

## Sekiz Dişli Kabuk Böceği (*Ips typographus*, Coleoptera: Scolytidae)'nin Bakteriyal Florası Üzerine Araştırmalar

Nurcan A. İSKENDER\*, Ömer F. ALGUR\*\*

\* Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Öğrencisi, 25240, Erzurum

\*\* Atatürk Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü 25240, Erzurum

**Yayın Kodu (Article Code): 09-11A**

**Özet:** Bu çalışmada bütün dünyada ladin ağaçlarının en önemli zararlılarından biri olan sekiz dişli kabuk böceğinin (*Ips typographus*, Coleoptera: Scolytidae) bakteriyal florası araştırılmıştır. Bu amaçla önce zararlının erginlerinden 7 bakteriyal strain izole edilmiştir. Bazı sitolojik ve biyokimyasal özellikleri ve yağ asidi profilleri belirlenen BHK-1, BHK-7, BHK-8, BIK-1, BIK-2, BIK-5 ve AHK-4 kodlu strainler sırasıyla *Paenibacillus macquariensis*, *Erwinia chrysanthemi*, *Serratia odorifera*, *Photorhabdus luminescens*, *Kluyvera cryocrescens* ve *Chryseobacterium balustinum* olarak tanımlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Ips typographus*; bakteriyal flora, yağ asidi analizi, MIS, biyokimyasal özellikler

**Investigations On The Bacterial Flora Of Eight Toothed European Spruce Bark Beetle (*Ips typographus*,  
Coleoptera:Scolytidae)**

**Abstract:** In this study, the bacterial flora of European spruce bark beetle (*Ips typographus*), the most important pest of oriental spruce (*Picea orientalis* L.) in all over the world, was investigated. For this purpose, seven bacterial strains were isolated from the adults of pest. On the basis of some cytological and biochemical characteristics and fatty acid profiles the strains BHK-1, BHK-7, BHK-8, BIK-1, BIK-2, BIK-5 and AHK-4 could be identified as *Paenibacillus macquariensis*, *Erwinia chrysanthemi*, *Serratia odorifera*, *Photorhabdus luminescens*, *Kluyvera cryocrescens* and *Chryseobacterium balustinum*.

**Key words:** *Ips typographus*, bacterial flora, fatty acid analysis, MIS, biochemical characteristics

**e-mail:** ofalgur@yahoo.com

## Giriş

Böcekler, canlı organizmalar içerisinde tür çeşitliliği bakımından en zengin grubu oluşturmaktadır. Günümüzde böceklerin 750.000 tür içerdiği belirtilmekle birlikte, başta tropik bölgeler olmak üzere bir çok ekosistemin iyi çalışılmamış olması nedeniyle gerçek sayının 10 milyon civarında olduğu tahmin edilmektedir (Novatry et al. 2002, Dillon and Dillon 2004). Diğer taraftan böceklerin gerek larva gerekse ergin dönemlerinde bağırsak sistemleri ve diğer vücut bölgelerinde bir çok mikroorganizmayı içerdiği ve bu mikroorganizmaların böcekler ile patojenik ilişkilerden zorunlu mutualistik ilişkilere kadar bir çok etkileşim tipine kaynaklık yaptığı da bilinmektedir (Dharne et al. 2006).

Böcek mikrobiyal florasının en önemli üyelerini bakteriler oluşturmakta ve bu mikroorganizmalar böcekler için uygun gıda oluşturmak, besin sindirimine yardımcı olmak, faydalı enzimler üretmek, vitaminler sentezlemek, azot bağlamak, feromonlar üretmek ve böcek patojenleri ile rekabet etmek suretiyle böceklerin yaşamına önemli katkılar sağlarlar (Demirbağ ve ark. 2008 ). Ancak bütün bu yararlı etkilerine rağmen böcekleri öldüren, hastalandıran, pasifize eden ve kontrol eden bakteriler de bulunmaktadır (Klein and Kaya 1995). Son yıllarda böcek vücudunun mikroflorası, özellikle de bağırsak mikroflorası üzerinde yapılan araştırmalar yoğunluk kazanmıştır. Bunun temelde iki sebebi olduğu görülmektedir: 1. Büyük bir çeşitlilik gösteren bu mikroflora, antibakterial, antifungal, antimalarial, antitümöral ve antiviral peptidler gibi yeni ve çok kıymetli biyoaktif bileşiklerin üretimi için çok iyi bir kaynak olabilir. 2. Bu mikrofloranın böcek patojeni olanları zararlı böceklerin biyolojik kontrolünde kullanılabilir (Lehane et al. 1997, Wilkinson. 2001, Beard et al. 2002, Zhang and Yuen 1999, Dillon et al. 2005, Dharne et al. 2006).

Ülkemiz ormanlarında 50'den fazla zararlı böcek türü yaşamakta ve çeşitli ölçülerde ve yoğunlukta tahribat yapmaktadır. Bu böceklerden en zararlıları kambiyum ve ona yakın dokularda yaşayan Kabuk Böcekleri (Coleoptera: Scolytidae)'dir. Bu böceklerin her

yıl tekrarlayan zararlarıyla kuruyan ağaçlar, grup ve kümeler halinde kesildiği için ormanlarda büyük boşluklar meydana getirmekte ve sahanın yabanlaşmasına yol açmaktadır. Yabanlaşan sahaların tekrar eski haline dönüştürülebilmesi için, diri örtü ile mücadele, toprak işleme ve fidan dikimi gibi oldukça masraflı çalışmalar gerekmektedir (Eroğlu 1995).

Toplam alanı 286.851 ha olan ladin ormanlarımız, ülkemizde Gürcistan sınırından batıda Ordu Melet Irmağı'na kadar uzanan bölgede yayılış göstermekte ve ormanlardan beklenen işlevleri en üst düzeyde sağlamaktadırlar (Konukçu 2001, Anşin ve Özkan 1997). Ladin ormanlarımızın her yıl binlerce bireyini kaybetmesine yol açan kabuk böceklerinden sekiz dişli kabuk böceği (*I. typographus*) orman entomolojistleri tarafından saldırgan bir böcek türü olarak tanımlamakta ve ladin ormanlarının en tehlikeli böceği olarak kabul etmektedirler. Bu böcek, çam, göknar ve sedir ağaçlarına da arız olmakla birlikte özellikle tercih ettiği ve en çok zarar verdiği ağaç ladin türleridir (Yüksel 1998). 1984 yılında Artvin'de varlığı tespit edilen *Ips typographus*, zayıf düşmüş ladin ormanlarında gelişimini sürdürmektedir (Aksu 1987, Aksu ve Alkan 1990). Bugün 165.000 ha'lık ladin ormanının tamamına yayılarak kitle üretmesi yaptığı sahalarda, 1998 yılından itibaren ağaçların ölümlerine neden olmaya başlamıştır. Bu kabuk böceği *D. micans*'tan sonra ladin ormanlarımızın bir numaralı sorunu haline gelmiştir. *Ips typographus* 2005 yılına kadar Artvin'de 1.000.000 m<sup>3</sup> ladin ağacının ölümüne sebep olmuştur (Yüksel ve ark. 2003). *Ips typographus*'un zararları engellenmediğinde Doğu Ladini ormanlarımızın varlığının tehlikeye gireceği açıkça görülmektedir.

Ülkemizde tüm dünyada uygulandığı gibi zararlı böceklerin kontrolünde çeşitli kimyasal insektisidler kullanılarak kimyasal mücadele yürütülmektedir. Fakat kullanılan bu kimyasal insektisidler doğal çevre ve hedeflenmemiş organizmalar üzerinde olumsuz etkilere sahiptir (Ecevit 1988, Humber 1997, Ünal 1998). Özellikle teknolojisi gelişmiş ülkelerde çevre bilincinin yerleşmesine bağlı olarak ilaç kullanımına tepkilerin artması ile biyolojik

mücadele daha çok güncellik kazanmaktadır (Erkiliç ve Uygun 1993). Oğurlu, 2000 tarafından biyolojik mücadelenin, diğer mücadele yöntemlerine göre doğal dengenin kurulmasına yardımcı olması, uzun vadede kalıcı sonuçlar vermesi ve nihai hedefe ulaştırabilmesi açısından en çok tercih edilmesi gereken mücadele yöntemi olduğu da bildirilmektedir.

Yukarıda da özetlenmeye çalışıldığı gibi başta ladin olmak üzere bir çok kıymetli orman ağacında parazit yaşamak suretiyle büyük hasarlar oluşturan sekiz dişli kabuk böceğinin vücut mikroflorası hakkında yeterli araştırma bulunmamaktadır. Bu çalışmada böceğin vücut bakteriyal florasının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bakteriyal floranın aydınlatılması ile bunların vücut sistemindeki ekolojik ilişkiler bakımından rolü ve biyopestisit olarak kullanılabilme potansiyelleri konularında önemli ip uçları elde edilebileceği düşünülmektedir. Bu nedenle araştırmanın daha sonrası için planlanan bölümlerinde bu flora üyelerinin biyokontrol ajanı olarak kullanılabilirliklerinin belirlenmesi hedeflenmektedir.

## Materyal ve Metod

### 1. Materyal

#### Kimyasal Maddeler ve Besiyerleri

Çalışmada kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik saflıkta olup MERCK ve SIGMA firmalarından temin edilmiştir. Mikroorganizmaların üretiminde DIFCO ve OXOID marka besiyerleri (Nutrient Agar: N A; Trypticase Soy Agar: TSA, Nutrient Broth: NB) kullanılmıştır.

#### Böcekler

Sekiz dişli kabuk böceği (*I.typographus*)'nin erginleri Artvin ili Şavşat ve Yusufeli ilçeleri ile Kafkasör Milli Parkı, Hatilla bölgesindeki ladin ormanlarından 2005–2007 yılları mayıs-eylül ayları arası yapılan arazi çalışmaları ile Artvin Bölge Müdürlüğü Biyolojik Mücadele Laboratuvarından temin edilmiştir. Ergin böcekler steril kaplarda çalışılacakları laboratuvarlara getirilmiştir.

## 2. Metod

### Bakterilerin İzolasyonu

Makroskobik incelemeleri yapılarak ölü, hastalıklı ve yavaş hareket eden erginler önce küçük fırçalarla kaba tozlarından arındırılmış ve steril fizyolojik tuzlu su içerisinde 5dk süre ile bekletilmiştir. Elde edilen yıkama suyunun seri dilüsyonları ( $10^{-1}$ -  $10^{-6}$ ) hazırlanarak petri plaklarındaki besiyerlerine (TSA ve NA) ekinleri yapılmıştır. Petripler farklı sıcaklık derecelerinde (oda sıcaklığı: OS; 35°C; 50°C) inkübasyona bırakılmış ve 72 saat'lik inkübasyon süresi sonunda oluşan faklı koloniler stok besiyerlerine aktarılmıştır. Bu izolatlar ergin yüzeyine ait izolatlar olarak değerlendirilmiştir. Erginlerin vücut içi izolasyonları için, yüzey sterilizasyonunda kullanılan %70'lik etil alkol yerine %95'lik etil alkol kullanılmıştır. Steril bir havanda ezilerek homojenat elde edilmiş ve bu homojenattan uygun dilüsyonlar hazırlanarak ekim ve izolasyon işlemleri devam ettirilmiştir (Poinar 1978, Thiery and Frachon 1997, Sezen ve Demirbağ 2007). İzolatların her birine bir kod numarası verilmiş ve içerisinde 1:1 oranında gliserol-NB karışımı bulunan eppendorf tüplerine aktarılarak -20°C'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

### İzolatların MIS Sistemi İle Yağ Asidi Profillerinin Belirlenmesi ve Tanısı

Kimyasal Maddeler ve Besiyerleri kısmında açıklanan yöntem ile elde edilen bakteriyal izolatların, Mikrobiyal İdentifikasyon Sistemi = MIS (MIDI, Inc, Newark, DE) kullanılarak yağ asidi profilleri çıkarılmış ve bu sisteme göre tanıları yapılmıştır.

### İzolatların Sitolojik, Biyokimyasal ve Kültürel Özelliklerinin Belirlenmesi

Bakteri türlerinin kültürel, morfolojik (hücre morfolojisi, endospor oluşumu ve hareketlilik) ve biyokimyasal (gram reaksiyonu, katalaz, oksidaz, üre hidrolizi, jelatin hidrolizi ve nitrat redüksiyonu) özellikleri belirlenmiştir (Kızıloğlu 1992, Sarioğlu ve ark. 1993, Saygılı 1995, Ögütçü 2000).

## Bulgular

İzolatların bazı morfolojik, sitolojik ve biyokimyasal özellikleri Tablo 1’de özetlenmiştir. Bu aşamada cins düzeyinde teşhis için kullanılan testler ile yetinilmiştir. Tablodan da görüldüğü üzere BHK-1 izolatu, çubuk şeklinde, Gram pozitif, açık sarı-krem renge yuvarlak koloni oluşturan, endosporlu, hareketli, katalaz pozitif, oksidaz negatif, jelatini hidrolizi, üre hidrolizi ve nitrat indirgenmesi yapamayan bir türdür.

BHK-7 izolatu; çubuk şeklinde, Gram negatif, mat beyaz renge yuvarlak koloni oluşturan, endosporuz, hareketli, katalaz pozitif, oksidaz negatif, jelatin ve nitrat hidroliz edebilen, üre hidrolizi yapamayan bir tür olduğu görülmektedir.

BHK-8 izolatu; çubuk şeklinde, Gram negatif, krem renge yuvarlak koloni oluşturan, endosporuz, hareketli, katalaz pozitif, oksidaz negatif, jelatin ve nitrat hidroliz edebilen, üre hidrolizi yapamayan bir tür olduğu görülmektedir.

BIK-1 izolatu; çubuk şeklinde, Gram negatif, açık krem renge yuvarlak koloni oluşturan, endosporuz, hareketli, katalaz pozitif, oksidaz negatif, jelatin ve üreyi hidroliz edebilen, nitrat indirgenmesi yapamayan bir türdür.

BIK-2 izolatu; çubuk şeklinde, Gram negatif, krem renge yuvarlak koloni oluşturan, endosporuz, hareketli, katalaz pozitif, oksidaz negatif, jelatin ve üre hidrolizi yapamayan, nitrat indirgenmesi yapan özelliklere sahiptir.

BIK-5 izolatu; çubuk şeklinde, Gram negatif, krem renge yuvarlak koloni oluşturan, endosporuz, hareketsiz, katalaz pozitif, oksidaz negatif, jelatin ve üre hidrolizi yapamayan, nitratı indirgeyen bir tür olduğu görülmektedir.

AHK-4 izolatu ise; çubuk şeklinde, Gram negatif, sarı krem renge yuvarlak koloni oluşturan, endosporuz, hareketsiz, katalaz ve oksidaz pozitif, jelatin hidrolizi yapan, üreyi hidroliz edemeyen ve nitrat indirgenmesi yapan özelliklere sahiptir.

**Tablo 1.** Bakteriyal izolatların morfolojik ve biyokimyasal özellikleri

Testler/İzolat kodu	BHK-1	BHK-7	BHK-8	BIK-1	BIK-2	BIK-5	AHK-4
Koloni rengi	A. sarı- krem	Krem	Krem	A.Krem	Krem	Krem	Krem
Koloni şekli	D, Y	D,Y	D,Y	D,Y	D,Y	D,Y	D,Y
Gram boyama	+	-	-	-	-	-	-
Spor boyama	+	-	-	-	-	-	-
Spor şekli	Merkezi	-	-	-	-	-	-
Hücre şekli	Çubuk	Çubuk	Çubuk	Çubuk	Çubuk	Çubuk	Çubuk
Hareket	+	+	+	+	+	-	-
Nitrat indirgenmesi	-	+	+	-	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	+
Jelatin hidrolizi	-	+	+	+	-	-	+
Üre hidrolizi	-	-	-	+	-	-	-

A: açık, D Y: Düz yuvarlak, +: pozitif, -: negatif

Bakteriyal izolatların toplam hücresel yağ asidi oranları ise Tablo 2’de verilmiştir. Tablodan da görüldüğü üzere analiz edilen toplam 36 yağ asidi türü bakımından hücre duvarında en çok çeşit yağ asidi bulunduran izolatlar sırasıyla AHK-4 (17 çeşit), BHK-7 (17 çeşit) ve BIK-1 (15 çeşit) suşlarıdır. 16 çeşit yağ asidi sadece tek bir izolatta belirlenmiş olup

bunlar 10:0 3OH ( BHK-7), 11:0 2OH (BHK-1), 18:1 w9c (BHK-7), 18:1 w5c (AHK-4), 17:1 ISO w9c (AHK-4), 17:0 ISO (BHK-1), 16:1 w 11c (BHK-1), 16:0 3OH (AHK-4), 16:0 ISO 3OH (AHK-4), 15:0 2OH (AHK-4), 15:0 ISO3OH (AHK-4), 13:1 AT 12-13 (AHK-4), 13:0 ISO (AHK-4), 12:0 2OH (BHK-7), 15:1 w8c (BIK-2) ve 19:0 10 Methyl (BIK-2) yağ

asitleridir. Diğer taraftan yağ asitlerinin izolatlarda bulunma oranları bakımından değerlendirildiğinde; BHK-1 izolatının C:15:0 ANTEISO yağ asidini (% 56.82); BHK-7 izolatının C:16:1 w7c yağ asidini (% 36.14); BHK-8 izolatının C:16:1 w7c yağ asidini (% 33.76); BIK-1 izolatının C:16:0 yağ asidini (% 26.24); BIK-2 izolatının C:16:0 yağ asidinin ve izolatının C:16:0 yağ asidini (% 30.26) AHK-4 izolatının ise C:15:0 ISO yağ (%asidini (%

46.06) en yüksek oranda 27.21); BIK-5 bulunduran suşlar olarak belirlenmiştir. Bu veriler MIS sistem klavuzunda analiz edilmiş ve izolatlar *Paenibacillus macquariensis* (BHK-1), *Erwinia chrysanthemi* (BHK-7), *Serratia odorifera* (BHK-8), *Photorhabdus luminescens* (BIK-1), *Kluyvera cryocrescens* (BIK-2), *Shigella boydii* (BIK-5), *Chryseobacterium balustinum* (AHK-4) olarak tanımlanmıştır.

**Tablo 2.** Bakteriyal izolatların toplam hücresel yağ asidi oranları

Yağ asitleri	Yağ asidi oranı (%)						
	BHK-1	BHK-7	BHK-8	BIK-1	BIK-2	BIK-5	AHK-4
10:0 30H	-	0.10	-	-	-	-	-
11:0 20H	0.83	-	-	-	-	-	-
12:0	-	1.95	1.89	2.27	3.05	3.19	-
12:0 20H	-	0.12	-	-	-	-	-
12:0 ALDE?	-	8.00	7.56	-	-	-	-
12:0 30H	-	0.15	0.11	-	-	-	-
13:0	-	0.23	0.32	0.49	1.72	0.37	-
13:0 ISO	-	-	-	-	-	-	5.43
13:1 AT 12-13	-	-	-	-	-	-	0.23
14:0	3.13	7.95	8.33	6.30	7.39	7.65	0.53
14:0 ISO	3.13	-	-	0.46	-	-	1.79
15:0 ISO	14.12	-	-	0.61	-	-	46.06
15:0 ISO 3 OH	-	-	-	-	-	-	6.66
15:0 ANTEISO	56.82	-	-	7.44	-	-	2.90
15:0 2 OH	-	-	-	-	-	-	0.83
15:0 30H	-	-	-	-	0.41	-	1.14
15:1 w8c	-	-	-	-	0.36	-	-
16:0	-	27.23	28.38	26.24	27.21	30.26	0.26
16:0 ISO	2.70	-	-	3.53	-	-	2.27
16:0 ISO 30H	-	-	-	-	-	-	2.92
16:0 3 OH	-	-	-	-	-	-	4.56
16:1 w5c	-	0.17	-	0.24	0.36	0.23	-
16:1 w7c	-	36.14	33.76	-	-	-	4.22
16:1 w11c	3.73	-	-	-	-	-	-
17:0	-	0.44	0.53	0.96	1.41	0.55	-
17:0 ISO	2.21	-	-	-	-	-	-
17:0 ISO 30H	-	-	-	-	-	-	12.08
17:0 ANTEISO	2.88	-	-	1.81	-	-	-
17:0 CYCLO	-	1.80	2.47	4.05	8.86	5.49	-
17:1 w8c	-	0.36	0.38	0.67	1.15	-	-
17:1 ISO w9c	-	-	-	-	-	-	7.39
18:0	-	0.16	0.24	0.32	0.48	0.49	-
18:1 w5c	-	-	-	-	-	-	0.74
18:1 w7c	-	14.29	15.51	-	-	-	-
18:1 w9c	-	0.36	-	-	-	-	-
19:0 CYCLO w8c	-	0.44	-	0.21	1.06	0.36	-
19:0 10 Methyl	-	-	-	-	0.35	-	-

## Tartışma

Canlılar dünyasının tür çeşitliliği bakımından en zengin gruplarının başında gelen böceklerin; beslenme, yaşam alanı ve metabolizma bakımında da büyük bir çeşitlilik gösteriyor olması, bu organizmaların vücut florasından yeni tür ve suşların izolasyon şansını artırmaktadır. Üstelik böcek mikroflorasının bilinmesi onların beslenme fizyolojisi, bağırsak ekosistemleri, çeşitli mikrobiyal hücrelerden etkilenme veya onlara direnç gösterme mekanizmaları vb. konuların aydınlatılması hususunda önemli ip uçları vermektedir. Bu nedenle son yıllarda böcek bağırsağı ve diğer vücut kısımlarının mikroflorası hakkındaki araştırmalar yoğunluk kazanmıştır (Moraes et al. 2000, Xiang et al. 2006, Dharme et al. 2006, Yılmaz et al. 2006, Husseneder et al. 2007, Vries et al. 2008, Behar et al. 2008). Özellikle zararlı böcekler ile biyolojik mücadelede kullanılacak mikrobiyal ajanların, yine bu böceklerin vücudundan izole edilebileceği fikri, bir çok potansiyel biyolojik kontrol ajanının izolasyonunu sağlamıştır (Frederick and Caesar 2000, Cardoza et al. 2006, Messiha et al. 2007, Jackson et al. 2008).

Bütün dünyada ladin ağaçlarında büyük kayıplara yol açan *Ips typographus* türünün vücut florası hakkında ne yazık ki yeterli araştırma yapılmamıştır. Dolayısıyla araştırmamızda bu zararlının vücut florasının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Günümüzde bakteri tanısında 16S rRNA sekans analizi vb. moleküler teknikler hızla yaygınlaşsa da, bu analizlerin uygulandığı merkezlerde yeterli standartizasyonun henüz bulunmayışı çok önemli hatalara yol açmakta ve bu durum klasik tanı tekniklerinin hala güncelliğini korumasını sağlamaktadır. Ayrıca, klasik testler, tanılamak istenen mikroorganizmanın ana grubunu belirlemek suretiyle daha sonra takip edilecek moleküler çalışmalara hız kazandırmaktadır (Dönmez 2004). Bu nedenle bizim çalışmamızda da izole edilen bakteriyal strainlerin morfolojik ve bazı biyokimyasal karakterleri belirlenmiştir. Tablo 1.'de de görüldüğü üzere izolatların hepsi

çubuk şeklindedir. Nutrient agar besiyeri üzerinde oluşturdukları koloni rengi ise açık sarı- krem rengi ağırlıktadır. Bütün suşlar yuvarlak ve kenarları düz koloni oluşturmuştur. BIK-5 ve AHK-4 strainleri hariç diğer beş strainin hareketli oldukları tespit edilmiştir. Mikroorganizmalara ait biyokimyasal özelliklerden Gram reaksiyonu, katalaz, oksidaz, jelatin hidrolizi, üre hidrolizi ve nitrat indirgenmesi değerlendirilmiştir. Nitrat indirgenmesi testi bakımından BHK-7, BHK-8, BIK-2, BIK-5 ve AHK-4 suşları; katalaz testi bakımından bütün suşlar; oksidaz testi bakımından sadece AHK-4 suşu; jelatin hidrolizi bakımından BHK-1, BHK-7, BHK-8, BIK-1 ve AHK-4 suşları; üre hidrolizi bakımından da sadece BIK-1 suşu pozitif bulunmuştur. İzolatlardan BHK-1 endospor içermekte, diğer suşlar ise endospor içermemektedir.

Son yıllarda bakterilerin tanısında en çok tercih edilen yöntemlerden biri de yağ asidi metil ester analizi (FAMEs) dir. Bu yöntemin esası hücresel yağ asitlerinin gaz kromatografisi ile tanılanmasına dayanmaktadır (Sasser 2001). Bu tekniğin flora çalışmalarından elde edilen yoğun örneklerin tanısı için pratik ve ucuz olduğu da belirtilmektedir (Fang et al. 2001). Bu araştırmada da *Ips typographus* erginlerinden izole edilen strainlerin tamamı MIS yardımıyla yağ asidi analizlerine göre tanılanmış ve fenotipik farklılıkları belirlenmiştir. MIS sisteminin izolatlar için belirlediği tür isimlerinden yola çıkılarak, aynı tür veya yakın türler için literatürde bulunabilen örneklerle yağ asidi profilleri ve klasik test sonuçları bakımından karşılaştırılmış ve aşağıda değerlendirilmiştir.

*Paenibacillus macquariensis* olarak tanılanan türe ait literatürde MIS analizi sonucu bulunamamıştır. Ancak aynı cinse ait *P. macerans* (Çolak et al. 2009) ile karşılaştırıldığında; içerdikleri yağ asidi çeşidi bakımından benzer olsa da, yağ asitlerinin miktarları bakımından önemli farklar olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan *Paenibacillus* cinsinin fakültatif anaerobik, endospor oluşturan, çubuk şeklinde, katalaz pozitif, nitrat

indirgeme özelliği negatif ve oksidaz negatif olduğu da belirtilmektedir (Velazques et all. 2004). Araştırmamızda *P. macquariensis* olarak tanımlanan tür için uyguladığımız klasik test sonuçları; cins düzeyinde yukarıdaki bulgular ile paralellik arz etmektedir.

Cother et all. (1992) tarafından alpin su kaynaklarından izole edilen *Erwinia chrysanthemi* türü için belirlenen MIS sonuçları bizim izolatomuzun MIS sonuçları ile karşılaştırıldığında; iki türe ait yağ asidi profilinin ne çeşit ne de miktar bakımından benzer olmadığı görülmüştür. Aynı araştırmacıların bu türe ait sitolojik ve biyokimyasal test sonuçları ise bizim bulgularımızı desteklemektedir.

*Serratia odorifera* olarak tanımlanan tür için yapılan literatür taraması çalışmalarında bu türün çubuk şeklinde, hareketli, nitratı indirgeyebilen, oksidaz negatif, üre hidrolizi, jelatin hidrolizi ve katalaz enzimi bakımından pozitif oldukları belirtilmektedir (Krieg et all. 1984). Yılmaz ve ark. 2006, bu cinsin bir başka türü olan *S. grimesii*'nin yağ asidi profilini belirlemiştir. Araştırmamızdan elde edilen bulgular hem klasik testler bakımından hem de MIS sonuçları bakımından yukarıda belirtilen araştırma sonuçları ile büyük bir uyum göstermektedir.

*Photorhabdus luminescens* türüne ait MIS analizi sonucuna literatürde rastlanmamıştır. Nematodlardan izole edilen *P. luminescens* türlerinin Gram negatif, spor oluşturmaayn, çubuk şekilli, polar kamçı ile hareketli, biyoluminesens özelliği olmayan, oksidaz ve katalaz pozitif, nitratı nitrite indirgeyen ve oksidatif bir metabolizmaya sahip olduğu belirtilmektedir (Babic et all. 2000). Bizim araştırmamızda izole edilen *P. luminescens* türü oksidaz negatif ve nitrat indirgeme özelliği bakımından negatif özelliklere sahip olup diğer özellikleri yukarıda belirtilen araştırmacıların belirttiği özellikler ile benzer bulunmuştur.

Çalışmamızda *Kluyvera cryocrescens* olarak tanımlanan türe ait yağ asidi profili daha önce aynı tür için verilen yağ asidi profili (Arcelloni et all. 1989) ile büyük ölçüde benzerlik

göstermektedir. Ayrıca bu tür ve yakın türler için daha önceki araştırmacılar (Krieg et all. 1984) tarafından verilen sitolojik ve biyokimyasal özellikler de bu tür için elde ettiğimiz bulguları destekler niteliktedir.

Woodward et all. (2005)'e göre *Shigella boydii* türü Gram negatif, çubuk şeklinde, hareketsiz, katalaz pozitif, oksidaz negatif ve üre hidrolizi negatif bir türdür. BIK-5 izolatu için uyguladığımız sitolojik ve biyokimyasal testler bu bulgular ile tamamen örtüşmektedir. Ancak literatürde bu türe ait MIS analizi sonucuna ulaşamadığından bir karşılaştırma yapılamamıştır.

MIS analizine göre *Chryseobacterium balustinum* olarak tanımlanan tür, daha önce Young et all., 2004 tarafından *Lactuca sativa* bitkilerinden izole edilerek hem sitolojik ve biyokimyasal hem de yağ asidi analizi sonuçları bakımından değerlendirilmiştir. Bu araştırmacıya ait bulgularda bizim bulgularımızla tamamen paralellik arz etmektedir.

Yukarıda da ifade edildiği gibi bizim MIS değerlerimiz ile literatürde bulunanlar arasında bazı uyumsuzluklar vardır. Bu uyumsuzlukların kullanılan MIS cihazlarının kütüphanelerinden veya karşılaştırılan strainlerin farklılığından kaynaklanma ihtimali göz ardı edilmemelidir. Nitekim araştırmacılar böcek vücuduna ait mikrobiyal floranın; böceğin coğrafi yerleşim bölgesi, mevsim, yaş vb. faktörlere göre değişiklik gösterebileceği, özellikle besin tipi ve beslenme biçiminde etkili bir parametre olduğunu belirtmektedirler (Mrazile et all. 2008). Dolayısıyla dünyanın farklı bölgelerinden toplanan aynı tür böceklerde bile daha önce bilinmeyen yeni izolatlardan elde edilme şansı yüksektir. Bu araştırmadan elde ettiğimiz bakteriler daha sonra çalışılmak üzere kültür koleksiyonumuzda stok kültür halinde muhafaza edilmektedir. Bu türler biyopestisit olarak kullanılabilirlikleri ve enzim aktiviteleri bakımından daha sonra yapılacak çalışmalarda değerlendirilecektir.

## Kaynaklar

- Aklan Ş ve Aksu Y, 1990. *Rhizophagus dispar* Pk.'nın *Ips sexdentatus* ve Diğer Kabuk Böcekleri Üzerindeki Etkisi ile Biyolojik Mücadele Uygulamalarında Kullanılması Olanakları Üzerine Araştırmalar. Uluslararası Biyolojik Mücadele Sempozyumu, Antalya, Bildiriler Kitabı, 120–123.
- Aksu Y, 1987. Artvin Ladin (*Picea orientalis*) Ormanlarında Önemli Ölçüde Zarar Yapan *Dendroctonus micans* (Kug), *Ips sexdentatus* (Boerner) ve *Ips typographus* (L.) Adlı Kabuk Böceklerine Karşı Yapılan Mücadele Yöntemleri ve Tespit Edilebilen Önemli Yırtıcıları, Orman ve Av Dergisi, yıl: 63, Cilt: 63, Sayı: 7, Ankara, 24–26.
- Anşın R ve Özkan ZC, 1997. Tohumlu bitkiler (Spermatophyta), KTÜ Orman Fakültesi, Genel Yayın No: 167, Orman Fakültesi Yayın No: 19, Trabzon, 507 s.
- Arcelloni C, Griffini A, Paroni R and Bonini PA, 1989. Evaluation of an automatic gas chromatographic system for the identification of bacterial infective agents *J Autom Chem* Vol. 11, No. 5: 191–200.
- Babic I, Fischer-Le Saux M, Giraud E and Boemare N, 2000. Occurrence of natural dixenic associations between the symbiont *Photobacterium luminescens* and bacteria related to *Ochrobactrum* spp. In tropical entomopathogenic *Heterorhabditis* spp. (Nematoda, Rhabditida). *Microbiol* 146: 709–718.
- Behar A, Yuval B and Jurkevitch E, 2008. Gut bacterial communities in the Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) and their impact on host longevity. *J Insect Physiol* 54: 377–1383.
- Cardoza YJ, Klepzig KD and Rafa KF, 2006. Bacteria in oral secretions of an endophytic insect inhibit antagonistic fungi. *Ecological Entomology* 31: 636–645.
- Cother EJ, Bradley JK, Gillings MR and Fahy PC, 1992. Characterization of *Erwinia chrysanthemi* biovars in alpine water sources by biochemical properties, GLC fatty acid analysis and genomic DNA fingerprinting. *J Appl Bacteriol* 73: 99–107.
- Çolak F, Atar N and Olgun A, 2009. Biosorption of acidic dyes from aqueous solution by *Paenibacillus macerans*: Kinetic, thermodynamic and equilibrium studies. *Chem Eng J*.
- Demirbağ Z, Nalçacıoğlu R, Katı H, Demir İ, Sezen K ve Ertürk Ö, 2008. Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele, Trabzon.
- Dharne M, Patole M and Shouche YS, 2006. Microbiology of the insect gut: tales from mosquitoes and bees. *J Biosci* 31(3): 293–295.
- Dillon RJ and Dillon VM, 2004. The gut bacteria of insects: nonpathogenic interactions; *Annu Rev Entomol* 49: 71–92.
- Dillon RJ, Vennard CT, Buckling A and Charnley AK, 2005. Diversity of locust gut bacteria protects against pathogen invasion. *Ecol Lett* 8: 191–1298.
- Dönmez MF, 2004. Erzurum ve Erzincan illerinde fasulye bitkisinde (*Phaseolus vulgaris* L.) görülen bakteriyel hastalık etmenlerinin tanılanması ve *Pseudomonas syringae* pv. *Phaseolicola* ve *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*'ye karşı çeşitli fasulye genotip/varyetelerinin duyarlılıklarının belirlenmesi, Ph.D. thesis, Atatürk Üniv., Erzurum, 295pp.
- Ecevit O, 1988. Zirai Mücadele İlaçları ve Çevreye Olan Etkileri, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayınları, 27, Samsun.
- Erkılıç L ve Uygun N, 1993. Entomopatojen Fungusların Biyolojik Mücadelede Kullanılma Olanakları. *Tr Entomol Derg* 17 (2) : 117–128.



- Eroğlu M, 1995. *Dendroctonus micans* (Kug.) (Coleoptera: Scolytidae)'ın Populasyon Dinamiğine Etki Eden Faktörler Üzerine Araştırmalar. I. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi, 23-25 Ekim 1995, Trabzon, Bildiriler 3. cilt, 148-159.
- Fang C, Radosevich M and Fuhrmann JJ, 2001. Characterization of rhizosphere microbial community structure in five similar grass species using fame and biyolog analyses. *Soil Biol Biochem* Vol:33, Issues:4-5: 679-682.
- Frederick BA and Caesar AJ, 2000. Analysis of bacterial communities associated with insect biological control agents using molecular techniques. In: Proceedings of the X International Symposium on Biological Control of Weeds 4-14 July 1999, Montana State University, Bozeman, Montana, USA Neal R. Spencer (ed.), 261-267.
- Humber RA, 1997. Fungi: Identification, In Manuel of Techniques in Insect Pathology (Lacey, L. A., Ed.), 153-185, Academic Pres, New York.
- Husseneder C, Wise BR and Higashiguchi T, 2007. Bugs in bugs: The microbial Diversity of the termite gut. *Proc Hawahan Entomol Soc* 39:143-144.
- Jackson TJ, Wang H, Nugent MJ, Griffin, CT, Burnell AM and Dowds BCA, 2008. Isolation of insect pathogenic bacteria, *Providencia rettgeri*, from *Heterorhabditis* spp. *J Appl Microbiol* Volume 78 Issue 3: 237-244.
- Kızıloğlu FT, 1992. Erzurum Yöresinde Üretilen Yeşil Mercimek (*Lens elunaris*) Bitkisinin Etkili *Rhizobium leguminosarum* Suşlarının Seçimi Üzerine Bir Araştırma. Atatürk Üni. Ziraat Fak. Der., 23 (1): 39-52.
- Klein MG and Kaya HK, 1995. Bacillus and Serratia species for scarab control. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 90 (1): 87-95.
- Konukçu M, 2001. Ormanlar ve Ormancılığımız. Devlet Planlama Teşkilatı, Yayın ve Temsil Dairesi Başkanlığı, Yayın No. DPT: 2630, ISBN 975-19-2875-3, 238s.
- Krieg NR, 1984. The Williams & Wilkins Co., Baltimore. *Bergey's Manual of Syst Bacteriol* Volume 1. Edited by, pp. 964.
- Lehane MJ, Wu D and Lhane SM, 1997. Midgut specific immune molecules are produced by the blood-sucking insect *Stomoxys calcitrans*; *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 11502-11507.
- Messiha NAS, 2007. *Stenotrophomonas maltophilia*: a new potential biocontrol agent of *Ralstonia solanacearum*, causal agent of potato Brown rot. *Eur J Plant Pathol* 118: 211-225.
- Moraes AML, Junqueira ACV, Costa GL, Celano V, Oliveira PC and Coura JR, 2000. Fungal flora of the digestive tract of 5 species of triatomines vectors of *Trypanosoma cruzi*, Chagas 1909. *Mycopathologia* 151: 41-48.
- Mrazek J, Strosova L, Fliegerova K, Kott T and Kopečný J, 2008. Diversity of insect intestinal microflora. *Folia Microbiol* 53 (3): 229-233.
- Novatry V, Basset Y, Miller SE, Weiblen GD, Bremer B, Cizek L and Drozd P, 2002. Low host specificity of herbivorous insects in a tropical forest; *Nature* (London) 416: 841- 844.
- Oğurlu İ, 2000. Biyolojik Mücadele, Süleyman Demirel Üniversitesi Yayın No: 8, Isparta.
- Öğütçü H, 2000. Yabani Baklagil Bitkilerinden İzole Edilen *Rhizobium* Suşlarının Baklagil Bitkilerinde Nodül Oluşturma ve Azot Bağlama Potansiyellerinin Araştırılması. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Erzurum.
- Poinar GO, 1978. Identification of the Groups of Insect Pathogens, Plenum Pres, New York.

- Sarioğlu G, 1994. Biyolojik Azot Tespiti. *Kökem Dergisi* 17 (2): 17–21.
- Saygılı H, 1995. Fitobakteriyoloji. Ege Üni. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Ders Kitabı. Doğruluk Matbaası, Bornova-İZMİR.
- Sezen K ve Demirbağ Z, 2007. Adi Mayıs Böceği (*Melolontha melolontha*, Coleoptera: Scarabaeidae)' nin Biyolojik Kontrol Ajanının Araştırılması., Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, TRABZON. *Ekoloji Dergisi* 16 (63): 34–40.
- Thiery I and Frachon E, 1997. Identification, Isolation, Culture and Preservation of Entomopathogenic Bacteria. In: Lacey AL (ed), Manual of Techniques in Insect Pathology, Academic Press, London, 55–73.
- Ünal G, 1998. Zirai Mücadele İlaçları Toksikolojisi ve Çevre, Ankara Zirai Mücadele Enstitüsü Seminer Notları, Ankara.
- Yüksel B, 1998. Doğu Ladini (*Picea orientalis* (L) Link.) Ormanlarda Zarar Yapan Böcek Türleri İle Bunların Yırtıcı ve Parazitleri -1 (Zararlı böcekler), Doğu Karadeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü, Yayın No: 4, Teknik Bülten No: 4 Trabzon.
- Yüksel B, Koçyiğit M, Keskin S ve Kostak H, 2003. *Ips sexdentatus*'a Karşı Biyolojik Mücadele Olanakları, Doğu Karadeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü, Çevre ve Orman Bakanlığı Yayın No: 198, Teknik Bülten No:13, Trabzon, 19s.
- Sasser M, 2001. Identification of bacteria by gas chromatography of cellular fatty Acids. MIDI Labs Incorporated Technical Note#101, p. 1–6.
- Velazquez E, Miguel de T, Poza M, Rivas R, Rossello-Mora R and Villa TG, 2004. *Paenibacillus favisporus* sp. Nov., a xylanolytic bacterium isolated from cow faeces. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 54: 59- 64.
- Wilkinson T, 2001. Disloyalty and treachery in bug-swapping shocker. *Trends Ecol* 16 659–661.
- De Vries EJ, Van Der Wurff AWG, Jacobs G and Breeuwer JAJ, 2008. Onion thrips, *Thrips tabaci*, have gut bacteria that are closely related to the symbionts of the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *J Insect Sci*.
- Woodward DL, 2005. Identification and characterization of *Shigella boydii* 20 serovar nov., a new and *Shigella* serotype. *J Med Microbiol* 54: 741–748.
- Xiang H, Wei K, 2006. Microbial communities in the larval midgut of laboratory and field populations of cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*). *Can J Microbiol* 52 (11): 1085–1092.
- Yılmaz H, Sezen K, Katı H and Demirbağ Z, 2006. The first study on the bacterial flora of the European spruce bark beetle, *Dendroctonus micans* (Coleoptera: Scolytidae). *Biologia Bratislava* 61(6): 679–686.
- Zhang Z and Yuen GY, 1999. Biological control of bipolaris sorokiniana on tall fescue by *Stenotrophomonas maltophilia* strain C3. *Phytopathology* 89 (9): 817–22.