

## Bakterilerin Yüzük Kelebeği *Malacosoma neustria* L. (Lepidoptera:Lasiocampidae)'nın Biyolojik Mücadelesinde Kullanımı\*

Fatih DADAŞOĞLU<sup>1</sup>

Fikrettin ŞAHİN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 04100, Ağrı (f-dadas@hotmail.com)

<sup>2</sup>Yeditepe Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, 34755, İstanbul

Geliş Tarihi : 04.02.2011

Kabul Tarihi : 11.03.2011

**ÖZET:** Bu çalışmada; bazı bitkilerde zararlı olan *Malacosoma neustria* (Yüzük kelebeği)'ya karşı bakterilerin biyolojik mücadelede kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bu amaçla farklı zararlılardan izole edilen toplam 25 bakteri izolatu bazı klasik (morfolojik, biyokimyasal vs.) ve moleküler yöntemler (Mikrobiyal Tanılama Sistemi ve Biolog Mikroplate Sistemi) kullanılarak tanımlanmıştır. İzole edilen bakteri izolatlarının tamamı laboratuvar koşullarında test edilmiştir. Toplam 25 bakteriyel izolatu sadece üçünün (*Brevibacillus brevis* FD-1, *Bacillus lentimorbus* RK-340, *Bacillus pumilus* FD-3) *M. neustria* larvalarında % 20,4 ve % 89,95 arasında değişen oranda insektisidal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Diğer izolatların ise, istatistiksel olarak önemli bir etkiye sahip olmadığı saptanmıştır. Laboratuvar koşullarında etkili olduğu belirlenen bakteri izolatlarından üçü daha sonra tarla koşullarında da test edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre test edilen bakteri izolatlarının uygulama yapılan zararlı larva popülasyonu üzerinde kontrole göre yaklaşık olarak % 23-31 oranında ölümcül etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, seçilen bu üç bakteri izolatu daha sonra yapılacak toksikoloji çalışmaları ile insan ve çevre sağlığı açısından risk oluşturmadığının belirlenmesi durumunda *M. neustria*'nın biyolojik mücadelesinde kullanılabilceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Biyolojik Kontrol, Biyopestisitler, *Brevibacillus brevis*, *Malacosoma neustria*.

### Use of Bacteria in Biological Control of *Malacosoma neustria* L. (Lepidoptera: Lasiocampidae)

**ABSTRACT:** In this study, biological control of *Malacosoma neustria* (ring butterfly) was investigated by using bacteria. For this reason, a total 25 bacterial strains isolated from various pests were identified by traditional methods (morphological, biochemical, etc), and molecular methods (Microbial Identification System and Biolog Microplate System). All bacteria strains were tested in bioassay against the pest in laboratory conditions. Of the 25 bacterial strains, three strains (*Brevibacillus brevis* FD-1, *Bacillus lentimorbus* RK-340, *Bacillus pumilus* FD-3) were determined to have insecticidal activity against *M. neustria* which killed %20,4 and %89,95 larvae treated. Others strains were found to have no statistically significant insecticidal activity against *M. neustria*. Potential of three preselected bacterial strains based on laboratory tests were also tested in field conditions. The results showed that approximately 23–31% of the larvae treated with the preselected bacterial strains were killed in the field conditions compared with control. Therefore, the data in the present study suggested that these three bacterial strains can be used for biological control of *M. neustria* in the case of further studies will provide an evidence that bacterial strains selected are nonhazardous for human and environment.

**Keywords:** Biological control, Biopesticides, *Brevibacillus brevis*, *Malacosoma neustria*.

### GİRİŞ

*Malacosoma* (Lepidoptera: Lasiocampidae) türleri, dünyanın hemen her yerinde ekonomik boyutta zararlılara neden olan en önemli türler arasında yer almaktadır (Beisner ve Mayer, 1999). *M. neustria*'da bu türlerden biri olup ülkemizde özellikle elma, armut, vişne gibi bazı meyve ağaçları ile çeşitli çalı gruplarında ve orman ağaçlarında görülen önemli zararlılardan biridir (Çoruh ve Özbek 2002; Aslan vd., 2005). Zararlının tırtıl döneminin çok yoğun olduğu zamanlarda ağaçları tamamen yapraksız hale getirdiği, tırtıl döneminin tamamlanmasından sonra ise ağaçların yapraklarını yeniden çıkardığını ancak bu durumun meyve ağaçlarının zayıflamasına ve önemli ölçüde ürün kaybına sebep olduğu bildirilmektedir (Özbek vd., 1995; Çanakçıoğlu ve Mol, 1998). Zararlı ile mücadelede önceleri kimyasal mücadele yaygın bir şekilde kullanılmakta olup son zamanlarda bazı virüs ve bakteriler gibi entomopatojenlerin kullanıldığı biyolojik mücadeleye ağırlık verilmiştir (Jankevica ve Zarins 1997; Yaman vd., 2002, 2003; Aslan vd., 2005).

Bu çalışmada; değişik böcek türlerinden yapılan izolasyonlar sonucunda elde edilen bakterilerin MIS ve BIOLOG sisteminde tanısı yapılarak bazı morfolojik ve biyokimyasal özellikleri belirlenmiş ve bu bakteri izolatlarının *M. neustria*'ya karşı biyolojik mücadelede kullanılabilirliği test edilmiştir.

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### Hastalıklı ve ölmüş böceklerin toplanması

Bu çalışmada; 2006-2007 yıllarında Erzurum ili ve çevresinde pestisit uygulanmayan alanlarda yetiştirilen farklı kültür bitkilerindeki zararlıların hastalıklı ve ölmüş örnekleri toplanarak etiketlenmiş ve araç soğutucu kiti içerisinde laboratuvara getirilmiştir.

#### Bakterilerin izolasyonu, saflaştırılması ve muhafazası

Makroskopik incelemeler sonucunda ölü ve hastalıklı olabileceğinden şüphelenilen böcekler önce %95'lik etil alkol ile yüzeysel sterilizasyon

\* Yüksek lisans tezinin bir bölümünü içermektedir.

yapıldıktan sonra, bakteriyel organizmalar için standart besi yerleri (NA= Nutrient Agar, TSA= Tryptic Soy Agar (Lelliot ve Stead, 1987) kullanılarak izolasyon yapılmıştır. Kültürler 25-30°C'de inkübasyona konularak, gelişen her bir koloniden yeniden ekim yapılmış ve saf kültürler elde edilmiştir. Saflaştırılan her bir izolat daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere içerisinde 500 µl %30'luk glycerol ve 500 µl LB (Lauryl Broth) bulunan eppendorf tüplere aktarılıp etiketlenmiş ve -80°C'de muhafaza edilmiştir.

#### **Bakteriyel izolatların aşırı duyarlılık (Hypersensitivity reaction (HR)) testleri**

Bakteriyel izolatların bitkilerde patojen olup olmadıklarını belirlemek amacı ile HR testi yapılmıştır. Saflaştırılan bakteri izolatları NA besiyerine çizilerek inkübasyona bırakılmıştır. 24 sa'lık kültürlerden alınarak sdH<sub>2</sub>O içerisine aktarılan bakteriler vorteks cihazında karıştırılmıştır. Hazırlanan karışımın konsantrasyonu 10<sup>8</sup> hücre/ml'ye ayarlanmıştır. Elde edilen solüsyondan steril şırınga ile 2 cc'lik alınarak tütün (*Nicotina tabacum* L. var. Samsun) yapraklarının damarları arasına enjekte edilmiştir. Uygulama yapılan bitkiler bitki büyüme kabinlerinde uygun şartlarda 24-48 sa süreyle bekletilerek, inokulasyonun yapıldığı bölgelerde ölü doku (nekroz) oluşup oluşmadığı takip edilmiştir. Ölü doku oluşturan izolatlar HR pozitif (+), oluşturmayanlar ise HR negatif (-) olarak değerlendirilmiştir. Kontrol olarak ise sdH<sub>2</sub>O kullanılmış olup test aynı şartlarda 3 kez tekrar edilmiştir (Klement ve Goodman 1967).

#### **Bakteriyel izolatların morfolojik ve biyokimyasal testleri**

(Saygılı vd., 2006)'e göre bakteriyel izolatların morfolojik (hareket, hücre şekli ve koloni şekli) ve biyokimyasal (Gram reaksiyon, amilaz, katalaz, arginine dehidrolase, nitrat üretimi ve oksidaz testleri) testler uygulanarak her iki açıdan sahip oldukları özellikler belirlenmiştir.

#### **Bakteriyel izolatların MIS ve BIOLOG ile tanısı**

Saflaştırılan bakteri izolatları yağ asidi profillerine göre Mikrobial Identification system=MIS (MIDI, Inc., Newark, DE) kullanılarak tanılanmıştır (Miller ve Berger, 1985). Ayrıca bakteriler metabolik enzim profillerine göre de Biolog mikropate system (Biolog Inc., Hayward, CA) kullanılarak tanılanmıştır (Garland ve Mills, 1991).

#### **Laboratuvar şartlarında bakterilerin insektisidal etkilerinin test edilmesi**

*M. neustria*'nın birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü dönem larvaları için yapılan laboratuvar denemelerinde NA ve Nutrient Broth (NB) besiyeri kullanılmıştır. NA besi yerinde kültüre alınan potansiyel biyokontrol bakteri izolatları 24 sa süreyle 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen bakteri kültürlerinden steril öze ile alınarak NB besi yeri içerisine konulmuş ve 24 sa yatay çalkalayıcıda bekletilmiştir. Bu süspansiyonların konsantrasyonu turbidimetre cihazı ile 10<sup>8</sup> hücre/ml bakteri olarak ayarlanmıştır. Hazırlanan solüsyonlar steril püskürtme şişelerine aktarılmış ve petri kapları içerisinde bulunan taze konukçu yapraklarına ve larvalar üzerine sprey edilmiştir. Her bir petriye 20 larva konulmuş ve denemeler üç tekerrürlü olarak yapılmıştır. Kontrol olarak hem besi yeri hem de sdH<sub>2</sub>O kullanılmıştır. Tüm petriler desikatörlere aktarılıp, 24 saat aralıklarla 7 gün takip edilmiş ve böylece, zamana bağlı olarak zararlı ölüm oranı saptanmak suretiyle patojenlerin laboratuvar koşullarındaki etkinlikleri belirlenmiştir (Aslan vd., 2005).

#### **Arazi şartlarında bakterilerin insektisidal etkilerinin test edilmesi**

*M. neustria*'ya karşı yapılan arazi denemelerinde laboratuvar sonuçlarına göre en etkili olan 3 bakteriyel izolat kullanılmıştır. Bakteriler NA besi yerinde kültüre alınarak 24 sa süreyle 25°C'de tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen bakteri kültürlerinden steril öze ile alınarak NB besi yeri içerisine konulmuş ve 24 sa çalkalayıcı inkübatörde bekletilmiştir. Bu süspansiyonların konsantrasyonu turbidimetre cihazı ile 10<sup>8</sup> hücre/ml bakteri olarak ayarlanıp steril püskürtme şişelerine aktarılmıştır. Arazi denemesi için Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi bahçesinde ki kuşburnu bitkileri ve elma ağaçları kullanılmıştır. Bu amaçla 3 bakteri izolatı ve kontrol uygulaması için deneme 3 tekerrürlü olarak kurulmuş ve her tekerrür için bir dal kullanılmıştır. Denemede kullanılan zararlı larvaları Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi kampusunda ve deprem araştırma merkezi bahçesinde bulunan kuşburnu bitkilerinden toplanarak polietilen poşetler içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Her bir tekerrür için 50 larva sayılarak dallara aktarılmış ve hazırlanan bakteri solüsyonları böcekler ve dallar üzerine püskürtülerek uygulamanın yapıldığı kısımlar tül ile sarılmıştır. Dallar her bir bakteri izolatını belirten etiketler ile etiketlenmiştir. Kontrol olarak sdH<sub>2</sub>O kullanılmıştır. Uygulamanın yapıldığı dallar 24 saat aralıklarla 7 gün takip edilmiş böylece, zamana bağlı olarak zararlı ölüm oranı saptanmış ve patojenlerin arazi koşullarındaki etkinlikleri belirlenmiştir.

### Sonuçların analizi

Laboratuvar ve arazi koşullarında yapılan çalışmalardan elde edilen veriler varyans analizine (ANOVA) göre değerlendirilmiştir (P<0.05). Muamele ortalamaları arasındaki istatistikî farkların önem dereceleri DUNCAN analizine göre saptanmıştır.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

İzolasyonu ve saflaştırılması yapılan toplam 25 bakteri izolatının HR, morfolojik ve biyokimyasal test sonuçları Çizelge 1’de verilmiştir. Test edilen izolatların tamamının HR test sonuçları negatif olarak belirlenmiştir. Morfolojik testlerde bütün izolatların hareketli olduğu ancak hücre ve koloni şekli açısından izolatlar arasında farklılıkların olduğu gözlenmiştir. Biyokimyasal testler sonucunda ise; tüm izolatların katalaz pozitif ve arginine dehidrolase negatif olduğu ancak diğer testlerde izolatlar arasında farklılık olduğu belirlenmiştir. Toplam 25 bakteri izolatı içerisinde MIS tanı sonucuna göre 16, BIOLOG tanı sonucuna göre ise 18 farklı bakteri türü olduğu belirlenmiş olup sonuçlar Çizelge 2’de verilmiştir. Bu iki tanı sistemi sonuçları arasında bazı türlerde hatta cins düzeyinde bile tam bir uyumun olmadığı görülmüştür. MIS ve BIOLOG sistemleri bazı türlerin tanısında kesin sonuç verirken bazılarının tanısında ise kesin sonuç vermediği ve sonuçların alternatif yöntemlerle desteklenmesi gerektiği bilinmektedir (Kotan vd., 2006). Yapılan izolasyonların MIS tanı sonucuna göre %60’ı, BIOLOG tanı sonucuna göre ise %28’i *Bacillus* cinsine dahildir. Daha önce yapılmış olan bir çok çalışmada da bu cinse dahil bakterilerin entomopatojenlerin önemli bir kısmını oluşturduğu tespit edilmiştir (Sezen ve Demirbağ 1999; Aslan vd., 2005; Cavados vd., 2005).

Bu çalışmada laboratuvar şartlarında kullanılan 25 farklı bakteri türünden 3 tanesinin *M. neustria*’ya karşı insektisidal etkiye sahip olduğu diğer izolatların ise istatistiksel olarak önemli herhangi bir etkiye sahip olmadığı tespit edilmiş ve sonuçlar Çizelge 3’de verilmiştir. Etkili bulunan izolatlar *Brevibacillus brevis*, *Bacillus lentimorbus* ve *Bacillus pumilus* GC subgroup B olup; etkinlikleri sırasıyla %89,95, %38,55 ve %20,4’den ibarettir. Öte yandan bakterilerin zararlıya karşı aktiviteleri birinci günde başlamış olup her geçen gün artarak devam etmiştir.

Arazi şartlarında yapılan denemede elde edilen sonuçlar Grafik 1’de verilmiştir. Bu sonuçlara göre; 1. günde 2 bakteriyel izolatın (*Brevibacillus brevis* ve *Bacillus lentimorbus*) geride kalan 6 gün içinde ise bakteriyel izolatların hepsinin *M. neustria*’daki % ölüm oranlarına göre kontrolle karşılaştırıldığında insektisidal aktiviteleri istatistikî olarak önemli bulunmuştur. Yedinci günün sonunda *Brevibacillus brevis*, *Bacillus pumilus* GC subgroup B ve *Bacillus lentimorbus* bakterilerinin % ölüm oranları sırasıyla, %31,32, %26,66 ve %23,32 olarak bulunmuştur.

Daha önce yapılan bazı çalışmalarda *M. neustria*’nın biyolojik mücadelesinde *Bacillus* ve *Brevibacillus* cinslerine ait bakteriler kullanılarak başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Aslan vd., 2005; Katı vd., 2009). Bu çalışmada da zararlıya karşı etkili olan 3 bakteri izolatından birisi *Brevibacillus* cinsine ait olup diğer iki bakteri türünün (*Bacillus pumilus* GC subgroup B ve *Bacillus lentimorbus*) *M. neustria*’nın biyolojik mücadelesinde kullanıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ayrıca bu zararlıya karşı yapılan biyolojik mücadele çalışmaları genellikle laboratuvar koşullarında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada arazi çalışmasına yer verilmiş olması bu çalışmayı diğer birçok benzer çalışmadan önemli ve farklı kılmaktadır.

Bakteriyel izolatların laboratuvar koşullarında etkinlikleri daha yüksek olmuştur. Gerek laboratuvar gerekse arazi şartlarında yapılan denemeler dikkate alındığında biyopestisit olarak kullanılan organizmaların laboratuvar koşullarında yüksek oranda başarı göstermesine rağmen arazi koşullarında aynı etkiyi gösteremedikleri zaten bilinmektedir (Sabbour ve Abbass., 2007). Bunun sebebinin laboratuvar koşullarında bakteriler için sıcaklık ve nem gibi önemli çevre faktörleri optimum iken arazide farklı çevre şartlarının biyokontrol ajanlarının etkinliğini azalttığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, hem laboratuvar hem de arazi şartlarında farklı oranlarda insektisidal etkiye sahip olan üç bakteri izolatının daha sonra yapılacak toksikoloji çalışmaları ile insan ve çevre sağlığı açısından risk oluşturmadığının belirlenmesi durumunda *M. neustria*’nın biyolojik mücadelesinde kullanılabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 1. Bakterilerin aşırı duyarlılık, morfolojik ve biyokimyasal test sonuçları

İzolat no	HR	Morfolojik testler			Biyokimyasal testler						
		Hareket	Hücre şekli	Koloni şekli (YDC'de)	KOH	A	K	AD	N	O	
İK-47	-	Hareketli	Eliptik	Portakal sarı	+	Z+	+	-	+	-	
İK-39	-	Hareketli	Eliptik	Portakal sarı	+	-	+	-	-	-	
İK-38	-	Hareketli	Çubuk	Krem	-	Z+	+	-	+	+	
İK-37	-	Hareketli	Çubuk	Krem	-	Z+	+	-	+	+	
İK-12	-	Hareketli	Çubuk	Krem	+	Z+	+	-	+	-	
İK-15	-	Hareketli	Eliptik	Portakal sarı	+	-	+	-	-	-	
İK-80	-	Hareketli	Eliptik	Portakal sarı	+	Z+	+	-	-	-	
İK-86	-	Hareketli	Eliptik	Portakal sarı	+	K+	+	-	+	+	
İK-34	-	Hareketli	Eliptik	Portakal sarı	+	Z+	+	-	+	-	
RK-334	-	Hareketli	Eliptik	Portakal sarı	+	Z+	+	-	+	-	
RK-335	-	Hareketli	Çubuk	Krem-Mukoid	-	-	+	-	+	-	
RK-336	-	Hareketli	Çubuk	Krem	-	+	+	-	+	-	
RK-337	-	Hareketli	Yuvarlak	Sarı-Mukoid	-	-	+	-	+	-	
RK-338	-	Hareketli	Yuvarlak	Sarı-Mukoid	-	-	+	-	+	-	
RK-339	-	Hareketli	Eliptik	Portakal sarı	+	K+	+	-	+	+	
RK-340	-	Hareketli	Eliptik	Portakal sarı	+	+	+	-	-	-	
RK-343	-	Hareketli	Yuvarlak	Sarı-Mukoid	-	-	+	-	+	-	
RK-344	-	Hareketli	Yuvarlak	Sarı-Mukoid	-	-	+	-	+	-	
ÖE-1	-	Hareketli	Eliptik	Portakal sarı	+	-	+	-	+	+	
ÖE-2	-	Hareketli	Eliptik	Portakal sarı	+	-	+	-	+	-	
ÖE-7	-	Hareketli	Eliptik	Portakal sarı	+	Z+	+	-	-	-	
C4	-	Hareketli	Eliptik	Portakal sarı	+	K+	+	-	-	-	
FD1	-	Hareketli	Çubuk	Krem	+	+	+	-	+	-	
N1	-	Hareketli	Eliptik	Portakal sarı	+	-	+	-	+	-	
FD3	-	Hareketli	Eliptik	Portakal sarı	+	-	+	-	-	-	

HR: Aşırı duyarlılık testi, KOH: Potasyum hidroksil testi, A: Amilaz testi, K: Katalaz testi, AD: Arginin üretim testi, N: Nitrat üretimi testi, O: Oksidaz testi, -: Negatif sonuç, +: Pozitif sonuç, K\*: Kuvvetli pozitif sonuç, Z\*: Zayıf pozitif sonuç

Çizelge 2. Bakterilerin MIS ve BIOLOG tanı sonuçları

İzolat no	MIS tanı sonuçları	MBI %	Biolog tanı sonuçları	BBI %
RK-343	<i>Acinetobacter baumannii</i>	68	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	59
RK-337	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	48	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	70
RK-338	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	53	<i>Acinetobacter</i> genospecies 11	59
RK-344	<i>Acinetobacter radioresistens</i>	73	<i>Acinetobacter</i> genospecies 11	35
İK-34	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	57	<i>Aeromonas hydrophila</i>	61
ÖE-7	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	37	<i>Bacillus cereus</i>	94
İK-80	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	79	<i>Bacillus mycoides</i>	85
RK-340	<i>Bacillus lentimorbus</i>	50	<i>Bacillus mycoides</i>	82
İK-47	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	83	<i>Bacillus mycoides</i>	42
RK-334	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	56	<i>Bacillus subtilis</i>	33
ÖE-2	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup B	43	<i>Bacillus subtilis</i>	66
İK-15	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	59	<i>Bacillus subtilis</i>	28
FD3	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	64	<i>Brevundimonas vesicularis</i>	82
İK-39	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	61	<i>Burkholderia caryophyllii</i>	32
ÖE-1	<i>Bacillus sphaericus</i> GC subgroup III	45	<i>Carnobacterium alterfunditum</i>	30
RK-339	<i>Bacillus subtilis</i>	76	<i>Deinococcus proteolyticus</i>	80
İK-86	<i>Bacillus subtilis</i>	52	<i>Haemophilus segnis</i>	64
C4	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	76	<i>Microbacterium testaceum</i>	79
N1	<i>Bacillus thuringiensis kenyae</i>	70	<i>Micrococcus luteus</i>	79
FD1	<i>Brevibacillus brevis</i>	23	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	59
RK-335	<i>Enterobacter intermedius</i>	24	<i>Pseudomonas marginalis</i>	23
İK-38	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	90	<i>Pseudomonas spinosa</i>	51
İK-37	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	89	<i>Pseudomonas spinosa</i>	29
İK-12	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	76	<i>Rhodococcus rhodochrous</i>	24
RK-336	<i>Serratia fonticola</i>	31	<i>Serratia fonticola</i>	35

**MBI:** MIS benzerlik indeksi, **BBI:** BIOLOG benzerlik indeksi

**Çizelge 3.** Laboratuvar koşullarında bakteri uygulaması yapılan *M. neustria* larvalarında günlere göre ölüm oranları.

İzolot no	Uygulamalar	Ortalama ölü böcek sayıları*										% Ölüm oranı***	
		1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	7. gün	Ortalamalar**				
	Kontrol sdH <sub>2</sub> O	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00
	Kontrol NB	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00
FD-1	<i>Brevibacillus brevis</i>	13.0 <sup>b</sup>	15.0 <sup>b</sup>	18.66 <sup>c</sup>	19.33 <sup>c</sup>	20.0 <sup>e</sup>	20.0 <sup>d</sup>	20.0 <sup>e</sup>	14.33 <sup>d</sup>	17.99±1.07 <sup>d</sup>	89.95		
RK-340	<i>Bacillus lentimorbus</i>	1.66 <sup>ab</sup>	2.0 <sup>a</sup>	5.66 <sup>b</sup>	8.33 <sup>d</sup>	10.33 <sup>d</sup>	11.66 <sup>c</sup>	11.66 <sup>c</sup>	7.71±1.82 <sup>c</sup>	38.55			
FD-3	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.33 <sup>a</sup>	3.0 <sup>c</sup>	4.66 <sup>c</sup>	9.0 <sup>b</sup>	11.66 <sup>c</sup>	4.08±1.75 <sup>b</sup>	20.4			
İK-37	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.33 <sup>a</sup>	0.66 <sup>ab</sup>	0.66 <sup>ab</sup>	0.66 <sup>a</sup>	0.66 <sup>ab</sup>	0.42±0.11 <sup>a</sup>	2.1			
İK-47	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.33 <sup>a</sup>	0.33 <sup>a</sup>	0.33 <sup>a</sup>	0.33 <sup>a</sup>	0.33 <sup>ab</sup>	0.23±0.60 <sup>a</sup>	1.15			
C4	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	0.0 <sup>a</sup>	0.66 <sup>a</sup>	0.66 <sup>a</sup>	1.33 <sup>b</sup>	1.33 <sup>b</sup>	1.33 <sup>a</sup>	1.33 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00			
İK-39	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00			
İK-38	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00			
İK-12	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00			
İK-15	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00			
İK-80	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00			
İK-86	<i>Bacillus subtilis</i>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00			
İK-34	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00			
RK-334	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00			
RK-335	<i>Enterobacter intermedius</i>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00			
RK-336	<i>Serratia fonticola</i>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00			
RK-337	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00			
RK-338	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00			
RK-339	<i>Bacillus subtilis</i>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00			
RK-343	<i>Acinetobacter baumannii</i>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00			
RK-344	<i>Acinetobacter radioresistens</i>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00			
ÖE-1	<i>Bacillus sphaericus</i> GC subgroup III	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00			
ÖE-2	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup B	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00			

Aynı sütun üzerinde farklı harfler ile gösterilen değerler arasındaki farklılıklar DUNCAN testine göre istatistik olarak önemli bulunmuştur (P<0.05).

\* Ortalama ölü böcek sayıları: Deneme her bakteri uygulaması ve kontroller için 3 tekrerrürlü olarak yapılmıştır. Bir hafta boyunca

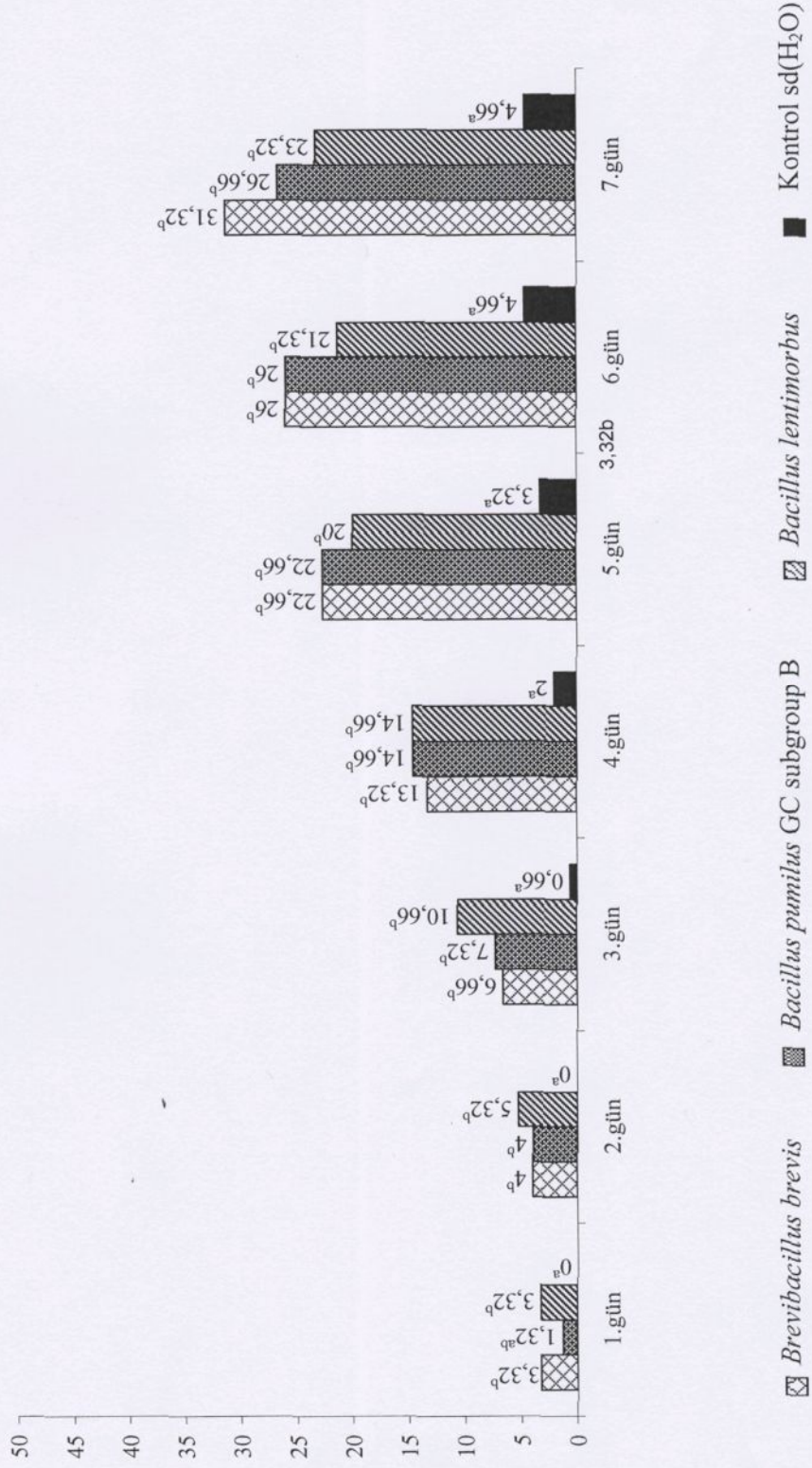
her tekrerrürlü sonuçlar ayrı gün alınarak aynı gün içindeki ortalamaları saptanmıştır.

\*\* Ortalamalar: Bir hafta boyunca her gün için hesaplanan ortalamalardan elde edilen sonuçların ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır.

\*\*\* % Ölüm oranı: Bir haftalık değerlendirmenin sonucunda elde edilen ortalamalar yüzde (%) olarak hesaplanmıştır. Aynı sütun üzerinde farklı harfler ile gösterilen değerler arasındaki farklılıklar DUNCAN testine göre istatistik olarak önemli bulunmuştur (P<0.05).

\* Ortalama ölü böcek sayıları: Deneme her bakteri uygulaması ve kontroller için 3 tekrerrürlü olarak yapılmıştır. Bir hafta boyunca her tekrerrürlü sonuçlar ayrı gün alınarak aynı gün içindeki ortalamaları saptanmıştır.

Grafik 1. Arazi şartlarında bakteri uygulaması yapılan *M. neustria* larvalarında günlere göre ölüm oranları



\* Aynı gün içerisinde farklı harfler ile gösterilen değerler arasındaki farklılık farklılık DUNCAN testine göre istatistik olarak önemli bulunmuştur (P<0.05)

**TEŞEKKÜR:** Yapılmış olan bu çalışmanın her aşamasında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Recep KOTAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

#### KAYNAKLAR

- Aslan, İ., S. Coruh, H. Ozbek, M. Yaman ve F. Şahin, (2005). *Brevibacillus agri*, a pathogenic bacterium of *Malacosoma neustria* (Lepidoptera: Lasiocampidae) Fresenius Environmental Bulletin 14: 98-100.
- Beisner, B.E. and J.H. Mayer, (1999). Population density and transmission of virus in experimental populations of the western tent caterpillar (Lep. Lasiocampidae). Environmental Entomology, 23: 1107-1113.
- Cavados, C.F.G. R.N.Fonseca, J.Q. Chaves, C.J.P. Araujo-Coutinho and L. Rabinovitch, (2005). A new black fly isolate of *Bacillus thuringiensis* autoagglutinating strain highly toxic to *Simulium pertinax* (Kollar) (Diptera, Simuliidae) larvae. Mem. Inst. Oswaldocruz, Riodejanerio, Vol. 100: 795-797.
- Çanakçıoğlu, H. ve T. Mol, (1998). Orman entomolojisi. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, No: 3623. 451 s.
- Çoruh, S. ve H. Özbek, (2002). Erzurum yöresinde *Malacosoma neustria* (L.) (Lepidoptera: Lasiocampidae)'nın biyolojisi, konukçuları ve zararı üzerine bir araştırma. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg., 33: 283-287.
- Garland, J. L. and A. L. Mills, (1991). Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level-sole-carbon-source utilization. Appl. Environ. Microbiol. 57: 2351-2359.
- Jankevica, L. and Zarins, I. 1997. Biological control of *Malacosoma neustria* L population with Latvian isolate of nuclear polyhedrosis virus. Microbial Insecticides: Novelty Or Necessity, 68: 285-288.
- Kati, H., Ince, İ.A., Sezen, K., İsci, S. ve Demirbağ, Z. 2009. Characterization of two *Bacillus thuringiensis* ssp. *morrisoni* strains isolated from *Thaumatococcus pinnatifidus* (Lep., Thaumetopoeidae). Biocontrol Science And Technology, 19: 475-484.
- Klement, Z. and R.N. Goodman 1967. Hypersensitive reaction to infection by bacterial plant pathogens. Annual Review Of Phytopathology, 5: 17- &
- Kotan, R., Şahin, F. ve Ala, A., 2006. Identification and pathogenicity of bacteria isolated from pome fruit trees in the Eastern Anatolia region of Turkey. Journal of Plant Diseases and Protection. s. 8-13.
- Lelliot, R.A. and D.E. Stead, (1987). Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. Black Well Scientific. Puplicaton, 157, Oxford.
- Miller, I. and T. Berger, (1985). Bacteria Identification by Gas Chromatography of Whole Cell fatty acids. Hewlett Packard Gas Chromatography Application Note, Hewlett Packard Co., Alto, CA. 228-238.
- Özbek, H., Güçlü, Ş., Hayat, R. ve Yıldırım, E. (1995). Meyve bağ ve bazı süs bitkileri zararlıları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:323. 357 s.
- Sabbour, M.M. and Abbass, M.H. 2007. Efficacy of some microbial control agents against onion insect pests in Egypt. Egyptian Journal of Biological Pest Control. 17(1-2), 35-40.
- Saygılı, H., Şahin, F. ve Aysan, Y. 2006. Fitobakteriyoloji. Ege Üniv. Yayınları No:9944-5882-0-2, İzmir.
- Sezen, K. ve Z. Demirbağ, (1999). Isolation and insecticidal activity of some bacteria from the hazelnut beetle (*Balaninus nuceum* L.). Appl. Entomol. Zool. 34: 85-89.
- Yaman, M, Ö. Ertürk ve Z. Demirbağ, (2002). Studies of bacteria as microbial control agents of the lackey moth, *Malacosoma neustria* (Lepidoptera: Lasiocampidae) in Turkey. Polish Academy of Sciences: Biological Sciences, 50: 207-211.
- Yaman, M, Z. Demirbağ, R. Nalçacıoğlu ve O. Beldüz, (2003). A nuclear polyhedrosis virus of the lackey moth, *Malacosoma neustria* (Lepidoptera: Lasiocampidae) in Turkey. IOBC/wprs Bulletin, 26: 233-236.