S rDNA gen dizi analizi sonuçları Xs10 ve Xs13 izolatlarının %99 oranında *Pseudomonas fluorescens* bakterisine benzemektedir. *P. fluorescens* birçok çalışmada bulunmuştur (Sezen ve ark., 2004; Yamoah ve ark., 2008; Sezen ve ark., 2008).

Xs11 izolatu VITEK 2, yağ asit analizi ve 16S rDNA gen dizi sonuçlarına göre *Pantoea agglomerans* bakterisine benzemektedir. Bu bakterilerin koloni rengi sarı renklidir. D-mannitol, D-mannoz ve trehalozdan asit ürettiği bulunmuştur. Bu bakteri insan ve hayvanlardan da izole edilmiştir (Gavini ve ark., 1989).

VITEK 2 ve 16S rDNA gen dizi analizi sonuçları Xs12 izolatının %99 *Serratia marcescens* bakterisine benzediğini göstermiştir. *S. marcescens* birçok böcekten izole edilmiştir (Sezen ve Demirbağ, 1999; Bahar ve Demirbağ, 2007; Gökce ve ark., 2010). *S. marcescens*'in daha önce yapılan bir çalışmada yazıcı böceklerden *Dendroctonus frontalis* (Coleoptera: Scolytidae)'i enfekte ettiği tespit edilmiştir (Sikorowski ve Lawrence, 1998). Ayrıca bu bakteri *Balaninus nucum*'dan izole edilmiş ve aynı konak üzerinde üç gün içinde %100 insektisidal etki gösterdiği belirlenmiştir (Sezen ve Demirbağ, 1999). Bununla birlikte bu izolatın ülkemiz fındık ekim alanlarında zarar yapan 9 farklı böceğe karşı insektisidal etkileri çalışılmış ve bu böceklerden 8'i üzerinde %55 ve üstünde insektisidal etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir (Sezen ve ark., 2001).

#### 4. Sonuçlar ve Öneriler

Bu çalışmada, Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki fındık bahçelerinde önemli ölçüde zarar yapan *X. saxesenii* böceğinden izole edilen bakteriler tanımlanmıştır. Çalışma sonucunda izole edilen 13 izolatın 11 farklı bakteri türüne ait olduğu tespit edilmiştir. Literatüre bakıldığında, izole edilen bazı bakterilerin, farklı böcek türleri üzerinde yüksek insektisidal etkiye sahip oldukları görülmüştür. İleriki çalışmalarda bu bakteriyel izolatların *X. saxesenii* ve diğer böcek zararlıları üzerindeki virülansları tespit edilerek, biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılma potansiyelleri ortaya koyulacaktır.

#### Teşekkür

Bu çalışma Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Birimi tarafından desteklenmiştir (FEN-BAP-270409-03). FAME analiz çalışmaları için Prof. Dr. Fikrettin Şahin ve İsmail Demir'e, VITEK 2 cihazı ile ilgili çalışmalar için Canan Türker ve böceklerin tanımlanması için Dr. Kibar Ak'a teşekkür ederiz.

## Kaynaklar

- Ak, K., Uysal, M., and Tuncer, C. (2005a). Bark Beetle (Coleoptera: Scolytidae) species which are harmful in hazelnut orchards, their short biology and densities in Giresun, Ordu and Samsun provinces of Turkey. *Journal of Agricultural Faculty of Ondokuz Mayıs University*, 20, 37-44.
- Ak, K., Uysal, M., and Tuncer, C. (2005b). The injury level of Bark Beetles (Coleoptera: Scolytidae) in hazelnut orchards in Giresun, Ordu and Samsun provinces of Turkey. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpaşa University*, 22, 9-14.
- Ak, K., Uysal, M., Tuncer, C., and Akyol., H. (2005c). Bark beetle species (Col.: Scolytidae) harmful on hazelnut In Middle and East Black Sea Region of Turkey and their control strategies. *Journal of Agricultural Faculty, Selcuk University*, 19, 37-39.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., and Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215, 403-410.
- Bahar, A. A., and Demirbağ, Z. (2007). Isolation of pathogenic bacteria from *Oberea linearis* (Coleoptera: Cerambycidae). *Biologia*, 62, 13-18.
- Benson, H. J. (1985) *Microbiological Applications a laboratory manual in general Microbiology*. W.C. Brown publishers.
- Berge, O., Heulin, T., Achouak, W., Richard, C., Bally, R., and Balandreau, J. (1991). *Rahnella aquatilis*, a nitrogen-fixing enteric bacterium associated with the rhizosphere of wheat and maize. *Canadian Journal of Microbiology*, 37, 195-203.
- Bouvet, P. J. M., and Grimont, P. A. D. (1986). Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov., *Acinetobacter hemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. nov., and *Acinetobacter junii* sp. nov. and emended descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 36, 228-240.
- Brenner, D.J., Müller, H.E., Steigerwalt, A.G., Whitney, A.M., O'Hara, C.M., and Kämpfer, P. (1998). Two new *Rahnella* genomospecies that cannot be phenotypically differentiated from *Rahnella aquatilis*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 48, 141-149.
- Brosius, J., Palmer, M. L., Kennedy, P. J., and Noller, H. F. (1978). Complete nucleotide sequence of a 16S ribosomal RNA gene from *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 75, 4801-4805.
- Bucher, G. E. (1981). *Microbial Control of Pests and Plant Diseases, 1970-1980*. Burges H. D. (Ed.), pp. 7-33, Academic Press, New York.
- Cankar, K., Kraigher, H., Ravnkar, M., and Rupnik, M. (2005). Bacterial endophytes from seeds of Norway spruce (*Picea abies* L. Karst). *FEMS Microbiology Letters*, 244, 341-345.
- Cappuccino, J. G., and Sherran, N. (1992). *Microbiology, a Laboratory Manual* (3rd ed.). Rockland Community College, Suffern, New York.
- Claus, M.A. (1992). Standardized Gram staining procedure. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 8, 451-452.
- Erturk, O., and Demirbağ, Z. (2006). Studies on bacterial flora and biological control Agent of *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). *African Journal of Biotechnology*, 5, 2081-2085.
- Farmer, 3rd., J.J., Davis, B. R., Hickman-Brenner, F.W., and et al. (1985). Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 21, 46-76.
- Gavini, F., Mergaert, J., Christine, B.A., Mielcarek, C., Izard, D., Kersters, K., and Ley. J. (1989). Transfer of *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck 1888) Ewing and Fife 1972 to *Pantoea* gen. nov. as *Pantoea agglomerans* comb. nov. and description of *Pantoea dispersa* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 39, 337-345.
- Gokce, C., Sevim, A., Demirbag Z., and Demir, I. (2010). Isolation, characterization and pathogenicity of bacteria from *Rhynchites bacchus* (Coleoptera: Rhynchitidae). *Biocontrol Science and Technology*, 20, 973-982.
- Gray, S.J., Stickler, D. J., and Bryant, T.N. (1990). The incidence of virulence factors in mesophilic *Aeromonas* species isolated from farm animals and their environment. *Epidemiology and Infection*, 105, 277-294.
- Gupta, A.K., Nayduch, D., Verma, P., Shah, B., Ghate, H.V., Patole, M.S., and Shouche, Y.S. (2012). Phylogenetic characterization of bacteria in the gut of house flies (*Musca domestica* L.). *FEMS Microbiology Ecology*, 79, 581-593.

- Hashidoko, Y., Itoh, E., Yokota, K., Yoshida, T., and Tahara, S. (2002). Characterization of five phyllosphere bacteria isolated from *Rosa rugosa* leaves, and their phenotypic and metabolic properties. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 66, 2474-2478.
- Heulin, T., Berge, O., Mavingui, P., Gouzou, L., Hebbar K.P., and Balandreau, J. (1994). *Bacillus polymyxa* and *Rahnella aquatilis*, the dominant N<sub>2</sub>-fixing bacteria associated with wheat rhizosphere in French soils. *European Journal of Soil Biology*, 30, 35-42.
- Ince, I.A., Kati, H., Yılmaz, H., Demir, I., and Demirbağ, Z. (2008). Isolation and identification of bacteria from *Thaumetopoea pityocampa* Den. and Schiff. (Lep., Thaumetopoeidae) and determination of their biocontrol potential. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 3005-3015.
- Isik, U. M., Ecevit, O., Kurt, M.A., and Yüceci, T. (1987). Researchs on application of integrated pest management method at hazelnut plantations in the eastern black-sea region in Turkey. *Ondokuzmayıs University publication*, 20, 81-83.
- Ivanov, G. M., and Gukasjan, A. B. (1966). Charakteristika Nekatorych Stammov Roda Pseudomonas vydelennyh iz Nasekomych, 135, In: A. B. Gukasjan (Ed.) Mikroorganizmy v Borbe s Vrediteljami Lesnogo Chozjajstva, Nauka, Moskva.
- Jackson, T. A., Boucias, D. G., and Thaler, J. O. (2001). Pathobiology of amber disease, caused by *Serratia* spp., in the New Zeland Grass Grub, *Costelytra zealandica*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 78, 232-243.
- Jeyaprakash, A., Hoy, M. A., and Allsopp, M. H. (2003). Bacterial Diversity in worker adults of *Apis mellifera capensis* and *Apis mellifera scutellata* (Insecta: Hymenoptera) assessed using 16S rRNA sequences. *Journal of Invertebrate Pathology*, 84, 96-103.
- Kati, H., Ince, I.A., Sezen, K., Isci S., and Demirbağ, Z. (2009). Characterization of two *Bacillus thuringiensis* ssp. *morrisoni* strains isolated from *Thaumetopoea pityocampa* (Lep., Thaumetopoeidae). *Biocontrol Science and Technology*, 19, 475-484.
- Klein, M. G., and Kaya, H. K. (1995). *Bacillus* and *Serratia* species for scarab control. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90, 87-95.
- Kılıç, O. (1994). Fındıkta Dönüm Noktası. *Tarım ve Köy Bakanlığı Dergisi*, 97, 38-40.
- Kurt, M.A. (1982). *Doğu Karadeniz Bölgesinde fındık zararlıları, tanınmaları, yayılış ve zararları, yaşayışları ve savaşım yöntemleri*. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Zir. Müc. Zir. Kar. Gen. Müd., Samsun Bölge Zir. Müc. Araş. Enst., Mesleki Kitaplar Serisi, No: 26, Ankara.
- Kuzina, L. V., Peloquin, J. J., Vacek, D. C., and Miller, T. A. (2001). Isolation and identification of bacteria associated with adult laboratory mexican fruit flies, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *Current Microbiology*, 42, 290-294.
- Lacey, L. A., Unruh, T. R., Simkins, H., and Thomsen-Archer, K. (2007). Gut bacteria associated with the pacific coast wireworm, *Limonius canus*, inferred from 16S rDNA sequences and their implications for control. *Phytoparasitica*, 35, 479-489.
- Lindow, S. E., Desurmont, C., Elkins, R., McGourty, G., Clark, E., and Brandl, M. T. (1998). Occurrence of indole-3-acetic acid producing bacteria on pear trees and their association with fruit russet. *Phytopathology*, 88, 1149-1157.
- Lipa, J.J., and Wiland, E. (1972). Bacteria isolated from cutworms and their infectivity to *Agrotis* sp. *Acta Microbiologica Polonica*, 4, 127-140.
- Lyapunov, Ya. E., Kuzyaev, R.Z., Khismatullin, R. G., and Bezgodova, O. A. (2008). Intestinal Enterobacteria of the hibernating *Apis mellifera mellifera* L. Bees. *Microbiology*, 77, 373-379.
- Martinez, A. J., Robacker, D. C., Garcia, J. A., and Esau, K. L. (1994). Laboratory and field olfactory attraction of the mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) to metabolites of bacterial species. *Florida Entomologist*, 77, 117-126.
- Muratoglu, H., Sezen, K., and Demirbağ, Z. (2011a). 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.
- Muratoglu, H., Demirbağ, Z., and Sezen, K. (2011b). The first investigation of the diversity of bacteria associated with *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Biologia*, 66, 288-293.
- Murrell A., Dobson, S. J., Yang, X., Lacey, E., and Barker, S. C. (2003). A survey of bacterial diversity in ticks, lice and fleas from Australia. *Parasitology Research*, 89, 326-334.
- Nayduch D., Honko, A., Noblet, G. P., and Stutzenberger, F. (2001). Detection of *Aeromonas caviae* in the common housefly *Musca domestica* by culture and polymerase chain reaction. *Epidemiology and Infection*, 127, 561-566.

- Nelson, K. E., Weinel, C., Paulsen, I. T., and et al. (2002). Complete Genome sequence and comparative analysis of the metabolically versatile *Pseudomonas putida* KT2440. *Environmental Microbiology*, 4, 799-808.
- Niemi, R. M., Heikkilä, M. P., Lahti, K., Kalso, S., and Niemelä, S. I. (2001). Comparison of methods for determining the numbers and species distribution of coliform bacteria in well water samples. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 850-858.
- O'Callaghan, M., and Jackson, T. A. (1993). Isolation and enumeration of *Serratia entomophila*, a bacterial pathogen of the New Zealand Grass Grub, *Costelytra zealandica*. *Journal of Applied Bacteriology*, 75, 307-314.
- Osborn, F., Berlioz, L., Vitelli-Flores, J., Monsalve, W., Dorta, B., and Lemoine, V. R. (2002). Pathogenic effects of bacteria isolated from larvae of *Hylesia metabus* Cramer (Lepidoptera: Saturniidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 80, 7-12.
- Peter, G. 1984. *Plant Pests and Their Control*, Fenemore, London.
- Pidiyar, V. J., Jangid, K., Patole, M. S., and Shouche. Y. S. (2004). Studies on cultured and uncultured microbiota of wild *Culex quinquefasciatus* mosquito midgut based on 16S ribosomal RNA gene analysis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 70, 597-603.
- Prado, M. A., Pimenta, F. C., Hayashid, M., Souza, P. R., Pereira, M. S., and Gir, E. (2002). Enterobacteria isolated from cockroaches (*Periplaneta americana*) captured in a Brazilian hospital. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 11, 93-98.
- Rahuma, N., Ghenghesh, K.S., Ben Aissa, R., and Elamaari, A. (2005). Carriage by the housefly (*Musca domestica*) of multiple antibiotic-resistant bacteria that are potentially pathogenic to humans, in hospital and other urban environments in Misurata, Libya. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 99, 795-802.
- Sambrook J., Fritsch, E. F., and Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning: a laboratory manual* (2nd ed.) New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sasser, M. S. (1990). *Identification of by gas chromatography of cellular fatty acids*, Technical Note 101. Newark, DE, Microbial ID, Inc.
- Selmi, E. (1998). *Türkiye Kabuk Böcekleri ve Savaşı*. İstanbul Üniv. Yayın No: 4042, Emek Matbaası, İstanbul. 196s.
- Sevim, A., Demirbağ, Z., and Demir, İ. (2010). A new study on the bacteria of *Agrotis segetum* Schiff. (Lepidoptera: Noctuidae) and their insecticidal activities. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 34, 333-342.
- Sevim, E., Çelebi, O., and Sevim, A. (2012). Determination of the bacterial flora as a microbial control agent of *Toxoptera aurantii* (Homoptera: Aphididae). *Biologia*, 67, 397-404.
- Sezen, K., and 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., and Demirbağ, Z. (2001). Insecticidal potential of *Serratia marcescens* Bn10. *Biologia*, 56, 333-336.
- Sezen K., Demir, I., and Demirbag, Z. (2004). Study of the bacterial flora as a biological control agent of *Agelastica alni* L. (Coleoptera: Chrysomelidae). *Biologia*, 59, 327-331.
- Sezen K., Demir, I., Kati, H., and Demirbag, Z. (2005). Investigations on bacteria as a potential biological control agent of summer chafer, *Amphimallon solstitiale* L. (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Microbiology*, 43, 463-468.
- Sezen K., Demir, I., and Demirbag, Z. (2007a). Identification and pathogenicity of entomopathogenic bacteria from common cockchafer, *Melolontha melolontha* (Coleoptera: Scarabaeidae). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 35, 79-85.
- Sezen, K., and Demirbag, Z. (2007b). The investigation of biological control agent of summer cockchafer (*Melolontha melolontha*, Coleoptera: Scarabaeidae). *Ekoloji*, 16, 34-40.
- Sezen, K., Kati, H., Nalcacioglu, R., Muratoglu, H., and Demirbag, Z. (2008). Identification and pathogenicity of bacteria from European shot-hole borer, *Xyleborus dispar* Fabricius (Coleoptera: Scolytidae). *Annals of Microbiology*, 58, 173-179.
- Sikorowski, P. P., and Lawrence, A. M. (1998). Transmission of *Serratia marcescens* (Enterobacteriaceae) in Adult *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) Laboratory Colonies. *Biological control*, 12, 50-55.
- Sneath, A. P., Mair, N. S., Sharge, M. S. and Holt, J. G. (Eds.) (1986). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 2, Williams and Wilkins, Baltimore.
- Steinhaus, E. A. (1963). *Insect Pathology: An Advanced Treatise*, Vol. 2, Academic Press, New York.



- Timmis, K. N. (2002). *Pseudomonas putida*: A cosmopolitan opportunist par excellence. *Environmental Microbiology*, 4, 779-781.
- Yamoah, E., Jones, E. E., Weld, R. J., Suckling, D. M., Waipara, N., Bourdôt, G.W., Hee, A.K.W., and Stewart, A. 2008. Microbial population and diversity on the exoskeletons of four insect species associated with gorse (*Ulex europaeus* L.). *Australian Journal of Entomology*, 47, 370-379.
- Yılmaz, H., Sezen, K., Kati, H., and Demirbağ, Z. (2006). The first study on the bacterial flora of the European spruce bark beetle, *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae). *Biologia*, 61, 679-686.
- Wood, S.L. and Bright, D.E. (1992). A catalog of Scolytidae and Platypodidae (Coleoptera), Part 2: Taxonomic index. Volumes A and B. *Great Basin Naturalist Memoirs*, 13, 1-1553.