

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**MISIR KOÇAN KURDU (*SESAMIA NONAGRIODES* LEFÈBVRE,
LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)'NUN BAKTERİYEL MÜCADELE ETMENİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyolog Ardahan ESKİ

**MAYIS 2013
TRABZON**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**MISIR KOÇAN KURDU (*SESAMIA NONAGRIODES* LEFÈBVRE,
LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)'NUN BAKTERİYEL MÜCADELE ETMENİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Biyolog Ardahan ESKİ

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
“YÜKSEK LİSANS (BİYOLOJİ)”
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 30. 04. 2013
Tezin Savunma Tarihi : 23. 05. 2013**

Tez Danışmanı: Doç. Dr. İsmail DEMİR

Trabzon 2013

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalında
Ardahan ESKİ tarafından hazırlanan**

**MISIR KOÇAN KURDU (*SESAMIA NONAGRIOIDES* LEFÈBVRE,
LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)'NUN BAKTERİYEL MÜCADELE ETMENİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 07.05.2013 gün ve 1504/01 sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak kabul edilmiştir.**

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Mahmut EROĞLU

Üye : Doç. Dr. İsmail DEMİR

Üye : Doç. Dr. Kazım SEZEN

Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

"Mısır Koçan Kurdu (*Sesamia nonagrioides* Lefèbvre, Lepidoptera: Noctuidae)'nun Bakteriyel Mücadele Etmeninin Araştırılması" isimli bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda "Yüksek Lisans Tezi" olarak hazırlanmıştır.

Yüksek Lisans tez danışmanlığımı üstlenerek, gerek konu seçimi gerekse çalışmalarım sırasında beni yönlendiren, her türlü desteği ve imkanı sağlayarak değerli bilgilerinden yararlandırım hocam sayın Doç. Dr. İsmail DEMİR'e, laboratuvarında maddi manevi imkanlarını esirgemeyen hocam sayın Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ'a, laboratuvar çalışmalarım sırasında göstermiş oldukları ilgiden dolayı Doç. Dr. Kazım SEZEN, Doç. Dr. Remziye NALÇACIOĞLU, çalışmalarım ile yakından ilgilenen ve yardımlarda bulunan Yrd. Doç. Dr. Hacer MURATOĞLU'na, Duygu BEKİRCAN'a ve tüm laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ayrıca böcek örneklerinin temininde yardımlarını esirgemeyen Adana Biyolojik Mücadele Araştırma İstasyonu Müdürlüğü'nden Dr. Mustafa GÜLLÜ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince laboratuvar imkanlarından yararlanmamı sağlayan Biyoloji Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Asım KADIOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında 8761 kodlu proje aracılığı ile maddi destek sağlayan KTÜ BAP Birimine teşekkür ederim.

Son olarak, maddi ve manevi desteklerini daima üzerimde hissettiğim, beni yetiştiren ve bugün olduğum yeri borçlu olduğum fedakar aileme teşekkürlerimi sunarım.

Ardahan ESKİ
Trabzon 2013

TEZ BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Mısır Koçan Kurdu (*Sesamia nonagrioides* Lefèbvre, Lepidoptera: Noctuidae)’nun Bakteriyel Mücadele Etmeninin Araştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Doç. Dr. İsmail DEMİR’in sorumluluğunda tamamladığımı, örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 30/04/2013

Ardahan ESKİ

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	III
TEZ BEYANNAMESİ	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET.....	VIII
SUMMARY	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLolar DİZİNİ	XI
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	XII
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş	1
1.2. Mısır Bitkisi ve İnsan Hayatındaki Yeri.....	3
1.3. Mısır Bitkisinin Dünya ve Türkiye Ekonomisindeki Yeri	4
1.4. Türkiye’de Mısır Tarımının Genel Sorunları	7
1.4.1. Yabancı Otlar.....	8
1.4.2. Hastalıklar.....	8
1.4.3. Zararlı Böcekler	8
1.5. Mısır koçankurdu <i>Sesamia nonagrioides</i> (Lef., Lepidoptera: Noctuidae).....	10
1.5.1. Tanımı ve Yaşayışı	10
1.5.1.1. Ergin	10
1.5.1.2. Yumurta	11
1.5.1.3. Larva	12
1.5.1.4. Pupa	12
1.5.2. Zarar Şekli, Ekonomik Önemi ve Yayılışı	13
1.6. Zararlılar ile Mücadele Yöntemleri	14
1.6.1. Kimyasal Mücadele, Çevreye ve İnsanlara Olan Etkileri.....	15
1.6.2. Biyolojik Mücadele	17
1.6.3. Mikrobiyal Mücadelede Kullanılan Etkin Gruplar.....	18
1.6.3.1. Virüsler	18
1.6.3.2. Funguslar	19
1.6.3.3. Nematodlar	19

1.6.3.4.	Protozoonlar.....	20
1.6.3.5.	Bakteriler	20
1.6.4.	<i>Sesamia nonagrioides</i> 'in Mücadelesi	23
1.7.	Çalışmanın Amacı	27
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	28
2.1.	<i>Sesamia nonagrioides</i> 'in Toplanması.....	28
2.2.	<i>Sesamia nonagrioides</i> 'den Kültüre Edilebilir Bakterilerin İzolasyonu.....	28
2.3.	Saf Kültürlerin Hazırlanması ve Stoklanması	29
2.4.	Bakteriyel İzolatların Morfolojik ve Boyama Özelliklerinin Belirlenmesi.....	29
2.4.1.	Gram Boyama.....	29
2.4.2.	Endospor Boyama.....	29
2.5.	İzolatların Fizyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	30
2.5.1.	İzolatların Optimum Büyüme Sıcaklıklarının Belirlenmesi.....	30
2.5.2.	İzolatların pH Aralıklarının Belirlenmesi.....	30
2.5.3.	İzolatların NaCl Toleranslarının Belirlenmesi.....	31
2.6.	İzolatların Biyokimyasal Özelliklerin Belirlenmesi	31
2.6.1.	Nişasta Hidroliz Testleri	31
2.6.2.	Katalaz Testleri.....	31
2.6.3.	Oksidaz Testleri	32
2.6.4	API Test Kitleri ile Bakteriyel İzolatların Tanımlanması.....	32
2.6.4.1.	API 50 CHB Test Kiti	32
2.6.4.2	API 20 E Test Kiti	33
2.6.4.3	API of Medium Testi	33
2.6.4.4	API of M Medium Testi	34
2.6.5.	VITEK-2 Test Kitleri ile Bakteriyel İzolatların Tanımlanması.....	34
2.7.	Bakteriyel İzolatların Moleküler Özelliklerinin Belirlenmesi.....	35
2.7.1.	Genomik DNA İzolasyonu	35
2.7.2.	16S rDNA Gen Bölgesinin PCR ile çoğaltılması	35
2.7.3	<i>Bacillus</i> Cinsine Ait İzolatlarının <i>cry</i> Gen İçeriklerinin Belirlenmesi	36
2.7.4.	16S rDNA ve <i>cry</i> Gen Bölgesinin pGEM-T Vektörüne Klonlanması.....	36
2.7.5.	Kompetent Hücre Hazırlanışı	37
2.7.6.	16S rDNA ve <i>Cry</i> Gen Bölgelerinin Kompetent <i>E. coli</i> JM101'e Aktarımı.....	37

2.7.7.	Rekombinant Plazmidlerin İzolasyonu ve Restriksiyon Endonükleaz (EcoRI) ile Muamelesi.....	37
2.7.8.	Klonların İçerdiği DNA Parçalarının Baz Dizilimlerinin Belirlenmesi	38
2.7.9.	Elde Edilen Baz Dizilimlerinin İncelenmesi	39
2.7.10.	Bacillus Cinsi İzolatların Protein İçerikleri	39
2.7.10.1.	Bacillus Cinsi İzolatların Spor ve Kristal Süspansiyonlarının Hazırlanması	39
2.7.10.2.	SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi	39
2.8.	Bakteriyel İzolatların İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi	40
2.8.1	<i>S. nonagrioides</i> 'ten İzole Edilen Bakterilerin İnsektisidal Aktivite Testleri	40
2.8.2.	Yüksek Öldürücü Etkili <i>Bacillus</i> Cinsi Bakterilerin İnsektisidal Aktivite Testleri	40
2.8.3.	Farklı Doz Denemeleri	41
3.	BULGULAR.....	42
3.1.	<i>Sesamia nonagrioides</i> Larvalarından Bakteri İzolasyonu	42
3.2.	Bakteriyel İzolatların Morfolojik ve Boyama Özellikleri	42
3.3.	Bakteriyel İzolatların Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri	44
3.4.	Bakteriyel İzolatların Moleküler Özellikleri	55
3.4.1.	16S rDNA Dizileri ve Filogenetik Analizi	55
3.4.2.	<i>Bacillus</i> Cinsi İzolatların <i>cry</i> Gen İçerikleri	59
3.4.3.	<i>Bacillus</i> Cinsi İzolatların Kristal Protein Profilleri	60
3.5.	İnsektisidal Aktivite Çalışmaları	61
3.5.1.	Flora Üyelerinin <i>Sesamia nonagrioides</i> Üzerindeki İnsektisidal Etkileri	61
3.5.2.	Farklı Zararlılarından İzole Edilen <i>Bacillus</i> Cinsi İzolatların <i>Sesamia nonagrioides</i> Üzerindeki İnsektisidal Etkileri	62
3.5.3.	Farklı Doz Denemeleri	63
4.	TARTIŞMA.....	65
5.	SONUÇLAR.....	73
6.	ÖNERİLER.....	74
7.	KAYNAKLAR	75
8.	EKLER	86
ÖZGEÇMİŞ		

Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

MISIR KOÇAN KURDU (*SESAMIA NONAGRIOIDES* LEFÈBVRE, LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)'NUN BAKTERİYEL MÜCADELE ETMENİNİN ARAŞTIRILMASI

Ardahan ESKİ

Karadeniz Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İsmail DEMİR

2013, 85 Sayfa, 10 Sayfa Ek

Mısır koçan kurdu (*Sesamia nonagrioides* Lef., Lep.: Noctuidae) en önemli mısır zararlılarından biridir. Entamopatojen bakterilerin zararlı ile mücadelede kullanılmasına yönelik yapılan bu çalışmada *S. nonagrioides* larvalarından toplam 15 bakteriyel izolat elde edildi. Karakterizasyon çalışmaları sonucunda zararlının kültüre edilebilir bakteriyel florası, *Achromobacter insolitus* (Sn1), *Morganella morganii* (Sn2), *Klebsiella pneumoniae* (Sn3), *Citrobacter freundii* (Sn4), *Arthrobacter protophormiae* (Sn5), *Chryseobacterium indologenes* (Sn6), *Bacillus thuringiensis* (Sn7), *Bacillus safensis* (Sn8), *Bacillus thuringiensis* (Sn9), *Bacillus thuringiensis* (Sn10), *Klebsiella pneumoniae* (Sn11), *Staphylococcus sciuri* (Sn12), *Enterobacter kobei* (Sn13), *Serratia marcescens* (Sn14), *Microbacterium arborescens* (Sn15) olarak belirlendi. Bakteriyel flora üyeleri ile yüksek öldürücü etkiye sahip 3 *Bacillus* izolatlarının 1.89 optik yoğunlukta ve %60 nem ortamında 15 gün süre ile zararlı üzerindeki insektisidal aktiviteleri araştırıldı. Bakteriyel flora üyelerinden Sn10 ve MnD kodlu (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*) izolatları 15 gün içinde 3. evre *S. nonagrioides* larvaları üzerinde %93'lik öldürücü etkiye sahip olduğu tespit edildi. Bu izolatların *S. nonagrioides*'e karşı etkili bakteriyel mücadele etmenleri olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Mısır koçan kurdu, *Sesamia nonagrioides*, *Bacillus thuringiensis*,
Biyolojik mücadele

Master Thesis

SUMMARY

INVESTIGATION OF BACTERIAL CONTROL AGENT OF CORN STALK BORER
(*SESAMIA NONAGRIOIDES* LEFÈBVRE, LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Ardahan ESKI

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Biology Graduate Program
Supervisor: Assoc. Prof. Ismail DEMİR
2013, 85 Pages, 10 Pages Appendix

Corn stalk borer (*Sesamia nonagrioides* Lef., Lep.: Noctuidae) is one of the important pests damaging maize. In this study, use of entomopathogen bacteria against the pest was targeted, and 15 bacteria were isolated from *Sesamia nonagrioides* larvae. As a result of characterization studies, culturable bacterial flora of the pest were defined as *Achromobacter insolitus* (Sn1), *Morganella morgani* (Sn2), *Klebsiella pneumoniae* (Sn3), *Citrobacter freundii* (Sn4), *Arthrobacter protophormiae* (Sn5), *Chryseobacterium indologenes* (Sn6), *Bacillus thuringiensis* (Sn7), *Bacillus safensis* (Sn8), *Bacillus thuringiensis* (Sn9), *Bacillus thuringiensis* (Sn10), *Klebsiella pneumoniae* (Sn11), *Staphylococcus sciuri* (Sn12), *Enterobacter kobei* (Sn13), *Serratia marcescens* (Sn14), *Microbacterium arborescens* (Sn15). The insecticidal activity of bacterial flora members and *Bacillus* isolates with high lethal impact were researched at 1,89 optic density and %60 humidity. Sn10 from bacterial flora members and *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* isolates coded as MnD were identified to have the highest mortality of 93% on 3rd instar *Sesamia nonagrioides* larvae within 15 days. Sn10 and MnD isolates can be considered as effective bacterial control agents against *Sesamia nonagrioides*.

Key Words: Corn stalk borer, *Sesamia nonagrioides*, *Bacillus thuringiensis*, Biological control

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.	<i>Sesamia nonagrioides</i> 'in biyolojisi.....	11
Şekil 2.	<i>Sesamia nonagrioides</i> 'in hayat döngüsü	13
Şekil 3.	<i>Sesamia nonagrioides</i> ' in zarar şekilleri	14
Şekil 4.	Kristal proteinlerin etki mekanizması.....	22
Şekil 5.	Yumurta parazitoiti <i>Telenomus busseolae</i> Gahan (Hymenoptera: Scelionidae).....	24
Şekil 6.	API 20E test sisteminin pozitif (üstte) ve negatif (altta) sonuçları	46
Şekil 7.	API 50CHB test sisteminin pozitif (solda) ve negatif (sağda) sonuçları	46
Şekil 8.	İzolatların PCR ile çoğaltılmış 16S rDNA bölgelerinin %1'lik agaroz jel görüntüsü.....	55
Şekil 9.	16S rDNA bölgesinin Neighbor-Joining analizi ile filogenetik ağacı	58
Şekil 10.	İzolatların PCR ile çoğaltılmış <i>cry1</i> gen bölgelerinin %1'lik agaroz jel görüntüsü.....	59
Şekil 11.	İzolatların PCR ile çoğaltılmış <i>cry2</i> gen bölgelerinin %1'lik agaroz jel görüntüsü.....	60
Şekil 12.	İzolatların gümüş nitrat ile boyanmış protein profilleri	61
Şekil 13.	<i>Sesamia nonagrioides</i> 'ten izole edilen bakterilerin zararlı üzerindeki insektisidal aktiviteleri.....	62
Şekil 14.	Yüksek öldürücü etkisi bilinen <i>Bacillus</i> izolatlarının zararlı üzerindeki insektisidal aktiviteleri	63
Şekil 15.	Yüksek öldürücü etkisi belirlenen bakterilerin zararlı üzerindeki doz denemeleri.....	64

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Dünya 2011 yılı hububat üretimi	4
Tablo 2. Dünya mısır üretimi ve önemli üretici ülkeler	5
Tablo 3. Dünya mısır üretim, ticaret, tüketim ve stok miktarları	5
Tablo 4. Ülkeler Bazında Mısır Verimi.....	6
Tablo 5. İllere göre mısır ekim alanı, üretimi ve verimi	7
Tablo 6. Tespit edilmiş mısır zararlıları	9
Tablo 7. <i>Sesamia nonagrioides</i> 'in larva dönemleri ve larva gelişme süresi	12
Tablo 8. <i>B. thuringiensis cry</i> genleri ve Cry proteinlerinin etkili olduğu böcek takımları	21
Tablo 9. Mısır koçan kurdu'nun doğal düşmanları	26
Tablo 10. PCR reaksiyonu ve programı	36
Tablo 11. Yüksek öldürücü etkisi bilinen <i>Bacillus</i> izolatları	41
Tablo 12. Bakteriyel izolatların morfolojik ve boyama özellikleri	43
Tablo 13. Bakteriyel izolatların fizyolojik özellikleri	44
Tablo 14. Bakteriyel izolatların bazı biyokimyasal özellikleri.....	45
Tablo 15. Gram pozitif izolatların API 50 CHB test sonuçları	47
Tablo 16. İzolatların API 20E test sonuçları	49
Tablo 17. API sonuçları ile tanımlanan bakteriyel izolatlar	50
Tablo 18. Gram pozitif sporsuz izolatların VITEK-2 test sonuçları	51
Tablo 19. <i>Bacillus</i> cinsi izolatların VITEK-2 test sonuçları	52
Tablo 20. Gram negatif izolatların VITEK-2 sonuçları	53
Tablo 21. VITEK-2 sonuçları ile tanımlanan bakteriyel izolatlar	54
Tablo 22. İzolatların 16S rDNA dizin analizi sonuçları	56

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADH	: Arginin dehidrolaz
AMY	: Amigdalın
ARA	: Arabinoz
bp	: Baz çifti
CIT	: Sitrat
CFU	: Koloni oluşturabilen birim
DDT	: Dikloro-difenil-trikloroetan
DNA	: Deoksiribonukleik asit
GEL	: Jelatin
GLU	: Glikoz
H ₂ S	: Hidrojen sülfür
ICP	: İnsektisidal kristal proteini
IND	: İndol
INO	: İnositol
LDC	: Lisin dekarboksilaz
MAN	: Mannitol
MEL	: Melibiose
MK	: Metil kırmızısı
NPV	: Nukleopolihedrovirüs
ODC	: Ornitin dekarboksilaz
PBS	: Fosfat buffer salin
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RFLP	: Restriksiyon fragmenti uzunluk polimorfizmi
RHA	: Rhamnoz
RNA	: Ribonükleik asit
SAC	: Sukroz
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SOR	: Sorbitol
TDA	: Triptofan deaminaz
URE	: Üre
VP	: Voges proskauer

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Küresel ısınma ve yerleşim alanlarının giderek artması tarım yapılabilecek alanları oldukça azaltmıştır. İnsanoğlu bu sınırlı alandan en yüksek verimi almak zorunda kalmıştır. İnsan nüfusunun devamlı artması ile tarımsal üretime olan ihtiyaç da giderek artmış, çaprazlama deneyleri sonucu verimli ırkların üretilmesiyle bu dengelenmeye çalışılmıştır. Ancak, bu çalışmalara rağmen tarımsal zararlılardan dolayı üretim istenildiği kadar arttırılamamıştır.

Bilinen bir milyon dolayındaki böcek türünün çok az bir kısmı insanlar için ekonomik anlamda zararlara neden olmaktadır. Zararlı böceklerin neden olduğu ekonomik kayıplar en çok tarım ürünlerinde meydana gelmektedir.

Mısır bitkisi insanoğlunun kültüre aldığı en eski tarla bitkilerinden biridir. Gerek insan gıdası, gerek hayvan yemi ve gerekse endüstri hammaddesi olarak büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle mısır yetiştiriciliğindeki sorunların azaltılması veya ortadan kaldırılması önemli bir husustur.

Mısır bitkisinde üretimin düşmesindeki en önemli nedenlerden birisi zararlı böceklerdir. Gerek mısır ürününde ve gerekse de mısır bitkisinin gövde ve kökleri üzerinde birçok tarımsal zararlı yaşamaktadır. Bunlar, mısır bitkisinde çeşitli derecelerde zararlar meydana getirerek önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Mısır üretiminin yapıldığı tüm ülkelerde en önemli mısır zararlılarından biri Mısır koçan kurdu (*Sesamia nonagrioides* Lef., Lepidoptera: Noctuidae)'dur.

Zararlı böceklerle mücadelede çok farklı yöntemler geliştirilmesine rağmen, günümüzde hala çeşitli kimyasal insektisitler kullanılmaktadır. Bu kimyasal insektisitlerin ekolojik dengeyi bozarak doğal çevreye zarar vermesi, hedeflenmiş organizmadan başka yararlı böcekler üzerinde öldürücü etki göstermesi, insan neslinin sağlığını olumsuz etkilemesi gibi nedenlerle yasaklanmaya başlanmış ve diğer zararlılarda olduğu gibi mısır koçan kurduyla mücadelede de alternatif yollar araştırılmaya başlamıştır. Böylece, biyolojik mücadele çalışmaları hız kazanmıştır.

Biyolojik mücadele, zararlı böceklerin doğal düşmanlarını onlara karşı kullanmak olarak tanımlanabilir (Oğurlu, 2000). Biyolojik mücadelede kullanılan etmenler bakteriler, virüsler, funguslar, nematodlar, protozoonlar ve rekombinant tekniklerle geliştirilen etmenleri kapsamaktadır (Demirbağ vd., 2008). Böceklerle mücadelede mikrobiyal etmenlerin kullanımı 1800'li yıllarda fungusların kullanımıyla başlamıştır (Oğurlu, 2000). Belirtilen gruplara ait etmenler zararlı böceklerde hastalık oluşturarak böcek popülasyonunun dengede tutulmasını ve zararlarının en az seviyeye inmesini sağlamaktadır. Bunların büyük bir çoğunluğu konağa özgü olduğu için yalnızca mücadele yapılmak istenilen organizma üzerinde etkilidir. Bu özelliğiyle faydalı ve predatör böcekler, hayvanlar ve insanlar gibi hedeflenmemiş organizmalar üzerinde herhangi bir risk oluşturmaz. Bunlar, tamamen doğal olmaları sebebiyle ekosistemde herhangi bir kirliliğe yol açmazlar. Bu sayede gelecekte kimyasal insektisitlerin yerini bu biyolojik etmenlerin alacağı düşünülmektedir.

EDWIP (The Ecological Database of the World's Insect Pathogens) ve VIDIL (Viral Diseases of Insect in the Literature Database) verilerine göre 2,285 farklı mikroorganizma türünün, 9,407 böcek türüyle ilişkili olduğu belirlenmiştir. Toplam 2,285 mikroorganizmanın 1,504'ünü protozoonlar, 411'ini funguslar, 168'in virüsler, 146'sını nematodlar, 51'ini bakteriler ve 5'ini de diğer organizmalar oluşturmaktadır (Braxton vd., 2003). Bu verilerin sayısı gün geçtikçe yeni keşiflerle artmaktadır.

Dünyada Mısır koçan kurdu ile mücadelede kimyasallar, feromon tuzakları, genetiği değiştirilmiş mısır bitkileri, çeşitli parazitler ve mikroorganizmalar kullanılmaktadır. Fakat, yapılan tüm bu çalışmalar bu böceğin popülasyonunun zarar seviyesinin altında tutmak için yeterli olmamış ve zararlıyla mücadele halen önemli bir sorun olmaya devam etmektedir.

Mısır koçan kurduna karşı uygulanacak bir biyolojik mücadele etmeninin hangi dönemde ve nasıl uygulanacağını belirlemek için öncelikle zararlıyı çok iyi tanımak, biyolojisini çok iyi bilmek gerekir. İkinci olarak ise biyolojik mücadelede kullanılacak etmenin tespit edilmesidir. Böyle bir etmenin tespit edilebilmesi için mevcut biyolojik etmenlerin test edilmesi ve zararlı böcekte muhtemel hastalık oluşturabilen yeni bir patojenin araştırılması gerekmektedir.

Bu bilgiler ışığında, ülkemiz ekonomisinde büyük bir yere sahip olan tarımda, mısır ürünlerine zarar veren Mısır koçan kurdu (*Sesamia nonagrioides*)'nun, uygulanmakta olan mücadele yöntemleri ile uyumlu çalışabilecek ve hatta ona alternatif oluşturabilecek bir mikrobiyal mücadele etmeninin tespiti çok büyük önem taşımaktadır. Bu süreçte bu

çalışmada *Sesamia nonagrioides*'e karşı mikrobiyal mücadelede kullanılabilmesi amacıyla zararlına kültüre edilebilir bakteriyal florasının belirlenmesi amaçlandı. Ayrıca, izole edilen bakterilerin zararlı üzerindeki öldürücü etkileri test edildi ve sağlanan etkiler farklı böceklerden izole edilmiş öldürücü etkileri yüksek, çeşitli bakteriyel etmenlerle kıyaslandı.

Öldürücü etkisi yüksek böyle bir mikrobiyal etmen, biyolojik mücadele çalışmalarında *S. nonagrioides*'in yanı sıra çeşitli tarım arazilerinde zararlara neden olan diğer böceklere karşı da kullanılabilir.

1.2. Mısır Bitkisi ve İnsan Hayatındaki Yeri

Buğdaygiller (*Poaceae=Gramineae*) familyasının bir üyesi olan mısır (*Zea mays* L.)'in kökeni yıllar boyunca tartışma konusu olmakla birlikte, yabani teosinteden (*Zea mays* ssp. *parviglumis*) köken aldığı görüşü geniş ölçüde kabul görmektedir. Günümüzde kültür mısır çeşitleri, Meksika'da ve Orta Amerika'da doğal olarak yetişen yıllık teosinte türleri ile aynı tür adı altında sınıflandırılmaktadır. Yerli Amerikan halkları mısır üzerinde 7000 yılı aşkın bir süre boyunca seleksiyon yaparak, yabani bir bitkiyi kendileri için hayati önem taşıyan bir kültür bitkisine dönüştürmüşlerdir. Amerika kıtasının keşfinden sonra mısır önce İspanya'ya getirilmiş, daha sonra da Afrika ve Asya'ya yayılmıştır. Ülkemize ise 16. yy'da Kuzey Afrika, Mısır ve Suriye yoluyla geldiği kabul edilmektedir (Babaoğlu, 2005).

Dört ay gibi kısa bir süre içerisinde 2,5–4,5 metre boya ulaşabilmekte ve tek bir bitkiden 600–1000 tohum elde edilebilmektedir (Kırtok, 1998). Bu yüksek dane ve yeşil aksam veriminden dolayı mısır bitkisinin önemi insan gıdası ve hayvan yemi olarak kullanımının yanında biyo-yakıt kaynağı olarak da dikkat çekmektedir.

Mısırın çok sayıda kullanım alanı olup, bitkisinin her parçası ayrı bir ekonomik değere sahiptir. Günümüzde mısırın doğrudan veya dolaylı olarak üretimine katıldığı 4.000 civarında farklı ürün mevcuttur. Gerek insan gıdası olması, gerek hayvan yemi olarak kullanılması ve gerekse endüstri hammaddesi olarak işlenmesinden dolayı büyük önem taşıdığından, yetiştiriciliği de büyük öneme sahiptir.

Mısır tanesinden, yağ ve alkol, sap, yaprak ve sumaklarından ise kâğıttan plastiğe kadar çeşitli maddeler yapılan önemli bir bitkidir. Nişasta, yağ ve yem sanayinde (slajik yem) istenilen özellikleri taşıyan mısırın önemi gün geçtikçe artmaktadır (Ege, 2002; Akdeniz vd., 2004). Ayrıca, sap ve yaprakları hayvan yemi ve küçük çapta hasır el işleri yapımında da kullanılır.

Yaklaşık 100 kg mısır danesinden 57 kg nişasta, 60 kg tatlandırıcı, 42 litre etanol yakıtı veya 40 kg polimer elde edilirken bunun yanında 24 kg yem glüten (%20 protein), 4,8 kg yemeklik glüten ve 2,8 kg mısır yağı elde edilmektedir (TMO, 2007). Tahmini olarak dünya mısır üretiminin %60'ı hayvan yemi, %20'si insan gıdası (doğrudan tüketim), %10'u işlenmiş gıda ve %10'u diğer tüketimler ile tohumluk olarak kullanılmaktadır (Özcan, 2009).

1.3. Mısır Bitkisinin Dünya ve Türkiye Ekonomisindeki Yeri

Mısır, dünyanın neredeyse her ülkesinde yetiştirilmekte olan bir ürün olup, yaklaşık 158 milyon hektarlık alanda üretimi yapılmaktadır. Dünyada tahıllar içinde ekiliş alanı bakımından üçüncü, üretim açısından ilk sırada olan önemli bir tahıl cinsidir. Bunu buğday ve pirinç takip etmektedir (Tablo 1) (IGC, 2012).

Tablo 1. Dünya 2011 yılı hububat üretimi

Ürün Cinsi	Miktar (ton)
Mısır	863.477.000
Buğday	695.516.000
Arpa	134.590.000
Yulaf	23.167.000
Çavdar	13.547.000
Pirinç	462.859.000
Genel Toplam	2.193.156.000

Gelişmekte olan Asya ülkelerinde buğday ve çeltikten sonra gelirken, özellikle Latin Amerika ve Afrika'da birinci sırada yer almaktadır. Dünya mısır üretiminin %37'si ABD'de, %22'si Çin'de yapılmaktadır (Tablo 2) (IGC, 2012).

Tablo 2. Dünya mısır üretimi ve önemli üretici ülkeler (Bin ton)

Ülkeler	2003/04	2004/05	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12
A.B.D	256.278	299.917	282.263	267.503	331.177	307.142	332.600	316.165	313.920
Çin	115.830	132.190	139.400	151.600	152.300	165.900	163.970	177.300	191.750
AB(27)	32.374	53.728	50.256	55.230	48.560	63.356	57.838	55.770	65.060
Türkiye	3.000	4.200	3.811	3.535	4.274	4.250	4.310	4.200	4.600
Brezilya	42.000	35.000	42.515	51.370	58.664	51.000	56.018	57.500	61.700
Meksika	21.800	22.000	19.339	21.893	24.015	24.226	20.374	21.130	20.500
Arjantin	15.044	20.483	14.445	21.755	22.017	15.500	22.677	22.900	21.000
Hindistan	14.980	14.180	14.710	15.100	18.960	19.730	16.720	21.730	21.600
Diğer	127.115	133.593	131.046	121.530	136.857	148.500	145.348	151.486	163.347
Dünya	628.421	713.391	697.785	709.516	797.034	799.604	819.855	828.181	863.477

Dünya genelinde mısır üretimi son yıllarda giderek artmış ve 2012 yılı itibariyle 864 milyon tona ulaşmıştır. Ancak üretim bu şekilde artmasına rağmen, tüketimi karşılamamaktadır (Tablo 3) (IGC, 2012).

Tablo 3. Dünya mısır üretim, ticaret, tüketim ve stok miktarları (Milyon ton)

Yıllar	2003/04	2004/05	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12
Üretim	628	713	698	710	797	800	820	828	864
Tüketim	647	686	702	726	779	784	821	843	874
Ticaret	80	76	79	87	101	84	86	93	94
Stok	108	136	132	115	134	150	148	133	122

Gelişmiş ülkelerde ortalama mısır verimi 8–10 ton/ha iken, gelişmekte olan ülkelerde ise 0,3–0,5 ton/ha arasında değişmektedir. Ülkemiz mısır birim alan verimi (7,11 ton/ha) dünya ortalamasının (4,74 ton/ha) çok üzerinde olmakla birlikte, ABD, Kanada, Arjantin ve bazı AB ülkelerinin (8–10 ton/ha) gerisinde kalmaktadır.

Türkiye’de ortalama 55 bin ha alanda mısır üretimi yapılmaktadır. 2012 yılında 4,6 milyon ton mısır üretimi yapılmıştır. Son 10 yılda mısırdaki iki katına yakın verim artışı göze çarpmaktadır (Tablo 4) (IGC, 2012).

Ülkemizde mısır ikinci ürün olarak çok önemli bir potansiyele sahip olup, mısır üretiminin önemli bir kısmının ikinci üründen elde edildiği ifade edilmektedir (Arıoğlu, 2008). Özellikle Çukurova ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde buğday ve arpa hasadından

sonra boş bırakılan alanlar ikinci ürün mısır üretimiyle değerlendirilmekte ve çiftçi ile ülke ekonomisine önemli katkı sağlamaktadır.

Tablo 4. Ülkeler bazında mısır verimi (Ton/Ha)

Ülkeler	2003/04	2004/05	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12
Çin	4,81	5,12	5,29	5,62	5,43	5,56	5,26	5,46	5,74
ABD	8,78	10,07	9,29	9,36	9,46	9,65	10,33	9,59	9,24
Kanada	7,82	8,24	8,54	8,47	8,51	9,06	8,37	9,74	8,89
Mısır	7,83	7,88	10,63	10,86	7,97	7,9	8	7,65	7,91
Arjantin	6,48	6,02	4,53	7,67	5,19	6,2	7,81	7,16	5,25
Türkiye	5	5,5	7	7,11	6,83	7,18	7,18	7,26	7,28
Meksika	2,83	2,82	2,93	3	2,96	3,31	3,24	3,02	3,08
Dünya	4,41	4,92	4,88	4,82	5,03	5,07	5,21	5,11	5,19

Türkiye’de mısır üretimi 1950’li yıllarda en fazla Karadeniz ve Marmara bölgelerinde yapılırken, son yıllarda bu üretim büyük oranda Akdeniz bölgesine kaymıştır (Arıoğlu, 2008). Ülkemizde üretilen mısırın yarıya yakını Akdeniz bölgesinden elde edilmektedir. Üretim miktarı olarak Akdeniz bölgesini, Güneydoğu Anadolu, Ege ve Marmara bölgeleri takip etmektedir. Ülkemizde yetiştirilen mısır alt türleri, taş mısır (*Zea mays* subsp. *indurata*), at dişi mısır (*Zea mays* ssp. *indentata*), cin mısır (*Zea mays* ssp. *everta*), tatlı mısır (*Zea mays* ssp. *saccharata*), unlu mısır (*Zea mays* ssp. *amylaceae*), mumlu mısır (*Zea mays* ssp. *ceratina*), kavuzlu mısır (*Zea mays* ssp. *tunicata*) ve gizgili mısır (*Zea mays* ssp. *japonica*)’dır (URL-1).

Türkiye’nin hemen her ilinde mısır yetiştirilmektedir. Özellikle Adana ilimiz ekim alanı, üretim ve verim bakımından çok önemli bir yere sahiptir. Adana ülkemiz toplam mısır ekim alanlarının %20’sine sahipken, mısır üretiminin de %26’sı bu ilimizde gerçekleşmektedir. Çukurova bölgesinde 2002 ve 2003 yıllarında %70 oranında ikinci ürün mısır üretimi yapılırken, bu gün bu oranının mısır kurdu ve koçan kurdu zararından dolayı %30’lara kadar gerilediği ifade edilmektedir. Birim alan verimi açısından Adana Türkiye ortalamasının çok üzerinde olup, ABD mısır veriminden de yüksektir. Mısır üretim miktarı yönüyle ülkemizde Adana ilimizi Şanlıurfa, Osmaniye ve Sakarya gibi illerimiz takip etmektedir. Birim alan başına en yüksek verim Ege Bölgesindeki illerimizde gerçekleşirken, bu illeri Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgesindeki illerimiz takip etmektedir. En düşük

birim alan verimi ise Karadeniz bölgesi'ndeki illerimizde gerçekleşmektedir (Tablo 5) (TÜİK, 2011).

Tablo 5. İllere göre mısır ekim alanı, üretimi ve verimi

İller	Ekilen alan (dekar)	Üretim (ton)	Verim (kg/da)
Adana	860.354	748.160	870
Şanlıurfa	708.981	453.006	639
Osmaniye	412.630	387.598	939
Sakarya	385.161	311.880	810
Mardin	364.831	306.564	840
Manisa	275.982	274.431	994
Aydın	182.424	182.946	1.003
Mersin	175.950	157.055	894
İzmir	143.273	153.443	1.071
Bursa	156.610	148.678	949
İlk 10 il toplamı	3.666.196	3.123.761	
Türkiye toplamı	5.940.000	4.310.000	726

1.4. Türkiye'de Mısır Tarımının Genel Sorunları

Ülkemizde diğer ürünlerde olduğu gibi mısır tarımında da önemli sorunlar bulunmaktadır. Sıcak mevsimde yetişen ve suya fazla ihtiyaç duyan mısır bitkisi 1 kg dane üretimi için yaklaşık 750–900 kg su kullanmaktadır (Kırtok, 1998). Son yıllarda ülkemizde yaşanan kuraklık nedeniyle su kaynaklarındaki azalma mısır tarımını da etkiler hale gelmiştir. Bu bölgelerde yine drenaj yetersizliği de bir diğer sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Mısır danelerinde olgunlaşma tamamlandığında danedeki nem oranı %30–35 civarındadır. Hasattan sonra uzun süreli depolama için mısır danesindeki nem oranının kurutma işleminden geçirilerek %13'e düşürülmesi gerekmektedir. Nem oranı düşürülmeden mısır uygun olmayan koşullarda depolandığı zaman mikotoksinlerin üretiminden dolayı önemli riskler ortaya çıkabilmektedir. Ülkemizde kurutma ve depolama mısırın maliyetini önemli ölçüde artırmakta ve bundan dolayı da ithal mısır çok daha ucuza

mal olabilmektedir (Özcan, 2009). Yukarıda belirtilen sorunlar yanında mısır tarımında yabancı otlar ile hastalık ve zararlılar da önemli sorunlar oluşturmakta ve önlemler alınmadığı takdirde çok büyük verim kayıplarına neden olabilmektedir.

1.4.1. Yabancı Otlar

Uygun mücadele yapılmadığı takdirde mısır tarımında yabancı otlar, tohum ve yeşil aksam verimi ile ürün kalitesinin düşmesine ve hasadın güçleşmesine neden olmaktadır. Yabancı otların mısır tarımında dolaylı zararları da söz konusudur. Yabancı otlar, mısır dane kalitesinin düşmesine, tohumluk değerinin azalmasına, teknolojik özelliklerinin bozulmasına, ürün içinde bulunan yabancı ot tohumlarının una karışarak undan yapılan maddelerin renk koku ve tadını bozulmasına ve bazen de zehirlenmelere yol açmaktadır. Ayrıca yabancı otların hasadı güçleştirmeleri, birçok mısır hastalık etmeni ve zararlıları için konukçuluk etmeleri yabancı otların diğer zararlarıdır.

1.4.2. Hastalıklar

Türkiye’de hastalıklardan dolayı mısırdaki yıllık verim kaybının %10–20 arasında değiştiği tahmin edilmektedir. Bu hastalıklar tohumun çürümesine, fidenin hastalanıp zarar görmesine, dane verim ve kalitesinin düşmektedir. Mısır راستığı (*Ustilago maydis*), mısır yaprak yanıklığı (*Helminthosporium turcicum*), mısır kök ve kök boğazı çürüklüğü (*Fusarium spp.*) önemli mısır hastalıklarıdır

1.4.3. Zararlı Böcekler

Zararlı böcekler, orman, tarla ve bahçe bitkilerinde, seralarda, süs bitkilerinde, koruma altına alınmış bölgelerde yetişen bitki türleri üzerinde, depolanmış ürünlerde, veterinerlik ve tıbbi alanlarda büyük zararlara yol açarlar (Lacey vd., 2001).

Dünyada buğday, mısır, çeltik, pamuk, soya, gibi önemli kültür bitkilerinde hastalık, zararlı ve yabancı otlardan kaynaklanan ürün kaybının (%67.15) yarıya yakınına (%31.62) böcekler neden olmaktadır (Derke vd., 1994). Bugüne kadar mısır bitkisinde ürün kaybına neden olan tespit edilmiş önemli 22 adet mısır zararlısı mevcuttur (Tablo 6) (Seçil, 2010).

Tablo 6. Tespit edilmiş mısır zararlıları

Mısır zararlılarının		
	Türkçe adı	Latince adı
1	Çizgili yaprak kurdu	<i>Spodoptera exigua</i>
2	Yaprak kurdu	<i>Pseudaletia unipuncta</i>
3	Boz kurt	<i>Agrotis ipsilon</i>
4	Mısır yaprak biti	<i>Rhopalosiphum maidis</i>
5	Batı mısır kök kurdu	<i>Diabrotica virgifera</i>
6	Kuzey mısır kök kurdu	<i>Diabrotica barber</i>
7	Güney mısır kök kurdu	<i>Diabrotica undecimpunctata</i>
8	Tel kurdu	<i>Agriotes spp.</i>
9	Mısır yaprak piresi	<i>Chaetocnema pulicaria</i>
10	Mısır yaprak galeri kurdu	<i>Agromyza parvicornis</i>
11	Mısır yuvarlak kurdu	<i>Heliothis zea</i>
12	Japon böceği	<i>Popillia japonica</i>
13	Piknik böcekleri	<i>Carpophilus spp.</i>
14	Tahtakurusu	<i>Blissus leucopterus</i>
15	İki benekli örümcek kenesi	<i>Tetranychus urticae</i>
16	Mısır biti	<i>Sitophilus zeamais</i>
17	Kırmızı bacaklı çekirge	<i>Melanoplus fermur-rubrum</i>
18	Defransiyel çekirge	<i>Melanoplus differentialis</i>
19	Adi sap kurdu	<i>Papaipema nebris</i>
20	Mısır maymuncuğu	<i>Tanymecus dilaticollis</i>
21	Mısır kurdu	<i>Ostrinia nubilalis</i>
22	Mısır koçan kurdu	<i>Sesamia nonagrioides</i>

Mısır zararlıları bitkinin gelişme dönemleriyle ilgili olarak beş kısımda incelenebilir. İlk gelişme döneminde fidede beslenen zararlıların başlıcaları; Tel kurtları (*Tenebroides* ve *Agriotes spp.*), Bozkurt veya kesici kurtlar (*Agrotis spp.*) ve Mısır maymuncuğu (*Tanymecus dilaticollis*)'dur. Yaprak ve yaprak helezonunda beslenen zararlılar içerisinde Güz tırtılları (*Spodoptera frugiperda*), Mısır kurdu (*Ostrinia nubilalis*) ve Mısır yeşil kurdu (*Heliothis armigera*) yer alırken, tepe ve koçan püskülünde beslenen zararlıların başlıcaları; Mısır kök kurtları (*Diabrotica spp.*), Mısır yeşil kurdu (*Heliothis spp.*) ve Mısır yaprak afiti (*Rhopalosiphum maidis*)'dir. Koçanda beslenen zararlılar ise kokulu böcekler (*Nezara viridula*), mısır yeşil kurdu, güz tırtılları ve şark mısır kurdudur. Sapta beslenen zararlılardan başlıcaları arasında Şark mısır kurdu, Mısır kök kurtları, Sap kurdu (*Sesamia spp.*) ve Güney batı mısır kurdu (*Diatraea grandiosella*) sayılabilmektedir (Kırtok, 1998).

Dünyada mısır bitkisinde az veya çok zarara neden olan 400'den fazla zararlı böcek türü bulunmasına rağmen, ülkemizde mısır tarımı ve üretimine en fazla zarar veren iki zararlı Lepidopter böcek türü Mısır kurdu (*Ostrinia nubilalis*) ve Mısır koçan kurdu (*Sesamia nonagrioides*)'dur. Bu iki zararlı mısırın kök sistemi dışında, bütün toprak üstü aksamında zarar yapmaktadır (Cerit vd., 2006).

Mısır kurdu ABD, Avrupa ve Türkiye başta olmak üzere birçok ülkede etkili olurken, Mısır koçan kurdu özellikle İspanya, Fransa, İtalya, Yunanistan ve Türkiye gibi Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerde mısır üretimine önemli zararlar vermektedir (Tsitsipis, 1988; Zeren vd., 1988; Şimşek ve Güllü, 1992; Cerit vd., 2006). Bundan dolayı Mısır koçan kurdu "Akdeniz mısır kurdu" (Mediterran corn borer) olarak da bilinmektedir.

1.5. Mısır Koçan Kurdu (*Sesamia nonagrioides* Lef., Lepidoptera: Noctuidae)

1.5.1. Tanımı ve Yaşayışı

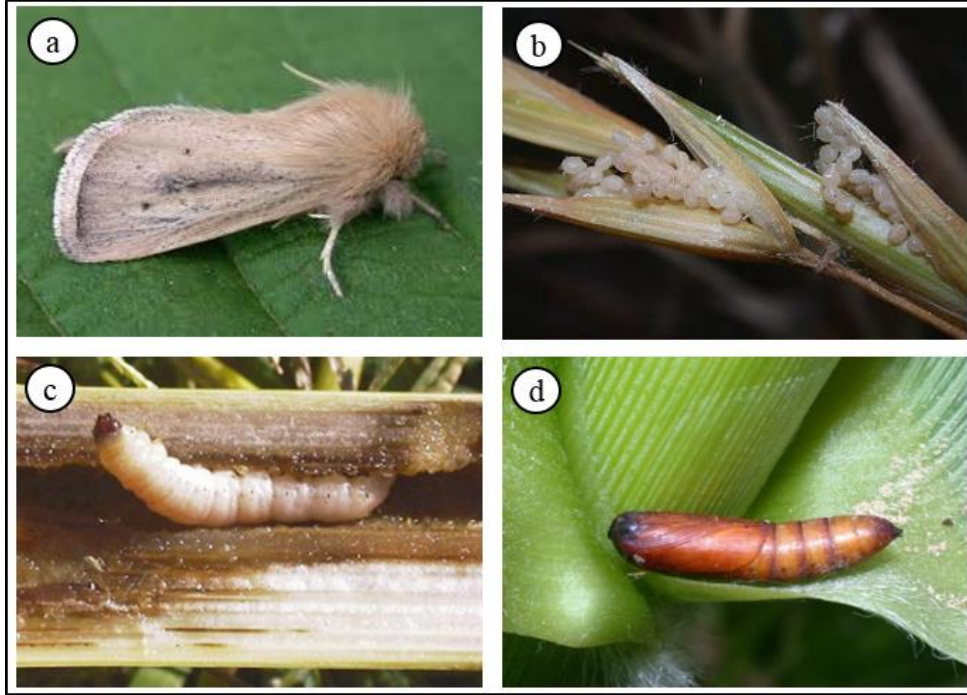
1.5.1.1. Ergin

Kelebeklerin kanat açıklığı 28.3-32.7 mm arasında değişmektedir. Vücut uzunluğu ortalama 14.5 mm'dir. Ön kanatlar genel olarak açık sütlü, kahverengimsi gri renktedirler. Arka kanatlar ise gümüşü beyaz renktedir. Arka kanatlar dışa doğru hafif koyulaşmaktadır (Şekil 1). Baş, göğüs ve bacaklar toprak rengine kaçan pembe sarı tonda tüylerle kaplıdır. Bazı bireylerde bu renkler kızılımsı kahverengiye kadar dönüşebilmektedir. Erkek kelebeklerde anten taraklı olup, dişide düz ip şeklindedir. Kelebekler ilkbaharda, mart sonundan itibaren görülmeye başlar (Şekil 2). Erginlerin pupadan çıkmaya başladığı andan itibaren çiftleştikleri ve 48 saat sonra yumurta bırakmaya başladıkları bildirilmiştir (Teoman, 1979). Kelebeklerin ömrü ortalama 6-7 gündür. Ergin bireylerin yüksek sıcaklıklarda ömrünün kısaldığı, düşük sıcaklıklarda ise ergin ömrünün uzadığı görülmüştür (Sertkaya, 1993).

1.5.1.2. Yumurta

Dişi kelebekler yumurtalarını kümeler halinde yaprak kınının gövdeye bakan iç kısmına bırakır. Bu dönemde zararlının ana konukçusu olan mısır ve sorgumun ekimi yapılmadığından yumurtalarını yabancı buğdaygillere, buğday bitkisine veya kanal boylarındaki sukamışlarına bırakırlar. Bir dişi bir kaç kez olmak üzere ortalama 200'ün üstünde yumurta bırakır. Cayrol (1972), erginlerin 700-800 yumurta bıraktığını, Teoman (1979) ise bu miktarın 200-300 arasında değiştiğini bildirmiştir.

Yumurtanın çapı ortalama 10 mikron kadardır. Yumurtalar alttan ve üstten ipe doğru basık, yassı silindir şeklindedir. Dişiler yumurtalarını genellikle kümeler halinde bırakmaktadır. Yumurtalar ilk bırakıldıklarında krem renginde olup, daha sonra renk koyulaşır (Şekil 1).



Şekil 1. *S. nonagrioides*'in biyolojisi a) Ergin, b) Yumurta, c) Larva, d) Pupa (URL-2, 3, 4, 5)

1.5.1.3. Larva

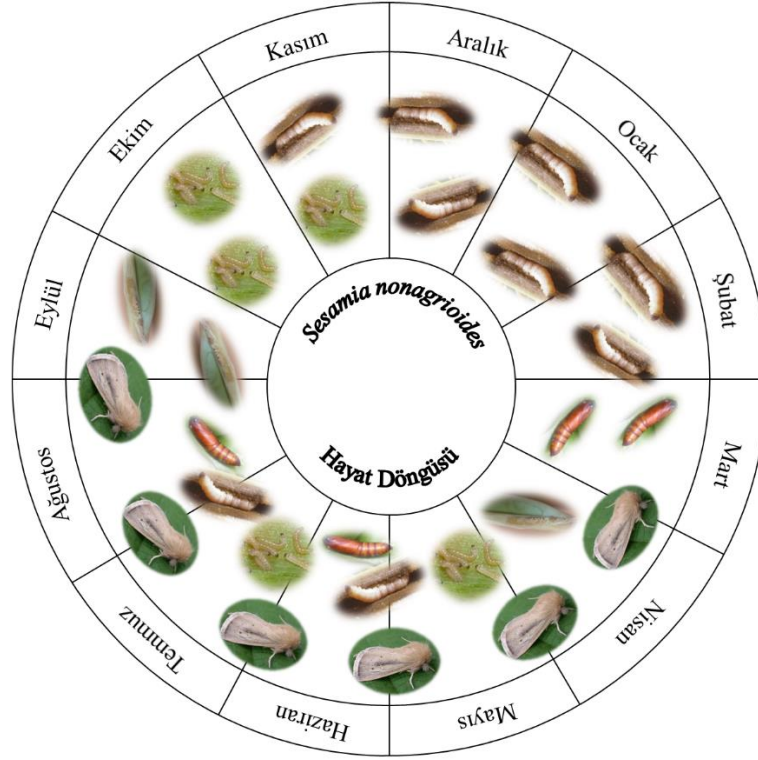
Yumurtadan çıkan larvalar bir iki gün toplu halde buldukları ortam üzerinde beslendikten sonra, yine buldukları ortam üzerinden gövde veya koçan içine geçerler. Larvalar 6-7 gömlek değiştirerek olgun larva olurlar. Sıcaklık ve neme göre *Sesamia nonagrioides*'in larva dönemleri ve larval gelişim süreleri farklılık göstermektedir (Tablo 7) (Sertkaya, 1993). Olgun larvanın boyu ortalama 33 mm'dir. Bu dönemlerde larvaların üst kısmı tipik pembe renkte ve tüsüzdür. Aynı zamanda bu renk alta doğru donuk sarı bir renk alır. Bu dönemde baş koyu kahverengi, ense levhası koyu sarı ve kahverengi lekeli (Şekil 1). Zararlı kışı genellikle olgun larva halinde ana konukçuların gövdesi veya koçanlar içinde geçirmektedir (Şekil 2).

Tablo 7. *Sesamia nonagrioides*'in larva dönemleri ve larva gelişme süresi

Larva Dönemi	Ortalama Gelişme Süreleri (gün)
1.	3.0 - 3.5
2.	1.5 - 2.5
3.	2.0 - 3.5
4.	3.0 - 5.0
5.	3.0 - 5.5
6.	6.5 - 9.0

1.5.1.4. Pupa

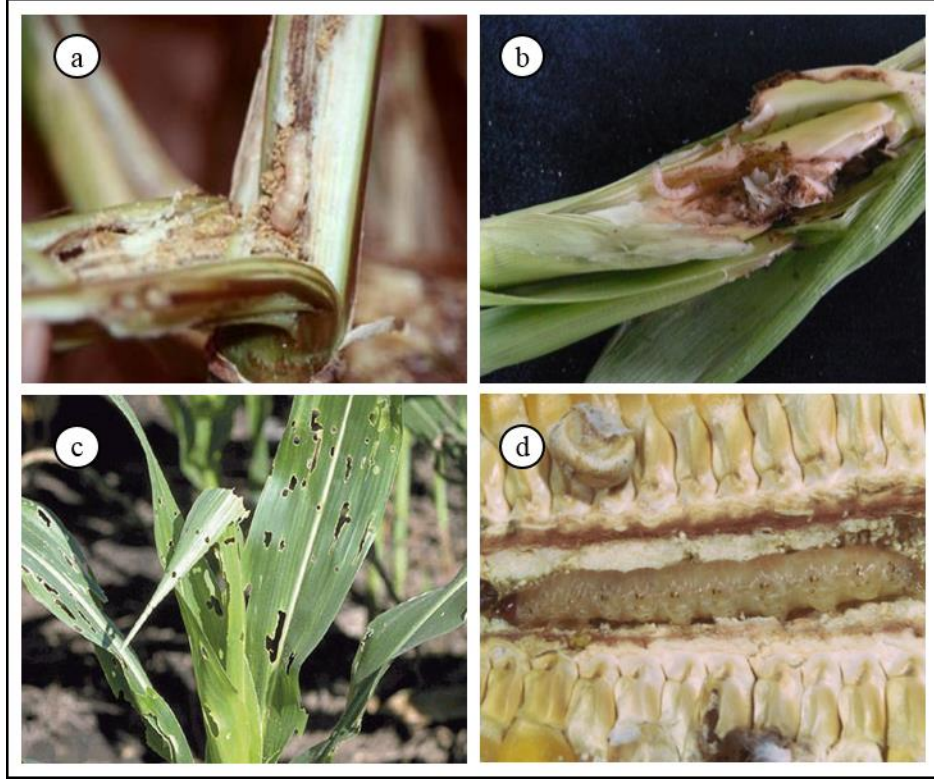
Yedinci döneme gelen larvalar genellikle beslenmeden kesilir ve buldukları sap ve koçan içinde meydana getirdikleri odacıklarda pupa dönemine girer. Pupalardan boyları ortalama 20,9 mm'dir. Kızılımsı kahverengindedir (Şekil 1). Pupa süresi sıcaklığa bağlı olarak 7-10 gün arasında değişmektedir.



Şekil 2. *Sesamia nonagrioides*'in hayat döngüsü

1.5.2. Zarar Şekli, Ekonomik Önemi ve Yayılışı

Mısır koçan kurdu dünyada 1940'dan itibaren önemli bir mısır zararlısı haline gelmiştir. Zararlının ilk döl erginlerinin yumurtalarından çıkan larvalar 25-40 cm boyundaki mısır fidelerinde zararlı olmakta, mısırlar büyüyememekte, boyları bodur kalmakta çoğunlukla da koçan verememektedir (Şekil 3). Koçan verenler ise tane tutmamaktadır. İkinci döl kelebeklerin yumurtalarından meydana gelen larvalar ise erkek püsküllerde ve püskül sapında zarar yaparak döllenmeye mani olmakta daha sonra koçanlara geçerek süt oluşumundaki taneleri yemekte ve çıkardıkları atıklarla bakteri faaliyetlerini artırarak koçan içerisindeki tanelerin tümünün zarar görmesine neden olmaktadır (Şekil 3). Ayrıca, çıkardıkları dışkı maddelerinde fungal etmenler gelişerek, koçan içindeki tanelerin tamamının da zarar görmesine sebep olurlar (Öztemiz vd., 2004). Larvaların bir kısmı ise mısır ana sapında galeriler açarak beslenmekte ve bitkinin zayıflamasına neden olmaktadır (Şekil 3).



Şekil 3. *Sesamia nonagrioides*'in zarar şekilleri a ve b) Olgun larvanın sapta meydana getirdiği zarar c) Yumurtadan çıkan 1. dönem larvaların yapraklarda meydana getirdiği zarar d) Olgun larvanın mısır koçanında meydana getirdiği zarar (URL-6, 7, 8, 9)

S. nonagrioides'in Akdeniz ülkelerinde başta mısır olmak üzere süpürge darısı, çeltik, şeker kamışı ve kültürü yapılan ve yapmayan buğdaygillerde zararlı olduğu kayıtlıdır (Teoman, 1979; Galichet, 1982; Kavut, 1985). Muzlarda zararlı olduğu ilk kez Kıbrıs'ta belirtilmektedir (Krambies vd., 1973). Daha sonra yapılan çalışmalarda, ülkemizde Güney Anadolu Bölgesindeki muz yetiştirilen bölgelerde tespit edilmiştir (Uygun ve Kayapınar, 1993) Yaklaşık 10 yıl önce ise Güney İtalya'da kavunda zararlı olduğu kaydedilmiştir (Sannino vd., 2004).

1.6. Zararlılar ile Mücadele Yöntemleri

Bitki koruma alanında kullanılan yöntemler insan ve çevre sağlığı açısından özel bir öneme sahiptir. Bitki hastalık ve zararlılarıyla zamanında ve doğru mücadele yapılmadığında, ürün kaybının %30-35 civarında olduğu kabul edilmektedir. Bu kaybı önlemek için günümüzde çeşitli mücadele yöntemleri ve preparatları kullanılmasına rağmen

daha etkili, çevreye zararı olmayan veya daha az zararlı olan ve daha ekonomik mücadele yöntemleri araştırılmaya devam etmektedir. Çoğu zaman bir ekosistemdeki zararlıları tamamen yok etmek yerine ekonomik zarar eşliğinin altında tutma prensibine dayanan ve birden fazla mücadele yönteminin bir arada kullanıldığı entegre mücadele zararlılara karşı başarıyla kullanılabilir şekilde geliştirilmiştir.

Zararlı böceklerle mücadele, kitle üremesi yapan veya yapma yeteneğinde olan böcek popülasyonlarının sayısının artmasını engellemek için gerçekleştirilen mücadele olarak bilinir. Tarım ve ormancılıkta zararlı böceklerle mücadelede uygulanan 7 yöntem vardır. Bunlar insanın herhangi bir yardımı olmadan doğal kuvvetlerle böcek popülasyonlarının kontrol altında tutulması şeklinde olan doğal mücadele, karantina, ambargo, muayene ve sertifika uygulamak şeklinde olan yasal mücadele, böcekleri feromonlar, odun tuzakları, yem tuzakları ve ışık tuzakları gibi yöntemlerle toplamak şeklinde olan mekanik mücadele, sıcak ve nemden yararlanarak böceklerin öldürülmesi, elektrik ve radyoaktivite kullanarak böceklerin kısırlaştırılması şeklinde olan fiziksel mücadele, toprağın bakımı, işlenmesi ve gübrelenmesi, yabancı ot ve atıkların temizlenmesi ve bitki nöbetleşmesi şeklinde gerçekleştirilen kültürel mücadele, kimyasal pestisitler kullanılarak gerçekleştirilen kimyasal mücadele ve böceklerin neden olduğu zararları en aza indirmek amacıyla bu böceklerin parazit, predatör ve patojen mikroorganizmalarını onlara karşı kullanmak şeklinde gerçekleştirilen biyolojik mücadeledir.

1.6.1. Kimyasal Mücadele ve Çevreye ve İnsanlara Olan Etkileri

Tarım ürünlerinin yetiştirilmesinde ve depolanmasında böceklerin neden olduğu zararlar üreticiler ve ülke ekonomisi için önemli kayıplara neden olmaktadır. Bu sorunu çözmeye kullanılan kimyasal insektisitler zararlı popülasyonlarının %95'ini yok edebilmektedir (Vural, 1996).

Özellikle 1945 yılında DDT'nin bulunmasıyla sentetik kimyasal insektisitlere ilgi artmıştır. Fakat, kimyasal insektisitlerin kullanımı beraberinde birçok problemi de getirmiştir. İnsektisitlerin bilinçsiz ve aşırı kullanımı yeraltı sularının kirlenmesine, flora ve faunada hedef dışı organizmaların yok olmasına ve besin zincirinin olumsuz etkilenmesine neden olmaktadır. Bu sebeplerden dolayı, daha önce problem olmayan bazı zararlılar ortaya çıkmakta, bu durumda sekonder zararlılara karşı ilaçlama yapma zorunluluğu meydana gelmektedir. Örneğin, Çukurova'da beyaz sineğin, doğal düşmanlarının insektisitlerden

zarar görmesi nedeniyle sorun haline geldiği bilinmektedir (Ünal, 1998). Ayrıca, herhangi bir yolla sulara karışan kimyasal maddeler balıklar tarafından alındığında, balıkların büyüme, üreme, kaçma ve saklanma gibi bazı yetenekleri, insektisitlerin bünyelerinde birikimlerine göre azalmakta veya tamamen yok olmaktadır. Rakipler karşısında daha kolay avlanmaları sonucu bazı türlerin bütünüyle ortadan kalkması söz konusu olabilmektedir (Ünal, 1998).

Insektisitlerin kullanıldığı alanlarda doğal olarak yaşayan polinatör canlılar da yok olduğu için bu alanlardaki zirai ürünlerde tozlaşma oranı azalmaktadır (Ecevit, 1988). Bitkilerde tozlaşmada önemli rol oynayan bal arıları ve yaban arıları insektisitlerden etkilenen önemli bir canlı grubunu oluşturmaktadırlar. Örneğin, ABD'nin Kaliforniya eyaletinde yoğun insektisit kullanımı sonucunda mevcut arı popülasyonları azalmış ve bunun etkisi olarak tarımsal ürünlerde yeterli tozlaşma olmamıştır. Benzer durumlar Isparta'nın Kovada Vadisi'ndeki meyve bahçelerinde ve 1988 yılında Trakya'da yürütülen süne mücadelesi sırasında da tespit edilmiştir (Ünal, 1998).

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

Kimyasalların yoğun bir şekilde kullanılması zaman içinde zararlı böceklerde insektisitlere karşı dayanıklılık mekanizmasının gelişmesine neden olmaktadır. İnsektisitlere dayanıklılık sonucu, doz artımına gidilmekte ve uygulamalar arasındaki süre kısaltılmaktadır. Bu çabalar da sonuçsuz kaldığında daha etkili ve zehirli bir insektisit kullanımına ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun maddi bedeli ölçülemeyecek kadar çok olmaktadır. Böcek direnci ilk olarak 1946'da karasineklerde (*Musca domestica*), DDT direnci ile gündeme gelmiştir ve o zamandan beri zararlı böceklerin kontrolünde büyük sorunlar görülmektedir.

Böceklere karşı kullanılan insektisitlerin hemen hemen hepsi nörotoksiktir. Yani vücuda bir şekilde girdiklerinde mutlaka sinir sistemi üzerine etki ederek canlının ölmesine neden olmaktadır (Öztürk, 2001). Örneğin, Güneydoğu Anadolu bölgesinde

heksaklorobenzenli (HCB) insektisitle ilaçlanmış tohumluk buğdayı yiyen 3000 kişide Porfiria (Karayara) hastalığının görülmesi ve %11 oranında ölüm meydana gelmesi, dünya çapında ilgi uyandıran bir zehirlenme olayıdır (Ünal, 1998).

Zararlı böceklerle mücadelede kullanılan insektisitlerin bilinen yan etkilerinden dolayı, kimyasal mücadelenin günümüzde mümkün olduğunca kısıtlanması ve bunun yerini daha güvenli olan biyolojik mücadelenin alması gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca, Tarım Bakanlığı'nın 2006 yılında tarımsal ürünlerde uçakla ilaçlamayı yasaklanması nedeniyle kimyasal mücadeleye alternatif yöntemlerin kullanılması zorunlu hale gelmiştir. Bunların başında da biyolojik mücadele gelmektedir (Öztemiz vd., 2008).

1.6.2. Biyolojik Mücadele

“Biyolojik mücadele” sözcüğü ilk defa 1919 yılında Kalifornia Üniversitesi'nden Harry Smith tarafından böcek populasyonlarının doğal yollarla veya çeşitli uygulamalarla kontrol altına alınması için kullanılmıştır.

Biyolojik mücadele çalışmaları temelde üç ana başlıkta toplanmaktadır bunlar;

1. Klasik biyolojik mücadele: Ortama, zararlı böceklerin doğal düşmanları uygulanarak, böceklerin zarar oluşturma potansiyelleri ortadan kaldırılır.
2. Çoğaltma (Augmentasyon): Ortama var olan zararlı böceklerin doğal düşman populasyonlarının artırılmasıyla zararlılarla mücadele edilir.
3. Koruma (Konzervasyon): Doğada mevcut faydalı organizmanın zarar görmeyecek şekilde korunması ile doğal düşmanların etkili bir şekilde uzun süreli ortamda kalmaları ve zararlı böcek sayılarını zarar eşiğinin altında tutmaları sağlanır (Demirbağ vd., 2008).

Biyolojik mücadele, diğer mücadele yöntemlerine göre doğal dengenin kurulmasına yardımcı olması, uzun vadede kalıcı sonuçlar vermesi ve nihai hedefe ulaştırabilmesi bakımından en çok tercih edilmesi gereken mücadele yöntemidir (Oğurlu, 2000).

Biyolojik mücadelenin ilk uygulama dönemleri çok eski tarihlere dayanmaktadır. Asya'da avcı karıncalardan bu hususta yararlandığı ve bu karıncaların M.S. 900-1200 yılları arasında narenciye zararlılarına karşı kullanıldığı bilinmektedir. Daha sonra 1200'lü yıllarda Yemen'de palmiye ağaçlarındaki zararlılara karşı karıncaların kullanıldığı ve Arabistan'da her yıl dağlardan getirilen avcı karınca kolonilerinin, hurma ağaçlarında zarar yapan bir diğer karınca türüne karşı kullanıldığı kayıtlıdır (Oğurlu, 2000).

Biyolojik mücadele uygulamalarında zararlı böceklere karşı parazitoid, predatör ve patojenlerden yararlanılmaktadır. Biyolojik mücadele kapsamında kullanılan patojen mikroorganizmalar ise bakteriler, funguslar, virüsler, protozoonlar ve nematodlardır. Bu mikroorganizmalar kullanılarak yapılan mücadeleye ise ‘Mikrobiyal Mücadele’ denilmektedir.

Mikrobiyal mücadelede kullanılan entomopatojenlerin büyük bir çoğunluğu konağa spesifik olduğu için sadece mücadelesi yapılmak istenilen organizma üzerinde etkili olur. Bu özelliği ile faydalı ve predatör böcekler, hayvanlar ve insanlar gibi hedef dışı organizmalar üzerinde herhangi bir risk oluşturmazlar. Tamamen doğal olmaları sebebiyle ekosistemde herhangi bir kirliliğe yol açmazlar. Bu özellikleri, gelecekte kimyasal insektisitlerin yerini bu biyolojik etmenlerin alacağını göstermektedir.

1.6.3. Mikrobiyal Mücadelede Kullanılan Etkin Gruplar

1.6.3.1. Virüsler

Birçok virüsün böceklerin hastalanmasına neden olarak böcek salgınlarını meydana getirdiği bilinmektedir (Steinhaus, 1956). Çiğneyici ağız yapısına sahip böcekler, özellikle yaprak yiyenler, virüs enfeksiyonlarına karşı daha hassastır. Bu durumda yaprak yiyen Lepidoptera tırtıllarıyla, Hymenoptera’nın yalancı tırtılları viral etmenlerden daha fazla zarar görürler (Weiser, 1969). Bu virüsler genellikle 2-3 yılda bir meydana çıkan epidemilerde çoğalarak birçok larvayı öldürür ve böylece afetlerini ortadan kaldırır (Lipa, 1975). Virüsler birçok böcek takımıyla ilişkilidir. Bununla birlikte büyük bir kısmı Lepidoptera (%83), Hymenoptera (%10) ve Diptera (%4) takımlarında bulunmaktadır.

Şimdiye kadar sınıflandırılan böcek virüslerinin büyük bir kısmı Baculoviridae, Reoviridae, Poxviridae, Picornaviridae, Densoviridae, Rhabdoviridae, Orthomyxoviridae ve Iridoviridae familyalarına aittir. Bu böcek virüslerinden, Baculoviridae familyası sadece artropodlar için spesifiktir (Demirbağ ve Beldüz, 1997).

Çoğu bakülovirüsler sadece bir veya yakından ilişkili birkaç böcek türünü enfekte edebilir (Arif ve Kurstak, 1991). Hastalanan larva önce uyuşuk bir hal alır ve sonra beslenmeyi bırakır. Ölmeden önce ağacın tepesine tırmanır ve arka bacaklarından asılı olarak ölür. Dokuları koyulaşır, ayrışır ve vücutları sıvı hale geçer (Lipa, 1975; Demir, 2004).

1.6.3.2. Funguslar

Fungusların biyolojik mücadelede kullanılmaları 1726 yılında Fransa'da Noctuidae larvalarından *Cordyceps* cinsi fungusların izole edilmesiyle başlamıştır (Oğurlu, 2000). Daha sonra 1879 yılında Rusya'da yeşil buğday böceği, *Anisoplia austriaca* Herbst. (Coleoptera: Scarabaeidae)'ya karşı *Metarhizium anisopliae* Metch fungusunun denemeleri yapılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Steinhaus, 1949). Şimdiye kadar tanımlanan 700'ün üzerinde entomopatojenik fungus bilinmekte ve bunlardan bazıları biyolojik mücadele etmeni olarak üretilmekte ve kullanılmaktadır (Strasser vd., 2000). Entomopatojenik fungus orjinli yaklaşık 150 ticari preparat 2007 yılından itibaren üretilmekte ve zararlılar ile mücadelede kullanılmaktadır (Faria ve Wraight, 2007).

Böcek patojeni olan funguslar genellikle Deuteromycota ve Entomophthorales gruplarına dahildir (Hajek, 1997). Entomopatojenik funguslar çok geniş bir konak spektrumuna sahiptirler. Birçok böcek ordosuna ait türleri enfekte edebilirler. Bir entomopatojenik fungus birden fazla böcek türünü enfekte edebilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, entomopatojenik fungusların insektisidal aktivitelerinin artırılması için diğer biyolojik mücadele etmenleri ve çevresel uygulamalarla kombine edilerek kullanılması gerektiği gösterilmiştir (Kocaçevik, 2012).

1.6.3.3. Nematodlar

Böceklerde parazit olarak yaşayan ve bazı durumlarda ölümlerine yol açan birçok nematod türü bulunmaktadır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda birçok nematod familyasına ait türlerin, böcekler ve diğer omurgasız hayvanlarla ilişkili olduğu belirlenmiştir (Poinar, 1979, 1990; Kaya ve Stock, 1997). Yapılan çalışmalar, zararlı böceklerin biyolojik mücadelesinde kullanılma potansiyeli taşımaları bakımından 7 familya üzerinde yoğunlaşmıştır. Bunlar Mermithidae, Tetradenematidae, Allantonematidae, Phaenopsitylenchidae, Sphaerulariidae, Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyalarıdır (Glazer ve Lewis, 2000). Steinernematidae ve Heterorhabditidae familyaları günümüzde, özellikle toprak böceklerinin mikrobiyal mücadelesinde en sık kullanılan gruplardır (Liu vd., 2000; Lacey vd., 2001; Erbaş, 2012).

1.6.3.4. Protozoonlar

Protozoonların zararlı böcek popülasyonlarında meydana getirdikleri salgınlar, az rastlanılan bir durum olmasına karşın, neden oldukları ferdi ve küçük gruplar halindeki ölümler, zararlı böcek popülasyonlarının zarar eşiğinin altında tutulması bakımından önemlidir (Maddox, 1987; Brooks, 1988).

Entomopatojenik protozoonlar genellikle konağa spesifiktir. Böceklerde oluşturdukları hastalıklar yavaş ilerler. Virulansları düşüktür ve böceklerde kronik enfeksiyonlar oluştururlar. Virulanslarının düşük olması nedeniyle protozoonların enfekte ettiği böceklerin ölümü bazen haftalar sürebilir (Hoffman ve Frodsham, 1993).

Protozoonlar çoğu böceklere ağız ve sindirim sistemiyle girer. Sporozonlar ve özellikle mikroporlar tarafından oluşturulan enfeksiyonun en muhtemel oluşma durumu böcek yiyeceklerinin sporla kirlenmiş olmasıdır (Demirbağ vd., 2008). Protozoonlar tarafından enfekte edilen böceklerin hareketleri yavaşlar ve tembelleşir. Beslenme ve üreme faaliyetlerinde azalma görülür. Ölümün gerçekleşebilmesi için enfeksiyon seviyesinin çok yüksek olması gerekir. Şimdiye kadar belirlenen birçok protozoa türünün, arthropodlarla ilişkili olduğu belirlenmiştir. Protozoa sınıfı içerisinde yer alan Ciliphora, Sarcocystophora, Apicomplexa ve Microspora gruplarına ait türler böcekleri enfekte edebilirler (Maddox, 1987).

1.6.3.5. Bakteriler

Özellikle son 50 yılda yapılan çalışmalarda, birçok entomopatojenik bakteri böceklerden izole edilmiş ve bazılarının izole edildikleri böcekler üzerinde hastalık etmeni olduğu belirlenmiştir. Böceklerde patojen olan bu bakterileri spor oluşturanlar ve spor oluşturmayanlar olmak üzere iki kısma ayırmak mümkündür. Spor oluşturmayan böcek patojeni bakteriler, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonaceae* ve *Micrococcaceae* familyalarına dahildir. Böceklerde önemli zararlar oluşturan bakteriler daha çok spor oluşturan bakterilerdir. Bunlar arasında toprak grubu bakterilerden olan *Bacillus* türleri öne çıkmaktadır. Bu bakterilerden en önemlisi ise *Bacillus thuringiensis* (Bt)'tir.

B. thuringiensis ilk kez Japon bakteriyolog S. Ishiwata (1901) tarafından hastalıklı ipek böceği larvalarından izole edilmiştir. E. Berliner (1911) tarafından tanımlaması yapılmıştır. Aoki ve Chigasaki (1916) tarafından spor kültürlerindeki proteinin toksik

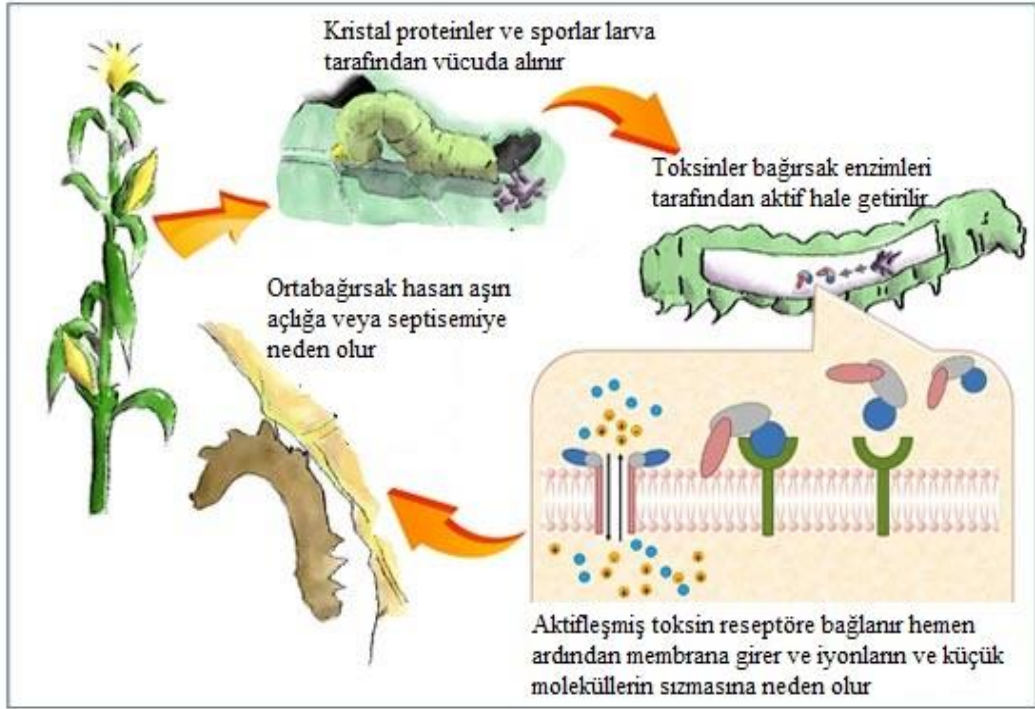
aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Beegle ve Yamamoto, 1992). Hannay (1953) *B. thuringiensis*'in spor morfolojisini ve parasporal yapı olarak adlandırılan inklüzyon yapılarını açıklamıştır. Ayrıca parasporal yapının böcek toksitesi ile ilgili olduğunu göstermiştir.

B. thuringiensis'te bulunan kristal (*cry*) genleri insektisidal kristal proteinleri (ICP) kodlar. Bu kristal (*cry*) genleri Lepidoptera (*cry1*), Diptera ve Lepidoptera (*cry2*), Coleoptera (*cry3*), Diptera (*cry4*) ve Coleoptera ve Lepidoptera (*cry5*) grubundaki böceklere karşı etkilidir (Demirbağ vd., 2008) (Tablo 8).

Tablo 8. *B. thuringiensis* *cry* genleri ve Cry proteinlerinin etkili olduğu böcek takımları

Gen	Protein	Alttür	Etkili Olduğu Takım
<i>cry1</i>	Cry1	<i>kurstaki</i> (HD-1), <i>aizawai</i> , <i>sotto</i>	Lepidoptera
<i>cry2</i>	Cry2	<i>kurstaki</i> (HD-1), <i>kurstaki</i> (HD-263)	Lepidoptera, Diptera
<i>cry3A</i>	Cry3A	<i>tenebrionis</i> , <i>morrisoni</i>	Coleoptera
<i>cry3B</i>	Cry3B	<i>japonensis</i>	Coleoptera
<i>cry4</i>	Cry4	<i>israelensis</i>	Diptera
<i>cry5</i>	Cry5	<i>kurstaki</i> (DSIR732)	Coleoptera, Lepidoptera

ICP'ler; normal koşullar altında çözünmeden bulunurlar, bu nedenle insanlar ve diğer yüksek organizma grupları için bir risk oluşturmazlar. Buna karşılık pH 9,5'de çözünebilir özellik taşımaları, kristal proteinlerine yoğun bir insektisit özelliği kazandırmaktadır. δ -endotoksinler bağırsakta çözünerek protoksine dönüşürler. Daha sonra bağırsak enzimleri tarafından protoksinler parçalanarak aktif toksinler elde edilir. Aktif toksinler bağırsak epitel hücrelerinin reseptörlerine tutunarak böceğin bağırsak duvarını felce uğratar ve burayı tahrip ederek gözenekler oluştururlar. Böylece bağırsakta bulunan besin artıkları böcek vücuduna ve kana karışır (Şekil 4) (URL-10). Zehirlenen böcek, toksin aktivitesi sebebiyle hemen ölebileceği gibi 2-3 gün içerisinde kan zehirlenmesi sonucu da ölebilir (Schnepf vd., 1998) *B. thuringiensis*'in larvalar üzerinde sebep olduğu semptomlar, yavaş hareket etme, beslenmeyi bırakma, sıvı halde dışkı çıkarma, kusma ve vücut içeriklerinin kahverengiden siyaha dönüşmesi olarak sayılabilir (Knowles, 1994).



Şekil 4. Kristal proteinlerin etki mekanizması

B. thuringiensis (Bt) 1920 yılında çiftçiler tarafından pestisit olarak kullanılmaya başlanmıştır. Daha sonra 1938 yılında Fransa Sporin adı verilen ticari spor formülasyonlarını yapmaya başlamıştır (URL-11).

Günümüzde kullanılmakta olan biyo-insektisitlerin %90'ını oluşturan Bt formülasyonları, toplam insektisit pazarının da %5'ini oluşturmaktadır. Modern bitki biyoteknolojisinin kullanımı sonucunda *Bacillus thuringiensis* bakterisinden kopyalanarak verimli kültür çeşitlerine aktarılan tek bir gen (*cry*) sayesinde zararlı böceklere karşı dayanıklı genetiği değiştirilmiş (GD) bitkiler üretilebilmiştir. Yapılan bilimsel araştırmalar sonucunda da bu bitkilerin insan ve hayvan sağlığı üzerine olumsuz bir etkisine de rastlanmamıştır. Böceklere dayanıklı GD mısır ve pamuğun ABD, Çin, Hindistan, Brezilya, Arjantin ve Güney Afrika Cumhuriyeti gibi ülkelerde yaygın olarak üretimi sonucunda verimde %30'lara varan verim artışı sağlanırken insektisit kullanımında da çok önemli düşüşler gözlenmiştir. Çiftçiler dayanıklı çeşitler sayesinde insektisit ve ilaçlama için harcadıkları yakıt maliyetini en aza indirmişlerdir. GD bitkilerin kullanımı verim artışıyla birlikte ürün kalitesini de artırmıştır.

1.6.4. *Sesamia nonagrioides* ile Mücadelesi

Dünyada ve ülkemizde mısır tarımı ve üretimine en fazla zarar veren iki zararlı Lepidopterden biri mısır koçan kurdu (*Sesamia nonagrioides* Lefebvre)'dur. Bu zararlı özellikle İspanya, Fransa, İtalya, Yunanistan ve Türkiye gibi Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerde mısır üretimine çok önemli zararlar vermektedir (Cerit vd., 2006). Mısır koçan kurdu ve onunla benzer zarar şekli olan mısır kurdu ile kimyasal mücadele yapılmadığı takdirde %100'e varan larva bulaşıklıkları gözlenebilmekte olup, ürün kayıpları birinci ürün mısırdaki %10'a, geç ekilen ve ikinci ürün mısırdaki ise %100'e çıkabilmektedir (Tsitsipis, 1988; Şimşek, 1988; Cerit vd., 2006). Üç kez koruma amaçlı ilaçlı mücadele yapılmasına rağmen ikinci üründe bulaşıklık %90'lara ulaşabilmekte ve ilaçlı mücadeleye rağmen %30'lara varan dane kaybı yaşanabilmektedir (Cerit vd., 2006). Adana bölgesinde %65 oranında ikinci ürün mısır ekimi yapıldığı dikkate alındığında bu bölgedeki zararın ekonomik boyutu da oldukça yüksek olmaktadır (TKB, 2005).

Zararlılara karşı asıl ve en etkili mücadele yöntemi insektisit kullanımımızdır. Günümüzde mısır kurtları ile mücadelede kullanılan 20 farklı etken maddeye sahip çok sayıda ruhsatlı insektisit bulunduğuna belirtilmektedir. Akdeniz bölgesinde ikinci ürün mısır üretiminde mısır koçan kurduna karşı en az 2-3 defa koruyucu ilaç uygulaması önerilmektedir (Şimşek ve Güllü, 1992). İlaçlama yapılmadığı durumda larvalar bitki içerisine girmekte ve daha sonra kimyasal mücadele de imkansız hale gelmektedir.

Sesamia nonagrioides'e karşı mücadelede kolay uygulanabilirliği ve sonucun hemen alınabilmesi gibi nedenlerle üretici tarafından en fazla tercih edilen yöntem kimyasal mücadele olmuştur. Mısır bitkisi 20-30 cm boya geldiğinde ve yapılan kontrollerde %5 bulaşma tespit edildiğinde ilaçlamalara geçilmelidir. Haftada en az bir kez kontrol edilmek suretiyle bulaşık bitki (yumurta paketi, yumurtadan çıkmış larva, larva yeniği veya larva pislikleri) tespiti yapılmalıdır. Bu amaçla kullanılan kimyasal insektisitlerden bazıları; Azinphos Methyl 193 g/l, Beta Cyfluthrin 25 g/l, Cyfluthrin 50 g/l, Cypermethrin 250 g/l, Esfenvalerate 200 g/l, Profenofos 500 g/l, Thiodicarb %80, Triazophos 420 g/l, Tralomethrin 36 g/l, Zetacypermethrin 100 g/l, Parathion Methyl 360 g/l, Endosulfan %32,9, Carbaryl %5, Deltamethrin 25 g/l.'dir. Ancak, mısır tarlalarında zararlı ile mücadelede bilinçsizce yapılan ilaçlamalar, doğal düşmanları olumsuz yönde etkilemekte ve doğal dengenin bozulmasına yol açmaktadır. Bu da zararlıların zarar oranını artırmaktadır. Artan zararlı sorunlarının çözümü için, aşırı dozda ve sayıda ilaç kullanımı yoluna gidilmekte, bu sebeple gıdalarda

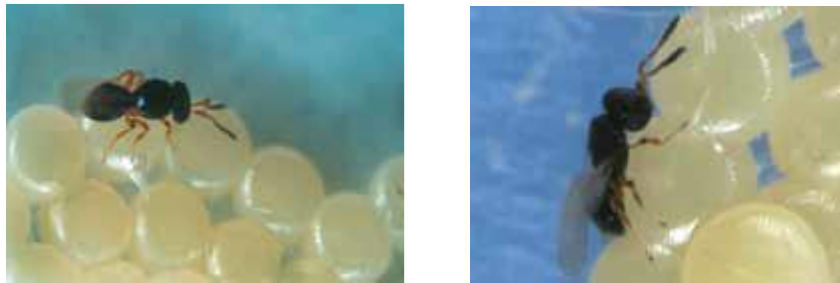
kalıntı sorununu ve gıda güvenliğini gündeme taşımaktadır. Yapılan bir araştırmada, ilaçlama yapılan alanlarda tane örneklerinin %80'inde Türk Gıda Kodeksinde belirtilen limit değerinin çok üzerinde kalıntı belirlenmiştir (Öztemiz vd., 2007).

Kültürel mücadele kapsamında, kışı tarlada kalan sap artıkları veya hasat edilen sapsar içinde geçiren *S. nonagrioides* larvaları, kelebek çıkışı başlamadan, nisan ve mayıs ayından önce tarladan toplanıp, yakılarak veya derin sürüm yapıp toprağa gömülerek önlem alınmaya çalışılmıştır. Ayrıca, hasat edilen sapsar kış aylarında hayvanlara yedirilerek ve 2. ürün erken ekilerek de zararlı ile mücadelede edilmiş olur (Özcan, 2009).

Işık tuzaklarıyla pusuya düşürmek, yem tuzakları kullanmak, feromon tuzakları kullanmak gibi yöntemlerle zararlının mekanik mücadelesi gerçekleştirilebilir. Robinson ve Pensilvanya tipi ışık tuzakları ile feromon tuzakları kullanarak mısır koçan kurdu mücadelesinde tahmin ve erken uyarı olanakları üzerinde araştırmalar yapılmıştır (Şimşek ve Güllü, 1992).

S. nonagrioides ile biyolojik mücadelede kullanılan faydalı böcek, *Trichogramma* ile yapılan ilk salım çalışmaları dünyada 1910'lu yıllarda başlamıştır. Ülkemizde ise ilk çalışmalar 1980'li yıllarda başlamış ve küçük çapta salım çalışmaları uygulanmıştır. Kitle üretim ve salım çalışmaları 1990'lı yıllarda hız kazanmış ve Akdeniz Bölgesinde araştırma sonuçları uygulamaya aktararak 2000'li yıllardan günümüze uygulamada pratik olarak kullanılmaktadır (Coşkuntuncel ve Kornoşor, 1996; Öztemiz ve Kornoşor, 1999).

Yapılan çalışmalar sonucunda Mısır koçan kurdu'nun bazı doğal düşmanları tespit edilmiştir (Tablo 9). Bunlardan Scelionidae familyasına bağlı *Telenomus busseolae* Gahan çok etkin bir yumurta parazitoiti olarak belirlenmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. Yumurta parazitoiti *Telenomus busseolae* Gahan (Hymenoptera: Scelionidae)

Ege bölgesinde *S. nonagrioides*'in mısır ve sorgumda önemli zararlar meydana getirdiği belirlenmiş ve zararlının larva parazitoiti olarak *Bracon hebetor* saptanmış, pupa parazitoiti olarak ise *Ichneumon sarcitorius*, *Pimpla turionella*, ve *Cymbium patulum* saptanmıştır (Kavut, 1985).

1986-1987 yılları arasında Yunanistan'da yapılan bir çalışmada *S. nonagrioides*'in doğal düşmanları olarak *Lydella thompsoni*, *Bracon hebetor* ve *Campoplex* sp. tespit edilmiş ve zararlının yumurta parazitoiti *Platytenomus busseolae*'nin etkinliği üzerinde çalışılmıştır (Alexandri ve Tsitsipis, 1990). *S. nonagrioides* yumurtalarının *P. busseolae* tarafından parazitlendiği ülkemizde ilk kez 1986 yılında yapılan bir çalışmada tespit edilmiştir (Kayapınar ve Kornoşor, 1990).

O. nubilalis'in yumurta parazitoiti *Trichogramma evanescens*'in aynı zamanda *S. nonagrioides*'in yumurtalarını da parazitlediği bildirilmiştir (Kayapınar ve Kornoşor, 1990). *S. nonagrioides*'in yumurta parazitoiti olan *P. busseolae*'nin tüm Akdeniz şeridinde yaygın olduğunu ve doğadan toplanan *S. nonagrioides* yumurtalarını yaklaşık %50 oranında parazitlediğini ve mevsim başında düşük, mevsim sonunda yüksek bir doğal parazitlenme meydana geldiğini ve bu zararlının biyolojik mücadelesinde bu parazitoitlerden etkili bir şekilde yararlanılabileceği bildirilmiştir (Kornoşor vd., 1994).

S. nonagrioides ile mücadelede *Bt* mısır ve değişik *Bt* toksinleri kullanılarak da mücadele denemektedir. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü ve Adana Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü'nce yürütülen ikinci ürün *Bt* mısır alan denemelerinde GD mısır çeşitleri mısır kurdu ve mısır koçan kurduna karşı çok yüksek oranda dayanıklılık sergilemiştir (Güllü, 2002; Güllü vd., 2004). İlaçlama yapılmadan üretilen *Bt* mısır 3 defa ilaçlama yapılan geleneksel çeşitten %30 daha fazla verim vermiştir.

Laboratuvar ortamında ve arazi denemelerinde *S. nanagrioides* larvalarının Cry1Ab toksinine karşı duyarlılıkları araştırılmış ve toksininin larvaların %50'sini öldüren dozunun laboratuvar ortamında 7 ng protein/cm² diyet, arazi denemelerinde ise dozu 20 ng protein/cm² diyet olarak belirlenmiştir (Farinos vd., 2004).

S. nonagrioides larvalarının Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1Ca, Cry1Fa toksinlerine karşı duyarlılıkları araştırılmış ve Cry1Ab protoksininin larvaların %50'sini öldüren dozunu 23 ng protein/cm² diyet, %90'ını öldüren dozunu ise 119 ng protein/cm² diyet olarak belirlenmiştir. Cry1Ac toksininin ise larvaların %50'sini öldüren dozunu 105 ng protein/cm² diyet, %90'ını öldüren dozunu ise 999 ng protein/cm² diyet olarak belirlenmiştir (Gonzalez-Cabrera vd., 2006).

Tablo 9. Mısır koçan kurdu'nun doğal düşmanları

Yumurta Parazitoitleri	
<i>Telenomus (=Platytenomus) busseolae</i> (Gahan)	(Hym.: Scelionidae)
<i>Trichogramma evanescens</i> Westw.	(Hym.: Trichogrammatidae)
Larva ve Larva-Pupa Parazitoitleri	
<i>Habrobracon (=Bracon) hebetor</i> Say.	
<i>Cotesia ruficrus</i> (Haliday)	(Hym.: Braconidae)
<i>Apanteles</i> spp.	
<i>Ichneumon sarcitorius</i> L.	
<i>Pimpla spuria</i> Grav.	
<i>Coccygomimus (=Pimpla) turionella</i> Bogenschütz	(Hym.: Ichneumonidae)
<i>Barichneumon</i> sp.	
<i>Syspasis rufinus</i> Grav.	
<i>Conomorium patulum</i> (Walk.)	(Hym.: Pteromalidae)
<i>Sarcophila latifrons</i> (Fallen)	(Dip.: Sarcophagidae)
Predatörleri	
<i>Adonia variegata</i> Goeze	
<i>Coccinella septempunctata</i> L.	
<i>Nephus nigricans</i> Weise	
<i>Scymnus quadriguttatus</i> Fürsch.	
<i>S. levaillanti</i> Muls.	
<i>S. pallipediformis</i> Günther,	(Col.: Coccinellidae)
<i>S. rubromaculatus</i> (Goeze)	
<i>S. subvillosus</i> (Goeze)	
<i>Serangium parcesetosum</i> Sicard.	
<i>Stethorus gilvifrons</i> (Muls.)	
<i>Synharmonia conglobata</i> (L.)	
<i>Chrysoperla carnea</i> (Steph.)	(Neu.: Chrysopidae)
<i>Orius niger</i> (W.), <i>O. minutus</i> (L.)	(Hem.: Anthocoridae)
<i>Deraecoris pallens</i> Reut.	(Hem.: Miridae)
<i>Nabis punctatus</i> Costa	(Hem.: Nabidae)
<i>Piocoris erythrocephalus</i> (P.S.)	(Hem.: Lygaeidae)
Hastalık Etmenleri	
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	(Bacillaceae)
<i>Fusarium</i> sp.	(Moniliales: Tuberculariaceae)

1.7. Çalışmanın Amacı

Yukarıda belirtilen tüm çabalara rağmen, Mısır koçan kurdu (*Sesamia nonagrioides* Lefebvre, Lepidoptera: Noctuidae)'nun mısır gövde, koçan ve daneleri üzerindeki zararı, tarımının yapıldığı ülkelerde hala etkin bir şekilde devam etmektedir. Bu zararlının etkinliğini azaltmak veya ortadan kaldırmak önemli bir konu haline gelmiştir. Bu bilgiler ışığında yapılan bu tez çalışmasının amacı, ülkemiz ve dünya mısır tarlalarında çok büyük zararlara yol açmaya devam eden *Sesamia nonagrioides*'in kültüre edilebilir bakteriyel florasını belirlemek ve bunların, zararlıya karşı mikrobiyal mücadelede kullanılma potansiyellerini araştırmaktır. Ayrıca, değişik zararlılardan izole edilmiş ve çeşitli zararlılar üzerinde yüksek öldürücü etkiye sahip oldukları bilinen bazı bakteriyel izolatların *S. nonagrioides* üzerindeki etkilerini tespit etmek ve bu etkileri karşılaştırarak *S. nonagrioides*'e karşı yeni bir mikrobiyal mücadele etmeni tespit etmek de amaçlanmıştır

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. *Sesamia nonagrioides*'in Toplanması

Çalışma için gerekli olan *Sesamia nonagrioides* (Mısır koçan kurdu) larvaları 2010-2012 yılları Temmuz-Eylül ayları arasında Adana Biyolojik Mücadele Araştırma İstasyonu Müdürlüğü arazilerinden toplandı. Larvalar, toplandıkları yer ve tarih not edildikten sonra, özel kaplara konularak laboratuvara getirildi. Larvaların makroskopik incelemeleri yapılarak ölü ve sağlıklı larvalar ayrıldı. Ölü larvalar steril kaplara konularak +4°C'de saklandı. Sağlıklı larvalar ise steril kaplara konularak taze mısır gövdeleri ve koçanları ile beslenmeye devam edildi.

2.2. *Sesamia nonagrioides*'den Kültüre Edilebilir Bakterilerin İzolasyonu

Laboratuvara getirilen sağlıklı *S. nanagrioides* larvalarından 20 adet, steril petri kapları içerisine konularak %70'lik etil alkol ile 5 dakika yüzey sterilizasyonu gerçekleştirildi. Sonra içerisinde steril saf su bulunan petrilere alınarak 2-3 kez yıkanıp, alkolden arındırıldı. Daha sonra tüpün üzerine 1 ml nütrient sıvı besiyeri ilave edildi. Steril bir homojenizatör ile larvaların iyice ezilmesi sağlandı. Elde edilen karışım bir tülbent vasıtasıyla süzüldü. Bu karışımdan 10 µl, 50 µl ve 100 µl alınarak üç ayrı nütrient agar besiyerine ekim yapıldı. Ekimler 30°C'lik etüvde 2-3 gün süre ile inkübe edildi. Kalan karışım 30°C'de 5-6 saat inkübe edildi. Bu inkübasyonun amacı, karışımda çok düşük sayıda olabilecek mikroorganizmaların sayısını artırarak, sonraki ekimde tespit edilmelerini kolaylaştırmaktır. Bu inkübe edilen karışımdan da 10 µl ve 50 µl alınarak yine nütrient agar besiyerlerine ekim yapıldı. Ayrıca, bu inkübe edilen karışım seyreltildi ve her tüpten 10 µl, 25 µl ve 50 µl alınarak ayrı ayrı nütrient agar besiyerine ekim yapıldı. Son olarak, karışımdan 1 ml alınıp, ependorf mikrosantrifüj tüp içerisinde 80°C'de 10 dakika bekletildi. Bundan da 10 µl, 25 µl ve 50 µl alınarak üç ayrı nütrient agar besiyerine ekim yapıldı. Böylece yüksek sıcaklığa dayanıklı bakterilerin izolasyonu sağlandı. Nütrient agar besiyerine yapılan ekimlerin hepsi 30°C'lik etüvde 2-3 gün süreyle inkübe edildi.

2.3. Saf Kùltürlerin Hazırlanması ve Stoklanması

İnkübasyonun ardından nùtrient agar besiyeri üzerinde büyüyen bakteriyel koloniler binoküler mikroskop altında incelendi ve farklı koloni renk ve morfolojilerine sahip olanlar özeyle dikkatlice seçilerek çizgi ekimleri yapıldı ve saf kùltürler elde edildi. Elde edilen kùltürler, numaralandırılarak, sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere %20'lik steril gliserol içersinde – 80 °C'de stoklandı.

2.4. İzolatların Morfolojik ve Boyama Özelliklerinin Belirlenmesi

2.4.1. Gram Boyama

Gram boyama, bakterilerin hücre duvarının içeriği hakkında bilgi veren bir boyama yöntemidir. Gram negatif olarak boyanan bakterilerin hücre duvarındaki peptidoglikan tabaka, gram pozitif olarak boyanan bakterilere göre çok daha incedir. Gram boyama için herbir izolat nùtrient sıvı besiyerine ekildi ve 30°C'ye ayarlı su banyosunda 16-24 saat inkübasyona bırakıldı. Büyüyen kùltürlerden bakteriyal smear hazırlandı ve alevden geçirilerek tespit edildi. Hazırlanan smear, 1 dakika kristal viole ile muamele edilerek dH₂O ile yıkandı. Kuruması beklenmeden 1 dakika lugol ile muamele edildi. Aseton-alkolle renk giderilinceye kadar yıkandıktan sonra, renk kaybını durdurmak için hemen dH₂O ile yıkandı. Safranin ile 30-60 saniye muamele edildi ve smear tekrar dH₂O ile yıkandı. Kurutulduktan sonra preperat mikroskop altında incelemeye alındı. Mor renkle boyanan bakterilerin gram pozitif, pembe renk ile boyanan bakterilerin ise gram negatif olduğuna karar verildi (Cappuccino ve Sherman, 1992).

2.4.2. Endospor Boyama

İzolatların endospor oluşturup oluşturmadığını ve oluşturuyor ise endosporun hücre içersindeki pozisyonunu belirlemek amacıyla, yalnız gram pozitif izolatlar nutrient broth besiyerine ekildi ve 48-72 saat 30°C'ye ayarlı su banyosunda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından bakteriyal smear hazırlandı ve alevden geçirilerek tespit edildi. Hazırlanan smearlar küçük bir filtre kağıdıyla kapatılarak, malaşit yeşiliyle 5 dakika

boyunca su buharı üzerinde boyandı. Daha sonra dH₂O ile yıkandı ve 30-60 saniye safranin ile muamele edildi. Tekrar dH₂O ile yıkanarak açık havada kurutuldu. Mikroskop altında incelenerek kırmızı renkli hücreler içerisinde yeşile boyanmış sporların varlığı araştırıldı (Cappuccino ve Sherman, 1992).

2.5. İzolatların Fizyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

2.5.1. İzolatların Optimum Büyüme Sıcaklıklarının Belirlenmesi

İzolatların maksimum ve minimum büyüme sıcaklıklarının belirlenmesi amacıyla bakteriler nütrient sıvı besiyerine ekildi ve 30-50°C arasındaki sıcaklıklar için 5 gün, 20-30°C arasındaki sıcaklıklar için 14 gün inkübe edilerek maksimum ve minimum büyüme sıcaklıkları ortaya çıkarıldı (Sneath, 1968).

İzolatların optimum büyüme sıcaklıklarının belirlenmesi amacıyla nütrient broth besiyeri içinde yapılan 16-24 saatlik kültürlerden, OD₆₀₀ = 0,1 olacak şekilde yeniden nütrient sıvı besiyerine ekim yapıldı. Hazırlanan kültürler 20, 30, 37, 45 ve 50°C'lerde büyütüldü. Yapılan bu kültürlerden saat başı örnekler alınarak spektrofotometrede OD₆₀₀'de absorbans değerleri ölçülerek bakterilerin optimum olarak büyüdüğü sıcaklıklar ortaya çıkarıldı (Cappuccino ve Sherman, 1992).

2.5.2. İzolatların pH Aralıklarının Belirlenmesi

İzolatların büyüebildiği pH aralığının belirlenmesi için izolatlar değişik pH değerlerine (3, 4, 6, 8, 10 ve 11) sahip nütrient broth besiyerlerine inoküle edildi ve 30°C'ye ayarlı etüvde üç gün inkübe edildi. İnkübasyon neticesinde üreme olup olmadığına spektrofotometrede (OD₆₀₀'de) ölçümler yapılarak karar verildi. Ayrıca, bakterilerin 5,7 pH'lı "sabouraud dextroz agar ve broth" besiyerinde üreme özelliği ve aynı zamanda pH'ı 6'dan düşük ve 7'den yüksek olan Voges-Proskover sıvı besiyerindeki büyüme özellikleri incelendi (Cappucino ve Sherman, 1992).

2.5.3. İzolatların NaCl Toleranslarının Belirlenmesi

İzolatların NaCl ihtiyaçlarının belirlenmesi amacıyla %3, 5, 7 ve 20 oranında NaCl eklenmiş nütrient sıvı besiyerleri hazırlandı. Bu besiyerlerinden 4'er ml deney tüplerine alınarak her izolattan ekim yapıldı ve 14 gün boyunca 30°C'ye ayarlı etüvde inkübe edildi. Üreme olan ve olmayan tüpler belirlenerek, izolatların hangi oranlarda tuzu tolere edebildiklerine karar verildi (Sneath, 1968).

2.6. İzolatların Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

2.6.1. Nişasta Hidroliz Testleri

İzolatların nişastayı hidroliz edip etmediklerinin belirlenmesi için "nişasta agar besiyerleri" hazırlandı (Ek-2). Bu besiyerini içeren petrilere herbir izolattan çizgi ekim yapıldı ve 3 ve 7 gün boyunca 30°C'ye ayarlı etüvde inkübe edildi. İnkübasyondan sonra petrilere üzerine lugol ilave edildi ve koyu kahverengi rengin oluşumu nişastanın hidroliz olduğunu, mavi rengin oluşumu ise nişastanın hidroliz olmadığını gösterdi (Benson, 1985).

2.6.2. Katalaz Testleri

Bakteriler, aerobik solunum sırasında hidrojen peroksit (H_2O_2) ve bazı durumlarda ise tamamen toksik olan süperoksitler üretmektedir. Mikroorganizmalar, oluşan bu ürünleri etkisiz hale getirmek için katalaz ve peroksidaz enzimlerini üretir. İzolatların katalaz enzimi üretilip üretilmediğini ortaya çıkarılması amacıyla "triptik soy agar besiyeri" hazırlandı. İzolatlar bu besiyeri içeren petrilere ekildikten sonra, 24-48 saat 30°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun ardından petrilere %3'lük hidrojen peroksit çözeltisi ilave edildi ve oluşan gaz kabarcıklarına göre testin pozitif olduğuna karar verildi (Cappucino ve Sherman, 1992).

2.6.3. Oksidaz Testleri

İzolatlardan oksidaz enzimi üreten üretenlerinin belirlenmesi amacıyla triptik soy agar besiyerleri hazırlandı. Herbir izolatın bu besiyeriyi içeren petrilere çizgi ekim yapıldı ve 30°C’de 24-48 saat inkübe edildikten sonra petrilere oksidaz testi ayıracağı ilave edildi. Oluşan siyah renge göre testin pozitif olduğuna karar verildi (Benson, 1985).

2.6.4. API Test Kitleri ile Bakteriyel İzolatların Tanımlanması

API Test Kitleri, minyatür hale getirilmiş biyokimyasal testlerden oluşan ve veri tabanı kullanılarak değerlendirilen bir sistemdir. Gram pozitif çubuk şekilli olan bakterilerin tür seviyesinde tanımlanmaları için API20E ve API50CHB (bioMérieux, France) test kitleri kullanıldı.

2.6.4.1. API50CHB Test Kiti

API50CH, mikroorganizmaların karbonhidrat metabolizmasının çalışmasını sağlayan 49 biyokimyasal testten oluşan bir tanımlama sistemidir. Bu kit, Enterobacteriaceae ve Vibrionaceae ilgili türleri ile *Bacillus* türleri için API50CHB/E Medium ile kullanılır.

Örnekler triptik soy agar besiyerine ekildi ve 1 gece inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra steril bir spatula yardımıyla alınan koloni “API 50CHB/E Medium” besiyerine aktararak süspansiyon haline getirildi. İnkübasyon kutuları (tepsi ve kapak) hazırlandı. Tepsi kuyucuklarına nemli ortam yaratmak amacıyla 10 ml steril saf su koyuldu ve tepsi kenarına izolat numarası yazıldı. API50 CHB stripleri steril pens yardımıyla tepsiye alındı ve hazırlanan süspansiyon pipetör yardımıyla hava kabarcığı olmayacak ve taşmayacak şekilde tüplere dağıtıldı. Düzenekler 30 °C’de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Sıfır numaralı tüp negatif kontrol olarak alındı ve tüplerde oluşan renk değişimi pozitif sonuç olarak okuma kağıdına kaydedildi. Veriler bilgisayar ortamına aktararak izolatların tür seviyesinde tanımlamaları yapıldı.

2.6.4.2. API20E Test Kiti

API20E, 21 minyatür hale getirilmiş biyokimyasal test ve veri tabanı kullanan *Enterobacteriaceae* ve zor üremeyen Gram negatif çomaklar için standart hale getirilmiş tanımlama sistemidir.

Örnekler bir gün önceden triptik soy agar besiyerine çizgi ekim yapıldı, 16 saat inkübasyondan sonra steril spatula yardımıyla alınan koloni “API Suspension Medium” ya da “API NaCl % 0.85” besiyerinde süspansiyon haline getirildi ve homojen bir karışım olması sağlandı. Hazırlanan tepsi kuyucuklarına nemli atmosfer sağlanması için 5 ml steril saf su koyulup, tepsi kenarına izolat numarası yazıldı. Steril pens ile API20E sribi tepsiye yerleştirildi. Hazırlanan bakteri süspansiyonu tüplerde hava kabarcığı kalmayacak şekilde dağıtıldı. Düzenekler 30°C etüvde 18-24 saat inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon sonrasında, metabolizma sonucu kendiliğinden ya da reaktiflerin eklenmesiyle oluşan renk değişimi okuma tablosuna göre değerlendirildi. Sonuçlar bilgisayar ortamında tanımlama programı kullanılarak elde edildi.

2.6.4.3. API of Medium Testi

API of Medium, bakterilerin oksidatif veya fermantatif glikoz metabolizmasının belirlenmesinde kullanılan ampullerden oluşan bir testtir. Testin uygulanışı şu şekildedir: Ampullerin kapakları çıkartıldı ve sıcak su banyosunda yaklaşık 2 dakika bekletilerek eritildi. Dik şekilde bekletilerek oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Böylelikle katı olan besiyerinin üst yüzeyinin pürüzsüz olması sağlandı. Soğuyan besiyerine iğne uçlu steril öze kullanılarak alınan bakteri kolonilerinden ekimler yapıldı. Oksidasyon ve fermantasyon testleri olduğundan her bakteri izolatu için 2 ayrı ampule ekim yapıldı ve fermantasyon testi için ekimden sonra besiyerinin üzeri 1 cm mineral yağ ile kaplandı. Düzenekler 30°C’de 24 saat inkübasyona bırakıldı ve sonuçlar kaydedildi. Sarı renk görünümü pozitif asidifikasyon olarak, yeşil ve mavi renkler negatif sonuç olarak kaydedildi.

2.6.4.4. API M Medium Testi

API M Medium ampüllerden oluşan bir hareket testidir. Hareket testi, bakterilerin tanımlanmasında sıklıkla kullanılan rutin testlerden biridir. Testin uygulanışı şu şekildedir: Ampullerin kapakları çıkartıldı ve sıcak su banyosunda yaklaşık 2 dakika bekletilerek eritildi. Dik şekilde bekletilerek oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Soğuyan besiyerine iğne uçlu steril öze kullanılarak alınan bakteri kolonilerinden ekimler yapıldı. Düzenekler 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı ve sonuçlar kaydedildi. Hareketli suşlar inoküle edilen bölgenin çevresine göç ederek besiyerini bulanık hale getirir.

API of Medium ve API M Medium testleri API 20E testinin tamamlayıcılarındandır.

2.6.5. VITEK-2 Test Kitleri ile Bakteriyel İzolatların Tanımlanması

VITEK-2, bakterilerin asidifikasyon, alkalinizasyon, enzim hidrolizi gibi çeşitli metabolik aktiviteleri belirleyen ve geniş bir veritabanı üzerinde tanımlanmalarını sağlayan sistemdir. Bu sistemde spor oluşturan gram pozitif basiller için BCL, gram pozitif koklar ve spor oluşturmeyen gram pozitif basiller için GP, gram negatif fermentatif ve non-fermantatif basiller içinse GN kartları kullanılır.

Örnekler triptik soy agar besiyerine ekildi ve 1 gece inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra steril bir swap yardımıyla alınan bakteri steril tuz solusyonuna aktararak süspansiyon haline getirildi. McFarland bulanıklık aralığı BCL için 1.80-2.20, GN ve GP kartları içinse 0.50-0.63 olacak şekilde ayarlandı ve süspansiyonlar kasetlere yerleştirildi. Kartlar da süspansiyonlara yerleştirilerek barkodları bilgisayar sistemine tanıtıldı ve cihazın otomatik taşıyıcı sistemine yüklendi. Yaklaşık 14-15 saat sonra sonuçlar alındı.

2.7. Bakteriyel İzolatların Moleküler Özelliklerinin Belirlenmesi

2.7.1. Genomik DNA İzolasyonu

Bakteriler bir gece önceden 3 ml Leura-Bertani (LB) sıvı besiyerine ekim yapılarak 30°C’de inkübasyona bırakıldı. İzolasyon için DNA izolasyon kiti (Promega- Wizard Plus SV Minipreps DNA Purification System) kullanıldı. İnkübasyondan sonra ependorf içine alınan kültürler 14.000 rpm’de 2 dakika santrifüj edildi. Süpernatantı uzaklaştırılan tüpler içerisine 480 µl 0.5M EDTA ilave edilip, vortekslendi. Çözünen pelletin üzerine 120 µl 10 mg/ml lizozim ilave edildi ve 37°C’de 1 saat bekletildi. Daha sonra 14.000 rpm’de 2 dakika santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırıldı. Pellet üzerine 600 µl “Nuclei Lysis Solution” eklenip karıştırıldı ve 80°C’de 5 dakika bekletilip soğutuldu. Karışıma 3 µl “20 mg/ml RNase Solution” ilave edilip tüpler 2-5 kez alt üst edildikten sonra 37 °C’de 1 saat inkübasyona bırakıldı. Oda sıcaklığına geldiğinde tüplere 200 µl “Protein Precipitation Solution” ilave edildi, 20 saniye vortekslendikten sonra 30 dakika buzda bekletilip 14.000 rpm’de 3 dakika santrifüj edildi. Süpernatant boş ependorflara alınıp, pellet atıldı. Süpernatantlara 600 µl izopropanol ilave edildi, pellet oluşuncaya kadar alt üst edildi ve 14.000 rpm’de 3 dakika santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırıldı. Pellete 600 µl etanol ilave edilip, 14.000 rpm’de 2 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar uzaklaştırıldıktan sonra etanolün iyice uzaklaşması için pellet açık havada kurumaya bırakıldı. Son olarak pellet 100 µl “DNA Rehydration Solution”da çözüldü ve 65 °C’de 1 saat bekletildi ve 4 °C’de muhafaza edildi.

2.7.2. 16S rDNA Gen Bölgesinin PCR ile Çoğaltılması

Genomik DNA’ları izole edilen bakteriyel izolatların 16S rDNA dizileri, 5'- ATT CTA GAG TTT GAT CAT GGC TCA-3’(geri) ve 5' - ATG GTA CCG TGT GTG ACG GGC GGT GTG TA-3' (ileri) primer dizileri kullanılarak PCR yöntemi ile çoğaltıldı. PCR işleminde GoTaq DNA Polymerase (Promega) enzimi kullanıldı. Enzim koşullarına göre reaksiyon ve program Tablo 10’daki gibi oluşturuldu. Çoğaltma işlemi 200 µl’lik tüplerde "Bio-Rad Thermal Cycler" da gerçekleştirildi. Elde edilen PCR ürünlerinin 5 µl’si 0,5 µg/ml etidyum bromür ihtiva eden %1’lik agaroz jelde yürütülerek, jel görüntüleme sistemi (Gel Logic; Kodak) ile görüntülendi.

Tablo 10. PCR reaksiyonu ve programı

PCR Döngüsü	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
Başlangıç Denaturasyonu	95°C	2 dk.	1
Denaturasyon	95°C	0,5-1 dk.	
Bağlanma	42-65°C	0,5-1 dk.	25-35
Uzama	72°C	1 dk.	
Son Uzama	72°C	5 dk.	1

2.7.3. *Bacillus* Cinsine Ait İzolatlarının *cry* Gen İçeriklerinin Belirlenmesi

Sn7, Sn8, Sn9, Sn10 kodlu izolatların *cry* gen içeriklerinin tespit edilebilmesi için PCR yapıldı. Bu çalışmada kullanılan genel primerler: *cry1* (ileri, 5'-CAT GAT TCA TGC GGC AGA TAA AC-3'; geri, 5'- TTG TGA CAC TTC TGC TTC CCA TT-3') , *cry2* (ileri, 5'- GTT ATT CTT AAT GCA GAT GAA TGG G-3'; geri, 5'-CGG ATA AAA TAA TCT GGG AAA TAG T-3'), *cry3* (ileri, 5'-CGT TAT CGC AGA GAG ATG ACA TTA AC-3'; geri, 5'-CAT CTG TTG TTT CTG GAG GCA AT-3') ve *cry4* (ileri, 5'GCA TAT GAT GTA GCG AAA CAA GCC -3'; geri, 5'- GCG TGA CAT ACC CAT TTC CAG GTC C-3') (Ben-Dov vd., 1997). Ayrıca PCR ürünlerini doğrulamak için *cry1* ve *cry2* genlerini içeren *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (4D1), *cry3* genini içeren *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* (BTS1) ve *cry4* genini içeren *Bacillus thuringiensis* subsp. *israilensis* (5724) suşları kullanıldı. PCR reaksiyonu Tablo 10'da gösterildiği gibi gerçekleştirildi. Elde edilen PCR ürünlerinin 5 µl'si 0,5 µg/ml etidyum bromür ihtiva eden %1'lik agaroz jelde yürütülerek, jel görüntüleme sistemi (Gel Logic; Kodak) ile görüntülendi.

2.7.4. 16S rDNA Gen Bölgelerinin pGEM-T Vektörüne Klonlanması

PCR yöntemi ile çoğaltılan 16S rDNA gen bölgeleri pGEM-T Easy Vector System (Promega)'i kullanılarak pGEM-T vektörüne klonlandı. Reaksiyon, 10 µl 2X Rapid Ligation Buffer, 8 µl Insert DNA, 1 µl pGEM-T Easy Vector ve 1µl T4 DNA Ligase olacak şekilde oluşturuldu ve 16 °C'de en az 16 saat bekletildi. Daha sonraki işlemlerde kullanmak üzere 4 °C'de saklandı.

2.7.5. Kompetent Hücre Hazırlanması

Bir gün önceden petriye ekilmiş *Escherichia coli* JM101 suşundan 3 ml Leura-Bertani (LB) besiyerine ekim yapıldı ve 37°C’de gece boyunca büyümeye bırakıldı. Hücrelerin yoğunluğu 600 nm dalga boyunda 0,1 olacak şekilde 30 ml LB besiyerine aşılandı. Hücreler, 37°C’de en az 1 saat, 600 nm dalga boyunda 0,45-0,55 arasında olana kadar inkübasyona devam edildi. İstenilen yoğunluk elde edildiğinde süspansiyonun tamamı steril falkon tüpe boşaltıldı ve soğutmalı santrifüjde 4°C’de 4.500 rpm’de 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant uzaklaştırıldı. Pellet 10 ml 100 mM’lık soğuk CaCl₂ ile çözdürüldükten sonra 30 dakika buzda bekletildi. Daha sonra tekrar 4°C’de 4.500 rpm’de 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant uzaklaştırıldı ve pellet 2 ml 100 mM’lık soğuk CaCl₂ ile çözdürüldü. Hazırlanan kompetent hücre 4°C’de en az 2 saat bekledikten sonra kullanıldı.

2.7.6. 16S rDNA Gen Bölgelerinin Kompetent *E. coli* JM101’e Aktarımı

Steril ependorfa 200 µl kompetent hücre ve 3-4 µl ligasyon ürününden koyulup 30 dakika buzda bekletildi. Daha sonra 46 °C’de 2 dakika ısıyla muamele edildikten sonra 1 ml LB sıvı besiyeri ilave edilip, 37 °C’de 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinden sonra 6.000 g’de 3 dakika santrifüj edildi. Yaklaşık 50 µl kalacak şekilde süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra pellet dikkatli bir şekilde çözdürüldü. LB^{Amp} agar besiyerine 40 µl X-Gal (40 mg/ml), 40 µl IPTG (24 mg/ml) ve transform olmuş hücre yayma ekim yapıldı. Petriler 37 °C’de 16 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra içerisine plazmid alan hücrelerin beyaz koloni oluşturmasından yararlanılarak klonlar seçildi.

2.7.7. Rekombinant Plazmidlerin İzolasyonu ve Restriksiyon Endonükleaz (*EcoRI*) ile Muamelesi

Transformasyon sonucunda petri üzerinde oluşan mavi/beyaz koloni rengine göre seçilen beyaz kolonilerden, içerdikleri plazmid DNA’larını izole etmek için LB^{Amp} sıvı besiyerine ekim yapıldı ve 37 °C’de 200 rpm’de gece boyu inkübe edildi. Plazmid DNA’larının izolasyonu için hızlı miniprep metodu kullanıldı. Gece kültürleri 14.000

rpm'de 3 dakika santrifüj edilerek çöktürüldü. Hücrelerin üzerindeki süpernatant geride 50 µl kalacak şekilde uzaklaştırıldı ve pellet çözününceye kadar vortekslendi. Üzerine 300 µl TENS tamponu (10 mM Tris pH 8.0, 1 mM EDTA pH 8.0, 0.1 N NaOH, % 0.5 SDS) ilave edildi, 4-5 kez alt üst edilen tüpe 150 µl 3M Sodyum Asetat (pH 5.2) koyuldu. Tekrar alt üst edilen tüp 10-15 dakika buzda bekletildi. Daha sonra 14.000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Bu aşamada süpernatant boş ependorfa alınarak üzerine 900 µl % 96'lık etanol ilave edilip, 14.000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra % 70'lik etanol ilave edildi ve 14.000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırıldı. Etanolün iyice uçması için açık havada bekletildi. Son olarak pellet 30 µl TE tamponuyla çözüldü ve yürütme işleminde görüntünün daha net görünmesini sağlamak için 3 µl RNaz ilave edildi. Elde edilen plazmidlerin 5 µl'si 0,5 µg/ml etidyum bromür ihtiva eden %1'lik agaroz jelde yürütülerek, jel görüntüleme sistemi (Gel Logic; Kodak) ile görüntüledi.

İzole edilen plazmid DNA'larının 16S rDNA gen bölgesini içerip içermediğini tespit etmek için plazmid DNA'ları EcoRI restriksiyon enzimi ile muamele edildi. 10 µl DNA, 0,5 µl EcoRI (promega), 2 µl enzime ait 10× reaksiyon tamponu ve 7,5 µl H₂O olacak şekilde 20 µl'lik hacimlerde reaksiyonlar hazırlandı ve 37°C'de 2 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 2-5 µl yürütme boyası ilave edildi ve 65°C'de 10 dakika enzimin inaktive olması için bekletildi. Ardından %1'lik jelde elektroforez yapıldı. Klonlanan DNA fragmentlerini içeren klonlar belirlendi.

2.7.8. Klonların İçerdiği DNA Parçalarının Baz Dizilimlerinin Belirlenmesi

Doğrulan klonlar 5 ml LB^{Amp} sıvı besiyerine ekildi ve 37 °C'de 200 rpm'de gece boyu inkübe edildi. Kültürler 16 saatlik inkübasyon sonunda 14.000 rpm'de 2 dakika çöktürüldükten sonra plazmit izolasyon kiti (Fermantas-GeneJET Plasmid MiniPrep Kit) kullanılarak izole edildi. Plazmid DNA konsantrasyonları OD₂₆₀'da belirlendi. Tüm DNA'lardan 20 µl'lik hacim içinde 20 ng/µl konsantrasyonlarında hazırlandı. Tüpler etiketlendikten sonra MacroGen Firmasına (Hollanda) DNA bazlarının otomatik analiz edilmesi için gönderildi.

2.7.9. Elde Edilen Baz Dizilimlerinin İncelenmesi

Sekans sonucunda elde edilen 16S rDNA gen bölgesinin baz dizilimi gen bankasında bulunan diğer dizilerle karşılaştırıldı ve Mega (5.05) programı ile de bu dizilerin birbirleriyle olan benzerlikleri karşılaştırıldı. Bu programda analiz için Neighbor-Joining metodu, filogeni testi için 1.000 tekrarlı Bootstrap metodu kullanılarak izolatların filogenetik ağacı çizildi, ağaçta 50'nin üzerindeki benzerlikler gösterildi. Sonuçlar değerlendirildi.

2.7.10. *Bacillus* Cinsi İzolatların Protein İçerikleri

2.7.10.1. *Bacillus* Cinsi İzolatların Spor ve Kristal Süspansiyonlarının Hazırlanması

B. thuringiensis izolatları “nütrient agar” besiyerlerinde beş gün büyütüldü. Besiyerlerinden toplanan spor-kristal karışımları soğuk 1 M'lık NaCl'de süspense edildi. Daha sonra bu karışım 13000×g' de 4 °C'de 5 dakika santrifüj edildi. Elde edilen pelte steril ddH₂O ile iki kez yıkandı. Pelte steril ddH₂O'da çözüldü. Elde edilen proteinin konsantrasyonu Bradford yöntemi (1976) ile tayin edildi. Kullanılincaya kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

2.7.10.2. SDS-Poliakrilamid Jel Elektrofrez

B. thuringiensis izolatlarındaki kristal proteinleri tespit etmek için spor-kristal karışımları sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektrofrezinde (SDS-PAGE) analiz edildi.

Miktarları tayin edilmiş olan protein numunelerinden uygun miktarlarda (10 µl) alındı. Bu numunelere muamele tamponu (60 mM Tris-HCl (pH 6,8), %25 Gliserol, %2 SDS, %5 2-merkaptoetanol, %0,1 bromofenol blue) ilave edildikten sonra numuneler kaynayan su içerisinde 10 dakika bekletildi. Daha sonra Laemmli (1970) tarafından tanımlanan %10'luk SDS-PAGE'e yüklendi. Jele 30 mA akım uygulanarak ayrılma işlemi gerçekleştirildi.

Ayırma işlemini sonrası boyamadan önce, yürütülen proteinlerin jelde buldukları yerde kalmasını sağlamak ve istenmeyen kimyasalları (üre, tampon çözelti) uzaklaştırmak için etanol ve asetik asit çözeltisi içerisinde sabitleme yapıldı. Boyama işlemi için gümüş nitrat jelle emdirildi. Jel, görüntü oluşumu için sodyum hidroksit ve formaldehit çözeltisi içerisine alındı. Görüntü oluşumu sağlandıktan sonra jel görüntüsü tarayıcı yardımıyla bilgisayar ortamına aktarıldı.

2.8. Bakteriyel İzolatların İnsektisidal Etkilerinin Belirlenmesi

2.8.1. *S. nonagrioides*'ten İzole Edilen Bakterilerin İnsektisidal Aktivite Testleri

S. nonagrioides'ten izole edilen ve karakterizasyonları yapılan kültüre edilebilir izolatlardan spor oluşturmayanlar 24-48 saat, spor oluşturanlar ise 96 saat 30°C'ye ayarlı sallayıcıda 5 ml nütrient sıvı besiyeri içerisinde inkübe edildi. Sonra 3000×g'de 10 dakika santrifüj edildi. Hücrelerin oluşturduğu pellet 5 ml steril PBS'de çözüldü. Bakteri yoğunluğu, spektrofotometrede ölçülerek OD₆₀₀'de 1,89 ($1,8 \times 10^9$ bakteri/ml) olacak şekilde ayarlandı (Ben-Dov vd., 1995).

Uygun konsantrasyonlarda hazırlanan izolatlar, dairesel parçalara ayrılan mısır koçanları ile muamele edildi ve 15 cm çapındaki plastik kutulara yerleştirildi. Sonra bu kutulara, 3-4 saat aç bırakılmış, sağlıklı 3. evre *S. nonagrioides* larvalarından 10'ar adet yerleştirildi. Deney düzenekleri 28°C'de 12:12 ışık periyodunda ve %60 nem ortamında gerçekleştirildi ve 15 gün boyunca günlük takip edildi. Kontrol grubunda ise steril PBS kullanıldı. Tüm denemeler üç defa tekrar edildi ve 15 gün sonunda ölüm oranları Abbott formülüne göre hesaplandı (Abbott, 1925).

2.8.2. Yüksek Öldürücü Etkili *Bacillus* Cinsi Bakterilerin İnsektisidal Aktivite Testleri

Farklı zararlılardan izole edilmiş ve zararlılar üzerinde yüksek oranda öldürücü etkiye sahip 3 *Bacillus* izolatı kullanıldı (Tablo 11). Bu izolatlar, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan sağlandı. Bakteri süspansiyonlarının hazırlanması ve biyotest

düzeneginin kurulması 2.8.1’de belirtildiği gibi gerçekleştirildi. Sonuçlar 15 gün sonunda değerlendirildi.

Tablo 11. Yüksek öldürücü etkisi bilinen *Bacillus* izolatları

Kaynak	Bakteri Kodu	Bakteri
<i>Lymantria dispar</i>	Lyd4	<i>Bacillus thuringiensis</i>
<i>Malacosoma neustria</i>	MnD	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstakii</i>
<i>Balaninus nucum</i>	BnBt	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstakii</i>

2.8.3. Farklı Doz Denemeleri

2.8.1 ve 2.8.2 numaralı testler sonucunda *Sesamia nonagrioides* üzerinde yüksek öldürücü etkiye sahip oldukları belirlenen 6 izolatın (Sn8, Sn10, Sn14, BnBt ve MnD) zararlı üzerinde doz denemeleri yapıldı. Belirlenen izolatlar 2.8.1’de belirtildiği gibi hazırlandı.

Hazırlanan karışımın konsantrasyonları $1,8 \times 10^9 \times \frac{1}{2}$ ve $1,8 \times 10^9 \times 2$ bakteri olacak şekilde ayarlandı. Uygun konsantrasyonlarda hazırlanan izolatlar, larvalara verilecek mısır koçanlarına iyice bulaştırıldı. Hazırlanan koçanlara 10’ar adet sağlıklı larva bırakıldı ve deney düzenekleri 28°C’de 12:12 ışık periyodunda ve %60 nem ortamında 15 gün boyunca günlük takip edildi. Kontrol grubunda ise steril PBS kullanıldı. Deneyler üçer tekrarlı olarak gerçekleştirildi ve 15 gün sonunda ölüm oranları Abbott formülüne göre hesaplandı (Abbott, 1925).

3. BULGULAR

3.1. *Sesamia nonagrioides* Larvalarından Bakteri İzolasyonu

Bu çalışmada, Adana ve çevresindeki mısır alanlarından toplanan *Sesamia nonagrioides* (Mısır koçan kurdu) larvalarından 4 tanesi ölü larvalardan olmak üzere toplam 15 bakteriyel izolat elde edildi. İzolasyonu gerçekleştirilen bakterilerin daha sonra morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler tanımlamaları yapılarak insektisidal etkileri araştırıldı.

İzolasyon çalışmaları sonucunda *S. nonagrioides* larvalarından farklı morfolojik özelliklerde 15 kültüre edilebilir bakteri izole edildi. İzolatların 4 tanesinin yüksek sıcaklıklara (80°C) dayanıklı olduğu belirlendi.

Saflaştırılan 15 izolat Sn1, Sn2, Sn3, Sn4, Sn5, Sn6, Sn7, Sn8, Sn9, Sn10, Sn11, Sn12, Sn13, Sn14 ve Sn15 olarak numaralandırıldı.

3.2. Bakteriyel İzolatların Morfolojik ve Boyama Özellikleri

İzolatların koloni rengi ve şekli gibi morfolojik özellikleri makroskobik olarak ve binoküler mikroskop altında incelenerek belirlendi. Bu inceleme sonuçlarına göre; Sn1 numaralı izolatın krem renkli düz-yuvarlak olduğu, Sn2 numaralı izolatın açık krem renkli düz-yuvarlak, Sn3 numaralı izolatın krem renkli düz-yuvarlak, Sn4 numaralı izolatın krem renkli düz-yuvarlak, Sn5 ve Sn6 numaralı izolatların sarı renkli düz-yuvarlak, Sn7 numaralı izolatın krem renkli dalgalı-yuvarlak, Sn8 numaralı izolatın açık krem renkli düz-yuvarlak, Sn9 ve Sn10 numaralı izolatların krem renkli dalgalı-yuvarlak, Sn11 numaralı izolatın krem renkli düz-yuvarlak, Sn12 ve Sn13 numaralı izolatlarının koyu krem renkli düz-yuvarlak ve Sn14 numaralı izolatın krem renkli düz-yuvarlak, Sn15 numaralı izolatın ise turuncu renkli düz-yuvarlak koloni morfolojilerine sahip olduğu belirlendi (Tablo 12).

Yapılan gram boyama ve endospor boyama sonucunda bakterilerin hücre şeklinin Sn12 hariç basil, Sn12'nin ise kok olduğu belirlendi. Sn5, Sn7, Sn8, Sn9, Sn10, Sn12, Sn15 numaralı izolatların gram pozitif, Sn1, Sn2, Sn3, Sn4, Sn6, Sn11, Sn13 ve Sn14 numaralı izolatların ise gram negatif olduğu belirlendi. Gram pozitif bakterilerden Sn7, Sn8, Sn9 ve Sn10'un endospor ihtiva ettiği belirlendi.

Sn3, Sn5, Sn12 numaralı bakterilerin hareketsiz, Sn1, Sn2, Sn4, Sn6, Sn7, Sn8, Sn9, Sn10, Sn11, Sn13, Sn14 ve Sn15 numaralı bakterilerin ise hareketli olduğu tespit edildi.

Tablo 12. Bakteriyeel izolatların morfolojik ve boyama özellikleri

İzolatlar	Kaynak	Koloni Rengi	Koloni Şekli	Hareket	NB'de Görünüm	Hücre Şekli	Gram Boyama	Spor Boyama
Sn1	Ölü (Larva)	Krem	Düz Yuvarlak	+	Bulanık	Basil	-	-
Sn2	Ölü (Larva)	Açık Krem	Düz Yuvarlak	+	Bulanık	Basil	-	-
Sn3	Ölü (Kelebek)	Krem	Düz Yuvarlak	-	Bulanık	Basil	-	-
Sn4	Ölü (Pupa)	Açık Krem	Düz Yuvarlak	+	Bulanık	Basil	-	-
Sn5	Canlı	Sarı	Düz Yuvarlak	-	Bulanık	Basil	+	-
Sn6	Canlı	Sarı	Düz Yuvarlak	+	Bulanık	Basil	-	-
Sn7	Canlı	Krem	Dalgalı Yuvarlak	+	Bulanık	Basil	+	+
Sn8	Canlı	Açık Krem	Düz Yuvarlak	+	Çökelme	Basil	+	+
Sn9	Canlı	Krem	Dalgalı Yuvarlak	+	Bulanık	Basil	+	+
Sn10	Canlı	Krem	Dalgalı Yuvarlak	+	Bulanık	Basil	+	+
Sn11	Canlı	Krem	Düz Yuvarlak	+	Bulanık	Basil	-	-
Sn12	Canlı	Koyu Krem	Düz Yuvarlak	-	Bulanık	Kok	+	-
Sn13	Canlı	Koyu Krem	Düz Yuvarlak	+	Bulanık	Basil	-	-
Sn14	Canlı	Krem	Düz Yuvarlak	+	Bulanık	Basil	-	-
Sn15	Canlı	Turuncu	Düz Yuvarlak	+	Bulanık	Basil	+	-

3.3. Bakteriyal İzolatların Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri

Mikroorganizmaların büyümelerinde etkili olan pH, NaCl ve sıcaklık faktörlerinin optimum aralıklarının belirlenmeleri için çeşitli aralıklarda testler yapıldı. Bu testlerin sonuçları Tablo 13’de verilmektedir. Elde edilen bu sonuçlara göre tüm izolatların pH 8’de büyüebildiği, buna karşılık pH 3’de sadece Sn9 ve Sn11 kodlu bakterilerin, pH 4’te ise Sn3, Sn4, Sn9, Sn11, Sn13 ve Sn14 kodlu bakterilerin büyüebildiği görüldü. Ayrıca, pH 11’de sadece Sn6’nın büyüemediği tespit edildi.

Tüm bakterilerin 20 ve 30°C’de rahatlıkla büyüebildiği, 37°C’de Sn6 ve Sn9 kodlu bakterilerin büyüemediği görüldü. Sn2, Sn7, Sn8, Sn13 kodlu bakterilerin 50°C’de büyüebildiği diğerlerinin büyüemediği görüldü.

Tablo 13. Bakteriyal izolatların fizyolojik özellikleri

İzolatlar	pH Testi						Tuz Testi (%)			Sıcaklık Testi (°C)				
	3	4	5	6	8	11	3%	5%	7%	20	30	37	45	50
Sn1	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
Sn2	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sn3	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Sn4	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Sn5	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Sn6	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-
Sn7	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Sn8	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sn9	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
Sn10	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
Sn11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Sn12	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Sn13	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sn14	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Sn15	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

Bakterilerin tür tayininde kullanılan kriterlerden birisi de bazı enzimleri üretip üretmediklerinin, bazı organik maddeleri sentezleyip sentezleyemediklerinin ve bazı organik maddeleri parçalayıp parçalayamadıklarının belirlenmesidir. Bu amaçla nişasta hidrolizi, oksidaz ve katalaz testleri yapıldı. Test sonuçları Tablo 14’de verilmektedir. Katalaz testi sonucunda izolatların hepsinin katalaz enzimini ürettiği gözlemlendi. Oksidaz testinde ise Sn1, Sn2, Sn3, Sn5, Sn6, Sn11 ve Sn14 numaralı izolatların oksidaz enzimi ürettiği Sn4, Sn7, Sn8, Sn9, Sn10, Sn12, Sn13 ve Sn15 numaralı izolatların ise oksidaz enzimi üretmediği belirlendi. Nişasta hidrolizi testinde ise Sn6, Sn7, Sn9, Sn10 ve Sn11 numaralı izolatların nişastayı hidroliz ettiği sonucuna varıldı.

Tablo 14. Bakteriyal izolatların bazı biyokimyasal özellikleri

İzolatlar	Katalaz Testi	Oksidaz Testi	Nişasta Testi
Sn1	+	+	-
Sn2	+	+	-
Sn3	Z+	+	-
Sn4	Z+	-	-
Sn5	Z+	-	+
Sn6	Z+	+	+
Sn7	+	-	+
Sn8	+	-	-
Sn9	+	-	+
Sn10	Z+	-	+
Sn11	Z+	+	+
Sn12	+	-	-
Sn13	+	-	-
Sn14	+	+	-
Sn15	Z+	-	-

Z: Zayıf

API 50CHB test küpüllerine yapılan ekimlerin sonunda sıfır numaralı tüp kontrol olarak alındı ve renk değişimi olan tüpler pozitif sonuç olarak değerlendirildi. Aynı şekilde API 20E test küpüllerine yapılan ekimlerin bir kısmı ayıraç (TDA, JAMES, VP1-VP2, NIT1-NIT2) ilave edilerek diğer kısmı ise direk renk değişimi gözlenmesiyle izolatların metabolik ve biyokimyasal özellikleri belirlendi. API 20E ve API 50CHB test panellerinin pozitif ve negatif sonuçları ise Şekil 6 ve 7’de gösterildiği gibidir.



Şekil 6. API 20E test sisteminin pozitif (üstte) ve negatif (altta) sonuçları



Şekil 7. API 50CHB test sisteminin pozitif (solda) ve negatif (sağda) sonuçları

Tablo 15’de izole edilen gram pozitif Sn5, Sn7, Sn8, Sn9, Sn10, Sn12 ve Sn15 kodlu bakterilerin API 50 CHB panel test sistemindeki biyokimyasal test sonuçları görülmektedir. Tablo 16’de ise gram pozitif ve gram negatif bakterilerin API 20E panel test sistemindeki biyokimyasal test sonuçları görülmektedir..

Tablo 15. Gram pozitif izolatların API 50 CHB test sonuçları

Testler	Açık Adı	Sn5	Sn7	Sn8	Sn9	Sn10	Sn12	Sn15
GLY	Glycerol	+	+	-	+	+	+	-
ERY	Erythriol	+	+	+	+	+	+	+
DARA	D-Arabinose	+	-	-	+	+	-	-
LARA	L-Arabinose	+	-	-	+	+	+	-
RIB	D-Ribose	+	+	+	-	+	+	-
DXYL	D-Xylose	-	+	+	+	+	+	+
LXYL	L-Xylose	+	+	+	+	+	+	+
ADO	D-Adonitol	+	+	+	-	+	-	+
MDX	Methyl- β -D-Xylopyranoside	+	+	+	+	-	+	+
GAL	D-Galactose	-	-	+	+	+	+	+
GLU	D-Glucose	-	-	+	-	+	+	-
FRU	D-Fructose	+	+	+	+	+	+	+
MNE	D-Mannose	+	+	-	-	+	+	+
SBE	L-Sorbose	-	-	-	+	+	-	+
RHA	L-Rhamnose	-	+	-	+	-	+	+
DUL	Dulcitol	+	+	+	+	-	+	-
INO	İnosidol	+	+	-	+	+	+	+
MAN	D-Mannitol	+	+	+	+	+	+	+
SOR	D-Sorbitol	+	-	+	-	-	+	+
MDM	Methyl- α D-mannopyranoside	-	+	+	+	+	+	-
MDG	Methyl- α D-glucoopyranoside	+	+	-	+	+	+	+
NAG	N-Asetylglucosamine	+	+	+	+	+	+	+
AMY	Mygdalin	-	-	+	+	+	+	+
ARB	Arbutin	+	+	+	-	+	-	+
ESC	Esculin-ferric sitrate	+	+	-	+	+	+	+
SAL	Salisin	-	+	+	+	+	+	-
CEL	D-Celibiose	-	+	+	+	+	+	+
MAL	D-Maltose	-	+	+	-	-	+	+
LAC	D-Lactose (bovineorgine)	+	-	+	-	+	+	+
MEL	D-Melibiose	+	+	-	+	+	+	+
SAC	D-Saccharose (sucrose)	+	-	-	+	+	-	-
TRE	D-Trehalose	+	+	+	+	+	+	+

Tablo 15'in devamı

INU	İnulin	+	+	-	-	+	+	+
MLZ	D-Melezitoz	+	+	-	+	+	+	-
RAF	D-Raffinose	+	+	+	+	+	+	+
AMD	Amidon (starch)	+	-	-	+	+	-	-
GLYG	Glycogen	+	+	+	-	+	+	-
XLT	Xylitol	-	+	+	+	-	+	-
GEN	Gentiobiose	-	+	+	+	+	+	-
TUR	D-Turanose	+	+	+	+	+	+	-
LYX	D-Lyxose	+	-	-	+	+	-	+
TAG	D-Tagatose	+	+	+	+	-	+	-
DFUG	D-Fucose	+	+	+	+	+	+	-
LFUC	L-Fucose	+	+	-	+	+	-	+
DARL	D-Arabitol	-	+	+	+	+	+	+
LARL	L-Arabitol	+	+	+	-	+	-	+
GNT	Potassium gluconate	+	+	+	+	-	+	+
2KG	Potassium 2- ketogluconate	+	+	+	+	+	-	+
5 KG	Potassium 5- ketogluconate	+	+	+	-	+	+	+

Tablo 16. İzolatların API 20E test sonuçları

Testler	Substrat	Aktivite	Sn 1	Sn 2	Sn 3	Sn 4	Sn 5	Sn 6	Sn 7	Sn 8	Sn 9	Sn 10	Sn 11	Sn 12	Sn 13	Sn 14	Sn 15
ONPG	ONPG	β-galaktosidaz	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+
ADH	Arginin	Arginin dihidrolaz	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
LDC	Lisin	Lisin dekarboksilaz	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
ODC	Ornitin	Ornitin dekarboksilaz	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-
CIT	Sitrat	Sitrat kullanımı	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
H ₂ S	Na thiosulfate	H ₂ S üretimi	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+
URE	Üre	Üre hidrolizi	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+
TDA	Triptofan	Deaminaz	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+
IND	İndol	İndol üretimi	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
VP	Na piruvat	Aseton üretimi	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-
GEL	Kömür jelatin	Jelatinaz	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-
GLU	Glukoz	Fermantasyon / oksidasyon	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+
MAN	Mannitol	Fermantasyon / oksidasyon	-	+	+	+	+	Z+	-	+	+	+	+	-	+	+	+
INO	İnositol	Fermantasyon / oksidasyon	-	+	-	Z+	+	Z+	-	-	Z+	+	-	+	Z+	-	-
SOR	Sorbitol	Fermantasyon / oksidasyon	-	+	-	Z+	+	Z+	-	+	+	+	Z+	+	Z+	+	+
RHA	Ramnoz	Fermantasyon / oksidasyon	-	+	+	+	+	-	-	+	Z+	+	+	+	+	+	+
SAC	Sucrose	Fermantasyon / oksidasyon	-	+	Z+	+	+	Z+	-	+	-	+	-	+	+	+	+

API test kitlerinden elde edilen sonuçlar API Software programında değerlendirilerek izolatların tanımlaması yapıldı. İzolatların benzerlik gösterdiği bakteriler ve benzerlik oranları Tablo 17’de verildi. Buna göre Sn1 ve Sn5 kodlu izolatların tanımlaması gerçekleştirilemedi. Diğer izolatlar ise tür seviyesinde tanımlandı.

Tablo 17. API sonuçları ile tanımlanan bakteriyel izolatlar

İzolatlar	Bakteri Türü	Benzerlik (%)
Sn1	Tanımlanamadı	-
Sn2	<i>Morganella morganii</i>	99.9
Sn3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	97.7
Sn4	<i>Citrobacter freundii</i>	98.3
Sn5	Tanımlanamadı	-
Sn6	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	99.7
Sn7	<i>Bacillus thuringiensis</i>	95.8
Sn8	<i>Bacillus pumilus</i>	99.9
Sn9	<i>Bacillus thuringiensis</i>	94.8
Sn10	<i>Bacillus weihenstephanensis</i>	90.8
Sn11	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	97.7
Sn12	<i>Staphylococcus sciuri</i>	98.7
Sn13	<i>Enterobacter cloacae</i>	95.0
Sn14	<i>Serratia marcescens</i>	96.9
Sn15	<i>Microbacterium arborescens</i>	99.9

VITEK-2 panel test sistemi ile tam otomatik olarak bakterilerin asidifikasyon, alkalinizasyon, enzim hidrolizi gibi çeşitli metabolik aktiviteleri belirlendi ve kendi veritabanı üzerinde sonuçlar değerlendirildi.

Gram pozitif sporsuz kok ve basil bakteriler için VITEK-2 GP kartı, gram pozitif sporlu bakteriler için VITEK-2 BCL kartı, gram negatif kok ve basil bakteriler içinse VITEK-2 GN kartı kullanılarak biyokimyasal bazı özellikler test edildi ve sonuçları Tablo 18, 19, 20’de gösterilmiştir.

Tablo 18. Gram pozitif sporsuz izolatların VITEK-2 test sonuçları

Test	Açık Adı	Sn5	Sn12	Sn15
AMY	D-Amygdalin	-	+	+
PIPLC	Phosphatidylinositol Phospholipase C	+	+	-
dXYL	D-Xylose	-	-	-
ADH1	Arginine Dihydrolase 1	+	+	+
BGAL	Beta-Galactosidase	-	-	+
AGLU	Alpha-Glukosidase	+	+	+
APPA	Ala-Phe-Pro Arylamidase	+	-	+
CDEX	Cyclodextrin	-	-	+
AspA	L-Aspartate Arylamidase	-	-	+
BGAR	Beta-Galactopyranosidase	-	-	+
AMAN	Alpha-Mannosidase	+	-	+
PHOS	Phosphatase	-	+	-
LeuA	Leusine Arylamidase	+	-	+
ProA	L-Proline Arylamidase	+	-	+
BGURr	Beta Glucuronidase	-	-	+
AGAL	Alpha-Galactosidase	-	-	-
PyrA	L-Pyrrolidonyl-Arylamidase	+	-	-
BGUR	Beta Glucuronidase	-	-	-
AlaA	Alanine Arylamidase	+	-	+
TyrA	Tyrosine Arylamidase	+	-	-
dSOR	D-Sorbitol	-	+	+
URE	Urease	-	-	-
POLYB	Polymixin B Resistance	-	-	-
dGAL	D-Galactose	-	+	-
dRIB	D-Ribose	-	+	+
ILATk	L-Lactate Alkanization	+	+	+
LAC	Lactose	-	-	+
NAG	N-Acetyl-D-Glucosamine	-	-	-
dMAL	D-Maltose	+	+	-
BACI	Bacitrasin Resistance	-	+	-
NOVO	Novobiosin Resistance	-	+	+
NC6.5	Growth in 6.5% NaCl	-	+	+
dMAN	D-Mannitol	-	+	+
dMNe	D-Mannose	-	+	+
MBdG	Methyl-B-D-Glucopyranosidase	-	+	-
PUL	Pullulan	-	-	-
dRAF	D-Raffinose	-	-	-
O129R	O/129 Resistance	-	+	-
SAL	Salicin	-	+	-
SAC	Saccharose	+	+	-
dTRE	D-Trehalose	-	+	-
ADH2s	Arginine Dihydrolase 2	+	-	+
OPTO	Optochin Resistance	+	+	+

Tablo 19. *Bacillus* cinsi izolatların VITEK-2 test sonuçları

Testler	Açık Adı	Sn7	Sn8	Sn9	Sn10
BXYL	Beta-Xylosidase	+	+	-	+
LysA	L-Lysine Arylamidase	+	+	+	+
AspA	L-Aspartate Arylamidase	-	+	-	+
LeuA	Leusine Arylamidase	+	-	+	+
PheA	Phenylalanine Arylamidase	+	+	+	-
ProA	L-Proline Arylamidase	-	+	-	+
BGAL	Beta-Galactosidase	+	-	+	+
PyrA	L-Pyrrolidonyl-Arylamidase	+	+	+	+
AGAL	Alpha-Galactosidase	+	+	-	-
AlaA	Alanine Arylamidase	+	+	+	+
TyrA	Tyrosine Arylamidase	+	+	+	+
BNAG	Beta-N-Acetyl-Glucosamine	+	+	-	+
APPA	Ala-Phe-Pro Arylamidase	-	-	-	+
CDEX	Cyclodextrin	-	-	-	-
dGAL	D-Galactose	+	-	+	+
GLYG	Glycogen	+	-	-	+
INO	Myo-İnositol	+	-	-	+
MdG	Methyl-A-D-Glucopyranoside Asidification	+	+	-	-
ELLM	Ellman	+	-	+	+
MdX	Methyl-D-Xyloside	-	-	-	+
AMAN	Alpha-Mannosidase	-	+	-	+
MTE	Maltotriose	+	+	+	-
GlyA	Glycine Arylamidase	+	-	+	-
dMAN	D-Mannitol	+	-	-	+
dMNE	D-Mannose	+	+	+	-
dMLZ	D-Melezitose	-	-	-	-
NAG	N-Acetyl-D-Glucosamine	+	+	+	-
PLE	Palatinose	+	+	+	+
IRHA	L-Rhamnose	+	+	+	+
BGLU	Beta-Glucosidase	+	+	+	+
BMAN	Beta-Mannosidae	+	-	-	+
PHC	Phosphoryl Choline	-	+	-	-
PVATE	Pyruvate	+	+	+	+
AGLU	Alpha-Glucosidase	+	+	-	-
dTAG	D-Tagatose	+	+	-	+
dTRE	D-Trehalose	+	-	+	-
INU	Inulin	+	-	-	+
dGLU	D-Glucose	-	-	+	+
dRIB	D-Ribose	+	-	+	+
PSCNa	Putrecine Assimilation	+	-	-	-
NaCl 6.5%	Growth in 6.5% Nacl	+	+	+	+
KAN	Kanamycin resistance	+	+	-	+

Tablo 19'un devamı

OLD	Oleandomycin resistance	+	+	-	+
ESC	Esculin hydrolysis	+	+	+	+
TTZ	Tetrazolium red	-	+	+	+
POLYB_R	Polymixin_B resistance	+	-	+	-

Tablo 20. Gram negatif izolatların VITEK-2 sonuçları

Testler	Açık Adı	Sn 1	Sn 2	Sn 3	Sn 4	Sn 6	Sn 11	Sn 13	Sn 14
APPA	Ala-Phe-Pro Arylamidase	-	-	-	-	+	-	-	-
ADO	Adonitol	-	-	+	-	-	+	+	+
PyrA	L-Pyrrolidonyl-Arylamidase	+	-	+	+	+	+	+	+
IARL	L-Arabitol	-	-	+	-	-	-	-	+
dCEL	D-Cellobiose	-	-	+	-	-	+	+	-
BGAL	Beta-Galactosidase	-	-	+	+	-	+	+	-
H2S	H2S Production	-	+	+	+	-	-	-	-
BNAG	Beta-N-Acetyl-Glucosamine	-	-	-	-	-	+	-	+
AGTp	Glutamyl Arylamidase pNA	+	-	+	-	+	-	-	-
dGLU	D-Glukoz	-	+	-	+	-	+	+	+
GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase	-	+	+	+	+	+	+	-
OFF	Fermantation/Glucose	-	+	+	+	-	+	+	+
BGLU	Beta-glucosidase	-	-	+	-	+	+	+	+
dMAL	D-Maltose	-	-	+	+	-	+	+	+
dMAN	D-Mannitol	-	-	+	+	-	+	+	+
dMNE	D-Mannose	-	+	+	+	-	+	+	+
BXYL	Beta-Xylosidase	-	-	+	-	-	+	-	-
Balap	Beta-Alanine Arylamidase pNA	-	-	-	-	-	-	-	-
ProA	L-Proline Arylamidase	+	+	+	+	+	+	-	+
LIP	Lipase	-	-	-	-	+	-	-	-
PLE	Palatinose	-	-	+	-	-	+	+	-
TyrA	Tyrosine Arylamidase	+	+	+	+	+	+	+	+
URE	Urease	-	+	+	-	-	+	-	-
dSOR	D-Sorbitol	-	-	-	+	-	+	+	+
SAC	Saccharose	-	-	+	+	-	+	-	+
dTAG	D-Tagatose	-	-	-	-	-	-	-	-
dTRE	D-Trehalose	-	-	+	+	-	+	+	+
CIT	Citrate	+	-	+	+	-	+	-	+
MNT	Malonate	-	-	+	-	-	+	+	-
5KG	5-Keto-D-Gloconate	-	-	-	+	-	-	-	+
ILATk	L-Laktate Alkalinisation	+	+	+	+	-	+	+	+
AGLU	Alpha-Glucosidase	-	-	-	-	+	-	-	-
SUC	Succinate Alkalinisation	+	+	+	+	-	+	+	+

Tablo 20'nin devamı

NAGA	Beta-N-Acetyl-Galactosaminidase	-	-	-	-	-	-	-	-
AGAL	Alpha-Galactosidase	-	-	+	+	-	+	-	-
PHOS	Phosphatase	-	+	+	-	+	+	+	-
GlyA	Glycine Arylamidase	-	-	+	-	+	+	-	-
ODC	Ornithine Decarboxylase	-	+	-	-	-	-	-	+
LDC	Lysine Decarboxylase	-	-	+	-	-	-	-	+
ODEC	Decarboxylase Base	-	-	+	-	-	+	-	-
IHISa	L-Histidine assimilation	-	-	+	-	-	+	-	-
CMT	Coumarate	-	+	-	-	+	-	+	+
BGURr	Beta Glucuronidase	-	-	-	-	-	-	-	-
O129R	O/129 Resistance	-	+	+	+	-	+	+	+
GGAA	Glu-Gly-Arg-Arylamidase	-	-	-	-	+	-	-	+
IMLTa	L-Malate Assimilation	+	-	-	-	-	-	-	-
ELLM	Ellman	+	+	-	+	-	-	-	-
ILATa	L-Laktate Assimilation	+	-	-	-	-	-	+	-

VITEK-2 panel test sistemi ile bakterilere ait bazı biyokimyasal testler bilgisayar tarafından otomatik olarak değerlendirilerek izolatların tanımlaması sağlandı ve sonuçlar Tablo 21'de verildi. Buna göre Sn1 ve Sn15 kodlu izolatlar tanımlanamazken diğer izolatlar tür seviyesinde tanımlandı.

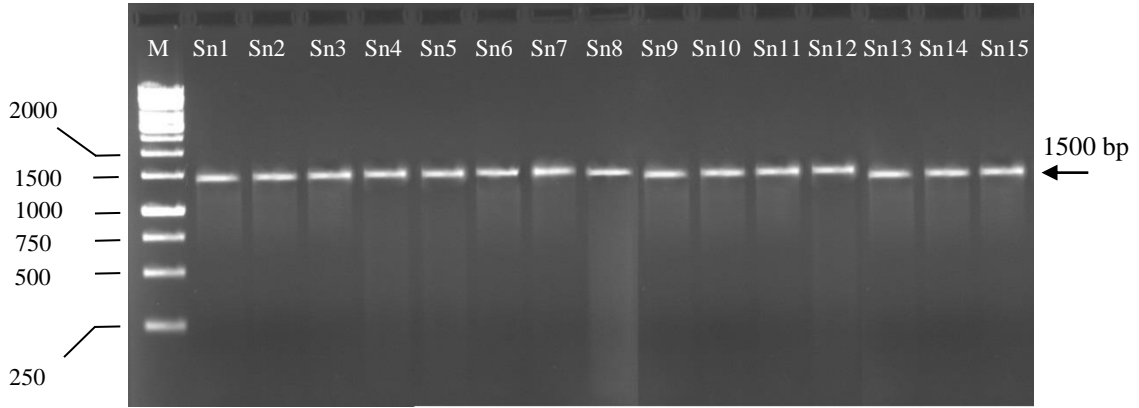
Tablo 21. VITEK-2 sonuçları ile tanımlanan bakteriyel izolatlar

İzolatlar	Bakteri Türü	Benzerlik (%)
Sn1	Tanımlanamadı	-
Sn2	<i>Morganella morganii</i>	95
Sn3	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	89
Sn4	<i>Citrobacter freundii</i>	98
Sn5	<i>Kocuria kristinae</i>	85
Sn6	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	98
Sn7	<i>Bacillus thuringiensis/cereuc/mycoides</i>	94
Sn8	<i>Bacillus pumilus</i>	91
Sn9	<i>Bacillus thuringiensis/cereuc/mycoides</i>	88
Sn10	<i>Bacillus thuringiensis/cereuc/mycoides</i>	89
Sn11	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	98
Sn12	<i>Staphylococcus sciuri</i>	95
Sn13	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>ozaenae</i>	86
Sn14	<i>Serratia marcescens</i>	99
Sn15	Tanımlanamadı	-

3.4. Bakteriyal İzolatların Moleküler Karakterizasyonu

3.4.1. 16S rDNA Dizileri ve Filogenetik Analizi

Bakteri sistematığının belirlenmesi ve filogenetik ağaç oluşumunda 16S rDNA gen dizilerinin kullanılması günümüzde oldukça yaygın bir şekilde uygulanmaktadır. Bu sebeple izolatlardan kromozomal DNA'lar izole edildi. Elde edilen kromozomal DNA'ların 16S rRNA bölgeleri PCR ile çoğaltıldı ve yaklaşık 1.500 bp büyüklüğünde bantlar gözlemlendi (Şekil 8).



Şekil 8. İzolatların PCR ile çoğaltılmış 16S rRNA bölgelerinin %1'lik agaroz jel görüntüsü (M: Markır (Fermentas, GeneRuler 1kb))

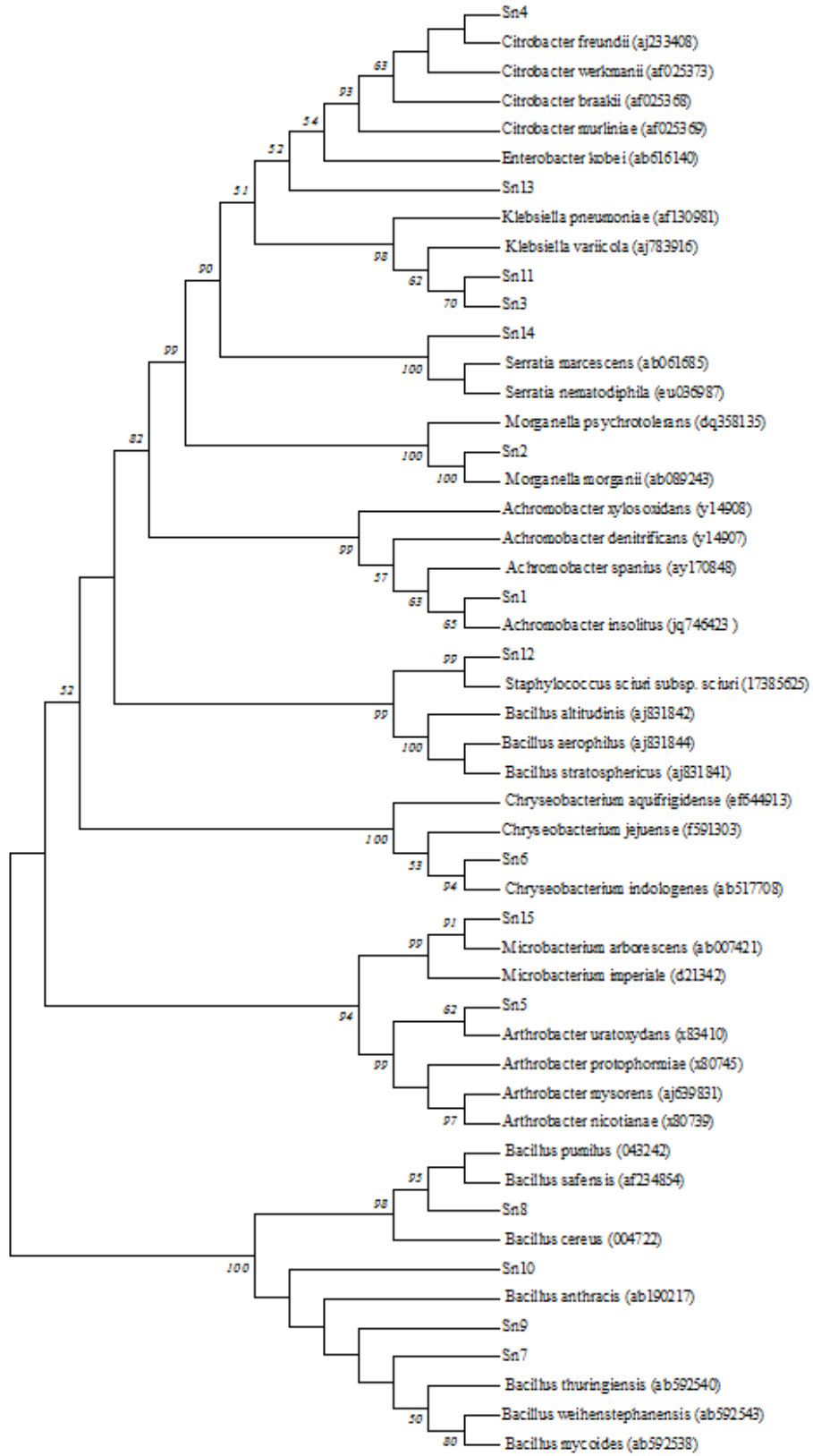
pGEM-T Easy klonlama vektörüne klonlanan 16S rDNA gen bölgelerinin nükleotid sırasının belirlenmesi için genin her iki tarafından dizin analizi yapıldı ve sonuçlar değerlendirildi (Tablo 22). Filogenetik ağacın oluşturulmasında dizin analizi sonuçları ile Mega 5 programı yardımıyla maksimum parsimoni analizinden yararlanıldı (Şekil 9). Filogenetik ağaç verileri ve 16S rDNA sonuçları birbirlerini desteklemektedir.

Tablo 22. İzolatların 16S rDNA dizin analizi sonuçları

İzolatlar	Türler	Benzerlik (%)	Kayıt Numarası
Sn1	<i>Achromobacter insolitus</i>	99	NR_025685.1
	<i>Achromobacter spanius</i>	99	NR_025686.1
	<i>Achromobacter denitrificans</i>	99	NR_042021.1
	<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	99	NR_044925.1
Sn2	<i>Morganella morganii</i>	99	NR_043751.1
	<i>Morganella psychrotolerans</i>	99	NR_028938.1
Sn3	<i>Klebsiella variicola</i>	99	NR_025635.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	99	NR_036794.1
Sn4	<i>Citrobacter freundii</i>	99	NR_028894.1
	<i>Citrobacter murliniae</i>	99	NR_028688.1
	<i>Citrobacter braakii</i>	99	NR_028687.1
	<i>Citrobacter werkmanii</i>	99	NR_024862.1
Sn5	<i>Arthrobacter mysorens</i>	98	NR_025613.1
	<i>Arthrobacter uratoxydans</i>	98	NR_026238.1
	<i>Arthrobacter protophormiae</i>	98	NR_026195.1
	<i>Arthrobacter nicotianae</i>	98	NR_026190.1
Sn6	<i>Chryseobacterium jejuense</i>	98	NR_044300.1
	<i>Chryseobacterium aquifrigidense</i>	98	NR_044334.1
	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	98	NR_042507.1
Sn7	<i>Bacillus thuringiensis</i>	99	NR_043403.1
	<i>Bacillus cereus</i>	99	NR_074540.1
	<i>Bacillus anthracis</i>	99	NR_041248.1
	<i>Bacillus weihenstephanensis</i>	99	NR_024697.1
	<i>Bacillus mycoides</i>	99	NR_036880.1
Sn8	<i>Bacillus pumilus</i>	99	NR_043242.1
	<i>Bacillus safensis</i>	99	NR_041794.1
	<i>Bacillus altitudinis</i>	99	NR_042337.1
	<i>Bacillus stratosphericus</i>	99	NR_042336.1
	<i>Bacillus aerophilus</i>	99	NR_042339.1
Sn9	<i>Bacillus cereus</i>	99	NR_074540.1
	<i>Bacillus anthracis</i>	99	NR_041248.1
	<i>Bacillus thuringiensis</i>	99	NR_043403.1
	<i>Bacillus mycoides</i>	99	NR_036880.1
	<i>Bacillus weihenstephanensis</i>	99	NR_024697.1

Tablo 22'nin devamı

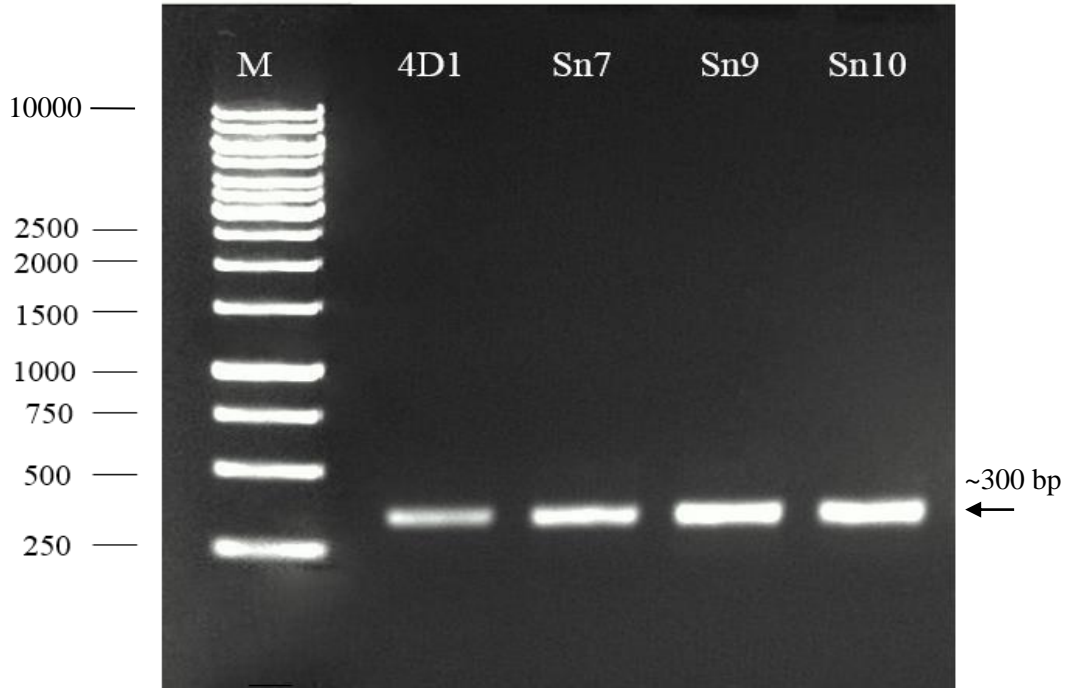
Sn10	<i>Bacillus cereus</i>	99	NR_074540.1
	<i>Bacillus anthracis</i>	99	NR_041248.1
	<i>Bacillus thuringiensis</i>	99	NR_043403.1
	<i>Bacillus mycoides</i>	99	NR_036880.1
	<i>Bacillus weihenstephanensis</i>	99	NR_024697.1
Sn11	<i>Klebsiella variicola</i>	99	NR_025635.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	99	NR_036794.1
Sn12	<i>Staphylococcus sciuri subsp. sciuri</i>	100	NR_025520.1
	<i>Staphylococcus sciuri subsp. carnaticus</i>	99	NR_041327.1
	<i>Staphylococcus sciuri subsp. rodentium</i>	99	NR_041328.1
Sn13	<i>Enterobacter kobei</i>	98	NR_028993.1
	<i>Citrobacter gillenii</i>	98	NR_041697.1
	<i>Citrobacter freundii</i>	98	NR_028894.1
	<i>Citrobacter murliniae</i>	98	NR_028688.1
	<i>Citrobacter werkmanii</i>	98	NR_024862.1
Sn14	<i>Serratia nematodiphila</i>	99	NR_044385.1
	<i>Serratia marcescens subsp. sakuensis</i>	99	NR_036886.1
	<i>Serratia marcescens subsp. marcescens</i>	99	NR_041980.1
Sn15	<i>Microbacterium arborescens</i>	99	NR_029265.1
	<i>Microbacterium imperiale</i>	99	NR_026161.1



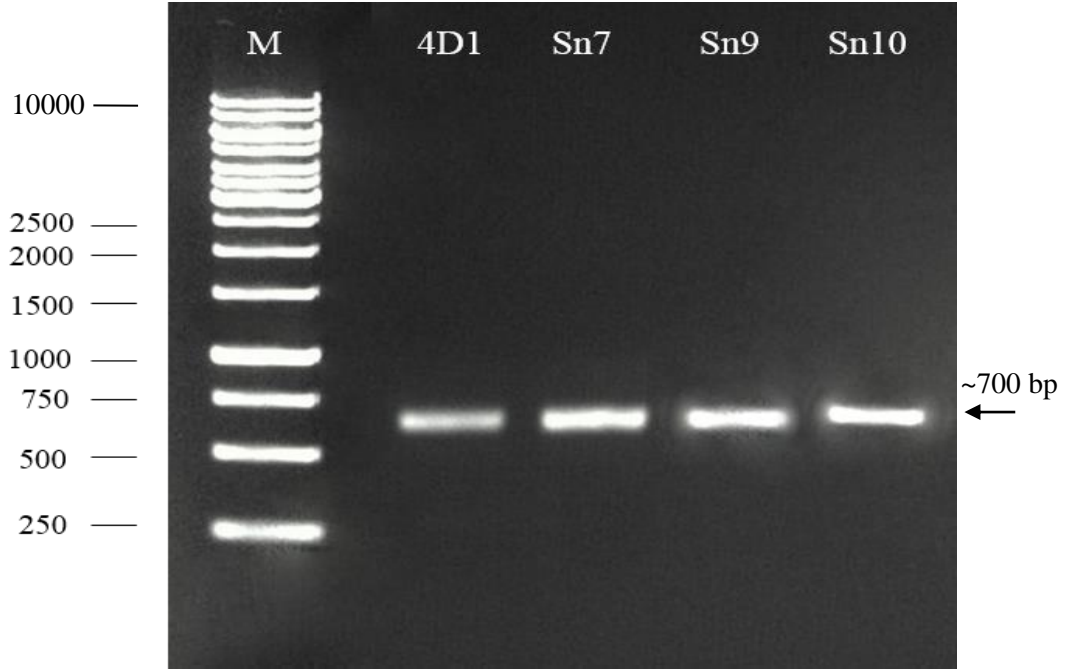
Şekil 9. 16S rDNA bölgesinin Neighbor-Joining analizi ile filogenetik ağacı (Bootstrap metodu ile 1000 tekrarlı olarak gerçekleştirildi.)

3.4.2. *Bacillus* Cinsi İzolatların *cry* Gen İçerikleri

Bacillus thuringiensis'e ait kristal proteinleri kodlayan *cry* genlerini belirleyebilmek için 4 çift genel primer (*cry1*, *cry2*, *cry3*, *cry4*) kullanılarak PCR yönteminden yararlanıldı. PCR sonucunda kılavuz suşlarla karşılaştırma yapılarak aynı büyüklükte belirlenen bantlar kaydedildi. Sonuçta Sn7, Sn9, Sn10 numaralı izolatlarda yaklaşık 300 bp (*cry1*) ve 700 bp (*cry2*) uzunluğunda bantlar tespit edildi (Şekil 10, 11).



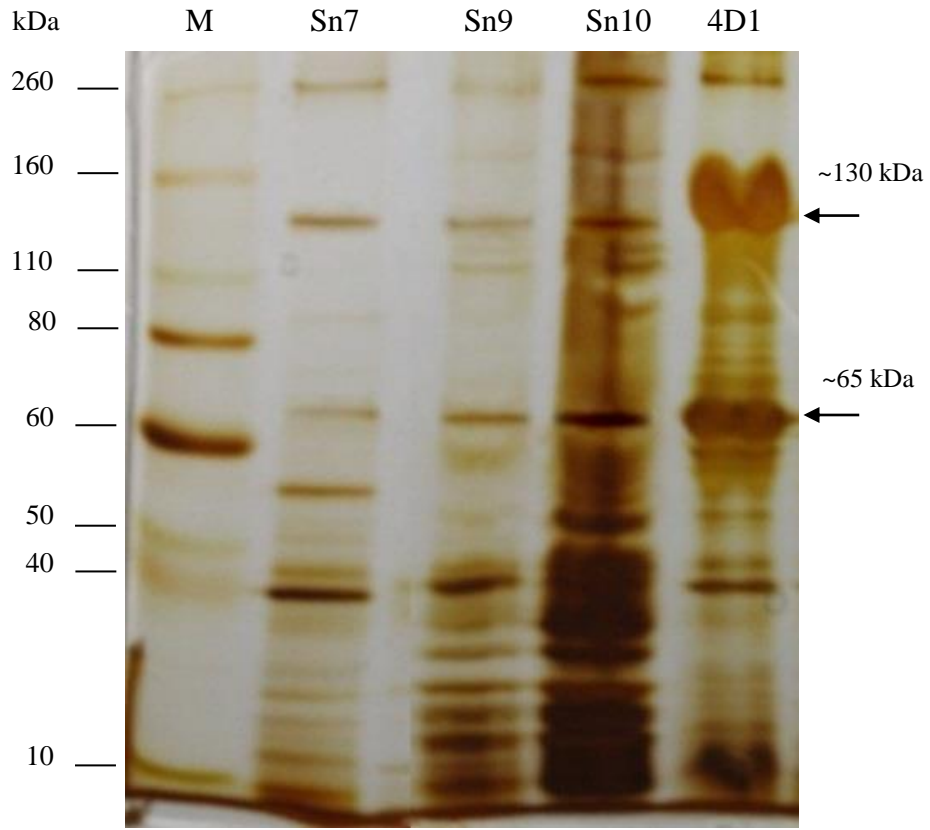
Şekil 10. İzolatların PCR ile çoğaltılmış *cry1* gen bölgelerinin %1'lik agaroz jel görüntüsü (M: Marker (Promega 100 bp DNA Ladder), 4D1: *Bacillus thuringiensis* 4D1, Sn7, Sn8 ve Sn9: *Bacillus thuringiensis*)



Şekil 11. İzolatların PCR ile çoğaltılmış *cry2* gen bölgelerinin %1'lik agaroz jel görüntüsü (M: Marker (Promega 100 bp DNA Ladder), 4D1: *Bacillus thuringiensis* 4D1, Sn7, Sn9 ve Sn10: *Bacillus thuringiensis*)

3.4.3. *Bacillus* cinsi İzolatların Kristal Protein Profilleri

B. thuringiensis izolatlarının kristal proteinlerini tespit etmek için hazırlanan kristal-spor karışımları %10'luk SDS-PAGE'de analiz edildi (Şekil 12). *Bacillus thuringiensis* 4D1'de yaklaşık 65 ile 130 kDa'lık iki protein bandı tespit edildi. Sn7, Sn9, Sn10 izolatlarında da *Bacillus thuringiensis* 4D1'de olduğu gibi yaklaşık 65 ile 130 kDa'lık iki protein bandı tespit edildi.



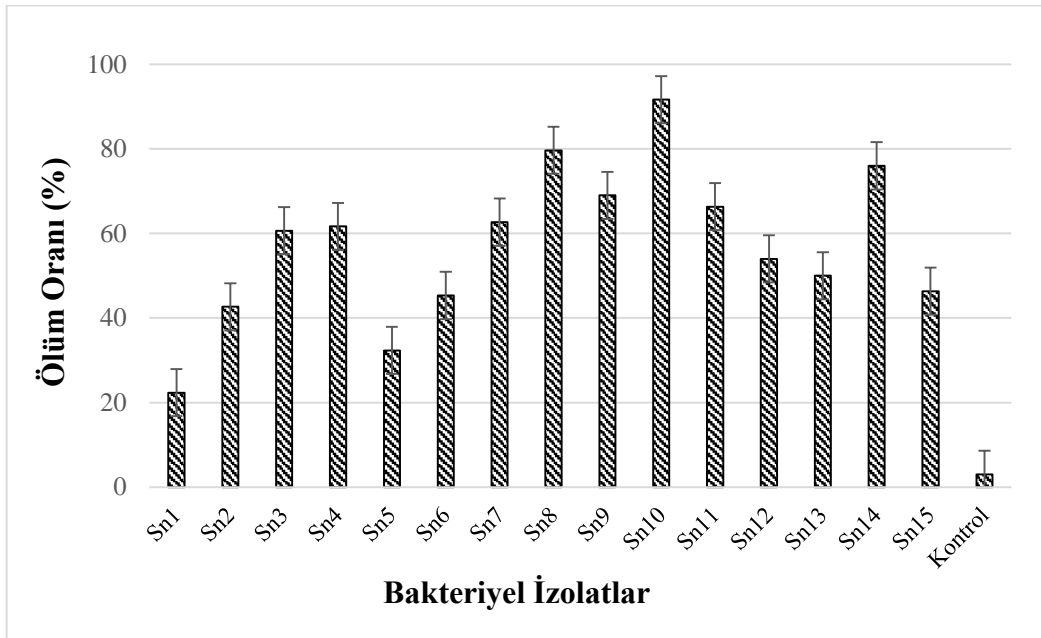
Şekil 12. İzolatların gümüş nitrat ile boyanmış protein profilleri (M: Marker (Novex pre-stained protein marker), 4D1: *B. thuringiensis* 4D1, Sn7, Sn9 ve Sn10: *B. thuringiensis*)

3.5. İnsektisidal Aktivite Çalışmaları

3.5.1. Flora Üyelerinin *Sesamia nonagrioides* Üzerindeki İnsektisidal Etkileri

İzolatların insektisidal etkilerinin belirlenebilmesi için laboratuvar ortamında kültürleri oluşturulmuş mısır koçan kurdu (*Sesamia nonagrioides*)'nun 3. dönem larvaları kullanıldı. Denemelerde $1,8 \times 10^9$ bakteri/ml olacak şekilde hazırlanan süspansiyonlar dairesel parçalara ayrılmış koçanlara bulaştırılarak aç bırakılmış sağlıklı larvalara verildi. Deney düzenekleri 28°C 'de 12:12 ışık periyodunda ve %60 nem ortamında gerçekleştirildi. Denemeler 3 tekrarlı olarak yapıldı ve 15 gün boyunca günlük takip edilerek ölüm oranları kayıt edildi.

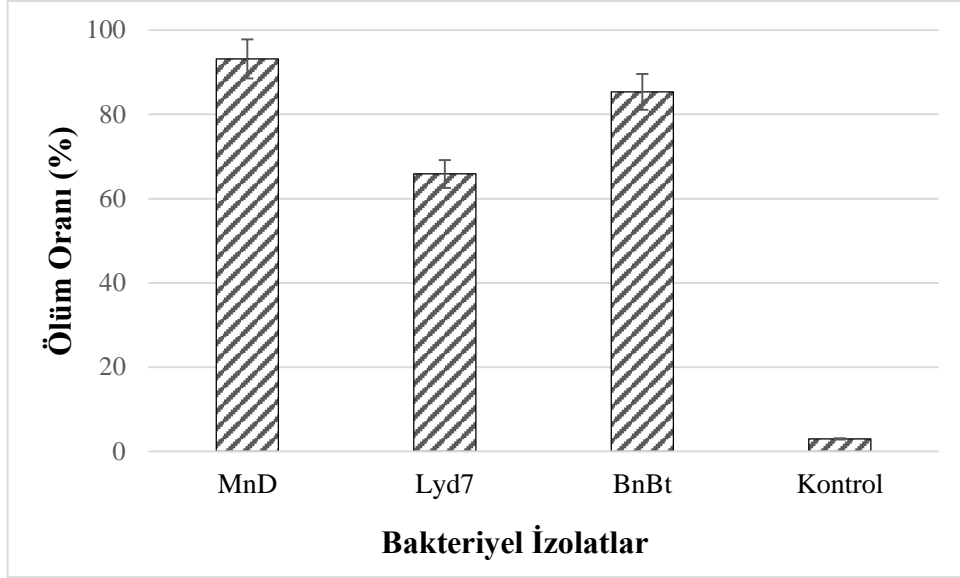
Şekil 13’de görüldüğü gibi *Bacillus thuringiensis* (Sn10) izolatu %93 ile en yüksek öldürücü etki gösterdi. Bunu %80 ile *Bacillus safensis* (Sn8) ve %75 ile *Serratia marcescens* (Sn14) izolatları takip etti. En düşük etki ise %25 ile *Achromobacter insolitus* (Sn1)’da görüldü. Geri kalan izolatlardan *Bacillus thuringiensis* (Sn9) %70, *Klebsiella pneumoniae* (Sn11) %66, *Citrobacter freundii* (Sn4) %63, *Bacillus thuringiensis* (Sn7) %60, *Klebsiella pneumoniae* (Sn3) %60, *Staphylococcus sciuri* (Sn12) %55, *Enterobacter kobei* (Sn13) %50, *Microbacterium arborescens* (Sn15) %45, *Chryseobacterium jejuense* (Sn6) %45, *Morganella morgani* (Sn2) %40 ve *Arthrobacter protophormiae* (Sn5) ise %30 ölüm oranları ortaya koydu.



Şekil 13. *S. nonagrioides*'ten izole edilen bakterilerin zararlı üzerindeki insektisidal aktiviteleri ($1,8 \times 10^9$ bakteri/ml)

3.5.2. Farklı Zararlılarından İzole Edilen *Bacillus* Cinsi İzolatların *Sesamia nonagrioides* Üzerindeki İnsektisidal Etkileri

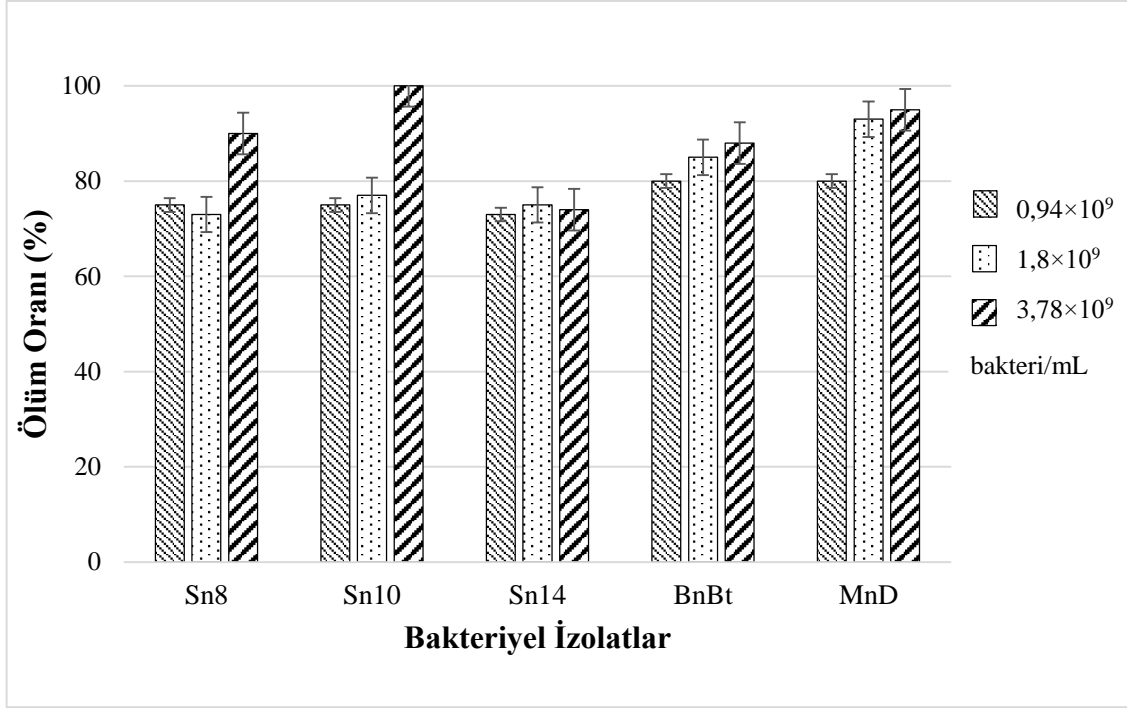
Farklı zararlılardan izole edilmiş olan *Bacillus* türlerinin *S. nonagrioides* larvaları üzerine farklı ölüm oranlarına sahip oldukları tespit edildi. *Lymantria dispar*'dan izole edilmiş *Bacillus thuringiensis* (Lyd7) ve *Malacosoma neustria* ile *Balaninus nucum*'dan izole edilmiş *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* izolatlarının (MnD ve BnBt) zararlı üzerinde sırasıyla %66, % 93 ve % 85 ölüm etkisine sahip oldukları belirlendi (Şekil 14).



Şekil 14. Yüksek öldürücü etkisi bilinen *Bacillus* izolatlarının zararlı üzerindeki insektisidal aktiviteleri ($1,8 \times 10^9$ bakteri/ml)

3.5.3. Farklı doz denemeleri

Doz denemelerinde $1,8 \times 10^9$ dozda yüksek öldürücü etkisi belirlenen flora üyelerinden Sn8, Sn10, Sn14 ile farklı böceklerden izole edilmiş MnD ve BnBt izolatları kullanıldı. Bakteriyel konsantrasyonun $3,78 \times 10^9$ olarak hazırlandığı biyotestlerde, Sn10 izolatının *S. nonagrioides* larvalarını 6. günde tamamen öldürdüğü, MnD izolatının ise 15 gün sonunda larvaların %95'ini öldürdüğü görüldü (Şekil 15).



Şekil 15. Yüksek öldürücü etkisi belirlenen bakterilerin zararlı üzerindeki doz denemeleri

4. TARTIŞMA

İkinci dünya savaşından sonra, dünyada yaşanan göreceli huzur ve ekonomik gelişmeye paralel dünya nüfusu da hızla artmıştır. 1900 yılında yaklaşık 1,5 milyar olan dünya nüfusu 1950 yılında 3 milyar, 2000 yılında ise yüzyılın başındaki nüfusun dört katı olacak şekilde 6 milyar olmuştur. Hızla artan dünya nüfusu 2011 yılında ise 7 milyarı geçmiştir. Bu hızlı nüfus artışına paralel olarak gıda arzının da artması mecburiyeti ve bu nedenle bitkisel üretimde en büyük ekonomik kayba yol açan zararlılarla en kısa sürede ve en etkili şekilde mücadele edilmesi gereği ortadadır.

Gıda arzının artışı ve sürdürülebilirliği, bitkisel üretimin artması ve sürdürülebilir kılınması ile mümkündür. Bu durumda bitkisel üretimde hastalık ve zararlılardan kaynaklanan %30-35 oranındaki kaybın azaltılması hayati bir değer taşımaktadır. İfade edilen tüm nedenlerden dolayı bitkisel üretimde sürdürülebilir bitki koruma faaliyetlerinin yapılması mecburidir. Sürdürülebilir bir tarım için ise en uygun mücadele şekli tüm bitki koruma yöntemlerinin bilimsel veriler ışığında beraber kullanıldığı entegre mücadeledir. Entegre mücadelenin en sürdürülebilir unsuru ise canlı olması sebebiyle soyunu devam ettirmesi ve doğaya uyum sağladığında sürekli bir denge unsuru olması nedeniyle biyolojik mücadele ürünleridir.

Bu çalışmada modern dünyanın vazgeçilmez bitkisi olan mısırın önemli zararlılarından biri olan, mısır koçan kurduna karşı kullanılabilecek insektisidal aktivitesi yüksek, güvenilir ve ülkemize ait mikrobiyal mücadele etmenlerinin geliştirilmesi yolunda yeni adımlar atılmış oldu.

Mikrobiyal etmen geliştirmenin temelinde zararlı böcekleri hastalandıran, zayıflatan veya öldüren mikroorganizmaların keşfedilmesi yatar. Bu amaç doğrultusunda yapılması gereken ilk iş, zararlıların bakteriyel floralarının taranması ve öldürücü etkisi yüksek izolatların belirlenmesidir. Birçok böcek türü bireysel ya da populasyon seviyesinde bakterilerle çok yakından ilişki içindedir (Bour saux-Eude ve Gross, 2000). Bazı bakteriler böcekler için patojendir. Zararlı böceklerin patojenleri çalışılırken, bakteriler arasındaki zorunlu simbiyotik ilişkiler büyük önem taşımaktadır (Sezen vd., 2004; İnce vd., 2008; Sevim vd., 2010; Gökçe vd., 2010). Zararlı böceklerin biyolojik mücadelesinde bu organizmaların kullanılması birçok bilimsel araştırmaya temel oluşturmuştur (Haiwen vd., 2005).

Çalışmada *S. nonagrioides*'ten kültüre edilebilir 15 adet bakteri izole edildi. İzolatların tür tayininde rutin olarak kullanılan konvansiyonel yöntemlerin (morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal) yanı sıra, son yıllarda tür tayinlerinin daha etkin ve doğru bir şekilde yapılabilmesi için geliştirilmiş 16S rDNA dizi analizi gerçekleştirildi. 16S rDNA genleri oldukça iyi korunmuş universal sıralara sahiptir (Woese, 1987). Bu genler bakteriler arasındaki akrabalıkları belirlemede ve bakterilerin tür veya cins seviyesinde tanımlamalarının yapılmasında son günlerde oldukça önemli bir araç haline gelmiştir (Sacchi vd., 2002). Ayrıca 16S rRNA dizi analizi çalışmalarını desteklemesi amacıyla API20E, API50CH ve VITEK-2 identifikasyon sistemleri de kullanıldı. Bu sistemler sayesinde izolatların sahip olduğu metabolik aktiviteler ve biyokimyasal özellikleri hakkında geniş bilgi edinildi. Rutin çalışmalarla elde edilen veriler tür tayini için yetmediği durumlarda bu test sistemlerinden elde edilen veriler sayesinde tür tayinleri yapılabildi.

Bakterilerin tür tayinleri için Bergey's Manual of Systematic Bacteriology kitabından kaynak olarak yararlanıldı.

Sn1 numaralı izolatın 16S rDNA dizi analizi ve biyokimyasal testlerin sonucuna göre *Achromobacter insolitus*, *Achromobacter spanius*, *Achromobacter denitrificans*, *Achromobacter xylooxidans* türlerine %99 benzerlik gösterdiği belirlendi. API ve VITEK-2 testleri ile sonuç alınmadı. Ancak glukoz asimilasyonunun negatif olması ve mesakonat asimilasyonunun pozitif olması ile diğer türlerden ayrılarak *Achromobacter insolitus* olduğuna karar verildi. *Achromobacter insolitus*'un ilk izolasyonu klinik örneklerden gerçekleştirilmiştir (Coenye vd., 2003) ve bugüne kadar böceklerden izolasyona rastlanmamıştır. *Achromobacter insolitus* bu çalışma ile ilk kez böceklerden izole edilmiştir ve mısır koçan kurdu larvaları üzerinde %25 öldürücü etki göstermiştir.

Sn2 izolatının 16S rDNA dizi analizi *Morganella morganii* ve *Morganella psychrotolerans* ile %99 benzerlik olduğunu gösterdi. API ve VITEK-2 test sonuçlarına göre %95 *Morganella morganii* olduğu tespit edildi. Ayrıca 37°C'de büyüebilmesi ve %5-8 tuz içeren ortamda da büyüebilmesinden olayı *Morganella morganii* olduğuna karar verildi. *Morganella morganii*'nin literatür taraması yapıldığında daha önce Nishiwaki vd. (2007) tarafından *Myrmeleon bore* (Neuroptera: Myrmeleontidae)'den izole edildiği ve *Myrmeleon bore* üzerindeki insektisidal etkisinin %80 olduğu tespit edilmiştir. Enterik bakterilerden olan *Morganella morganii*'nin mısır koçan kurdu larvaları üzerinde %40 öldürücü etki gösterdiği tespit edildi.

Sn3 ve Sn11 izolatları 16S rDNA dizi analizi *Klebsiella variicola* ve *Klebsiella pneumoniae* türlerine % 99 benzerlik gösterdi. Adonilat fermantasyon testi bu iki bakterinin ayrımını sağlayan tek biyokimyasal testtir (Alves vd., 2006). Sn3 ve Sn11 kodlu izolatlar adonilat fermantasyonu gerçekleştirdiği için izolatların *Klebsiella pneumoniae* olduğuna karar verildi. Önemli enterik bakterilerden olan *Klebsiella pneumoniae* daha önce de birçok böcek takımından izole edilmiştir (Stevenson, 1966; Kuzina vd., 2001; Sakthivel vd., 2012). Özkan (2011), tarafından yapılan biyotest çalışmalarında *Spodoptera littoralis* larvaları üzerinde % 77 öldürücü etkisi tespit edildi. Bu çalışmada izole edilen Sn3 ve Sn11 (*Klebsiella pneumoniae*) izolatlarının mısır koçan kurdu larvaları üzerinde %60 ve %66 öldürücü etki gösterdiği tespit edildi. Bu biyotest sonuçlarına göre, simbiyotik ve patojenik bakterilerin farklı böcekler üzerinde farklı virülanslar gösterebileceği görülmüştür.

Sn4 izolatının 16S rDNA dizi analizi sonucu *Citrobacter freundii*, *Citrobacter murlinae*, *Citrobacter braakii*, *Citrobacter werkmanii* türlerine %99 benzerlik gösterdiği belirlendi. API ve VITEK-2 test sonuçlarının yardımıyla izolatın *Citrobacter freundii* olduğuna karar verildi. *Citrobacter freundii* birçok böcek takımından izole edilmiştir (Charpentier vd., 1978; Line, 1990; Sukontason vd., 2000; Czajka vd., 2003; Pai vd., 2005; Zarchi ve Vatani, 2009; Huang vd., 2012). Sn4 (*Citrobacter freundii*) izolatının mısır koçan kurdunun larvaları üzerindeki biyotestleri sonucunda insektisidal etkisi %63 olarak belirlendi.

Sn5 izolatının 16S rDNA dizi analizi *Arthrobacter mysorens*, *Arthrobacter uratoxydans*, *Arthrobacter protophormiae*, *Arthrobacter nicotianae* ile %99 benzerlik olduğunu gösterdi. API ve VITEK-2 panel sistemleri ile izolat güvenilir bir şekilde tanımlanamadı. Ancak, üreaz enzimi üretmemesi ve enerji kaynağı olarak D-ksiloz'u kullanmamasından dolayı, izolatın *Arthrobacter protophormiae* olduğuna karar verildi. *Arthrobacter protophormiae* Lysenko (1954) tarafından Dipter takımından *Protophormia terraenovae*'den izole edilmiştir. Sn5 izolatu *S. nonagrioides* larvaları üzerinde %30 insektisidal etki göstermiştir.

Sn6 izolatının 16S rDNA dizi analizi *Chryseobacterium jejuense*, *Chryseobacterium aquifrigidense* ve *Chryseobacterium indologenes* ile %98 benzerlik olduğunu gösterdi. API ve VITEK-2 testlerinden alınan sonuçların yardımıyla izolatın *Chryseobacterium indologenes* olduğuna karar verildi. Daha önceden *Flavobacterium indologenes* olarak tanımlanan bu tür bugüne kadar topraktan, gıda maddelerinden, bitkilerden, su kaynaklarından, hastanelerden ve bazı omurgasızlardan izole edilmiştir. Dugas vd. (2001)

tarafından Amerikan hamam böceğinden, Buresova vd. (2006) tarafından akar türlerinden *Ornithodoros moubata* ve *Ixodes ricinus*'den izole edilmiş ve yapılan biyotest çalışmalarında *C. indologenes*, *O. moubata* üzerinde 3. günde %100 öldürücü etki gösterirken *I. ricinus* üzerinde etkili olmamıştır. Bizim gerçekleştirdiğimiz çalışmalarda ise Sn6 (*C. indologenes*) izolatu mısır koçan kurdunun larvaları üzerinde %45 öldürücü etki gösterdi.

Sn7, Sn9 ve Sn10 izolatlarının 16S rDNA dizi analizi *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus weihenstephanensis* ve *Bacillus mycoides* ile %99 benzerlik gösterdi. *Bacillus thuringiensis* yakın ilişki içerisinde bulunduğu bakterilerden spor oluşumu esnasında ürettiği kristal yapıları sayesinde ayrılmaktadır. İzolatların PCR ile *cry* gen içeriğinin araştırılması sonucu yaklaşık 277 bp büyüklüğündeki *cry1* genini ve yaklaşık 700 bp büyüklüğündeki *cry2* genini içerdiği tespit edildi. Sonuçta izolatların *Bacillus thuringiensis* olduğuna karar verildi. Biyokimyasal testlerindeki bazı farklılıklardan dolayı izolatların *Bacillus thuringiensis*'in farklı alttürleri olabileceği düşünülmektedir. *B. thuringiensis* suşlarının izolasyonu için ana kaynak toprak olmasına rağmen bugün yaprak yüzeylerinden, sucul ortamlardan, hayvan dışkılarından, hububat depolarından, canlı ve ölü böceklerden izolasyonu gerçekleştirilmiş ve insektisidal aktiviteleri araştırılmıştır (Vilas-Boas, 2007). Sezen vd. (2007) yaptıkları çalışmada *Melolontha melolontha* (Coleoptera: Scarabaeidae)'dan *B. thuringiensis* (Mm2) izolasyonu gerçekleştirmiş ve *M. melolontha* üzerinde %80 insektisidal etki gösterdiğini tespit etmiştir. İnce vd. (2008) yaptıkları çalışmada *Thaumetopoea pityocampa* (Lep., Thaumetopoeidae)'dan *Bacillus thuringiensis* ssp. *morrisoni* suşu (Tp6) izole edilmiştir. Danışmazoğlu vd. (2012) ise benzer bir çalışmada *Agriotes lineatus* (Coleoptera: Elateridae)'dan *B. thuringiensis* (Ag18) izolasyonu gerçekleştirerek insektisidal etkisini araştırmıştır. Ag18, *A. lineatus* üzerinde %100 öldürücü etki göstermiştir. Yaptığımız çalışmada, izole edilen ve *B. thuringiensis* olarak tanımlanan Sn7, Sn9 ve Sn10 bakterileri *S. nonagrioides* larvaları üzerinde sırasıyla %60, %70, %93 öldürücü etki gösterdi. Aynı bölgeden farklı zararlılardan izole edilen, yüksek öldürücü etkiye sahip olan *Bacillus* cinsleri bakteriler, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü kültür koleksiyonundan alındı ve bunların *S. nonagrioides* üzerindeki insektisidal etkileri belirlendi. *Malacosoma neustria*'dan izole edilen MnD (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*), *Balaninus nucum*'dan izole edilmiş BnBt (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*) ve *Lymantria dispar*'dan izole edilmiş Lyd7 (*Bacillus*

thuringiensis) izolatları *S. nonagrioides* üzerinde sırasıyla %93, %85, %66 öldürücü etki gösterdi.

Daha önce yapılan çalışmalarda, *S. nonagrioides*'e karşı *Bacillus* toksinleriyle denemeler yapılmış ve Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1Ca ve Cry1Fa toksinlerinin *S. nonagrioides* larvaları üzerinde toksik olduğu görülmüştür. Gonzalez-Cabrera vd. (2006) yaptığı çalışmada Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1Ca ve Cry1Fa toksinlerinin *S. nonagrioides* larvalarının %90'ını öldüren konsantrasyonunu sırasıyla 119, 999, 567, 1271 ng protein olarak belirlemiştir.

B. thuringiensis'in ürettiği toksinler modern biyoteknolojik yöntemlerle mısır bitkisine aktararak verim artırma çalışmaları yapılmıştır. Bu yöntemle %30'lara varan verim artışı gözlenmiştir (Özcan, 2009). Ancak, genetiği değiştirilmiş (GD) bitkiler önemli riskleri beraberinde getirmektedir. GD bitkilerin kullanılmasıyla duyulan endişelerden biri bu bitkilerin biyolojik çeşitliliğine ve doğal dengeye verebileceği zararlarıdır (Glare vd., 2001). Aktarılan genlerin doğal bitki türlerine atlayarak buldukları çevrenin doğal türlerindeki genetik çeşitliliğin kaybına ve yabancı türlerin doğal yapısında sapmaya yol açabileceği düşünülmektedir (Kaynar, 2010). Diğer bir endişe ise sağlık açısından alerjik etkilerinin olmasıdır (Nordlee vd., 1996). Duyulan bu endişelerden dolayı GD bitkilere sıcak bakılmamaktadır.

Sn8 izolatlarının 16S rDNA dizi analizi *Bacillus pumilus*, *Bacillus safensis*, *Bacillus altitudinis*, *Bacillus stratosphericus* ve *Bacillus aerophilus* ile %99 benzerlik gösterdiği görüldü. Enerji kaynağı olarak inositol ve maltozu kullanarak asit üretimi gerçekleştirmesi nedeniyle izolatın *Bacillus safensis* olduğuna karar verildi. Bu tür ilk defa uzaya gönderilen uzay aracından izole edilmiştir (Satomi vd., 2006). Daha sonraları Tomova vd. (2013) tarafından Bulgaristan'da bir mağaradan izole edilmiştir. Böcekler üzerinde insektisidal etkisi ilk defa *S. nonagrioides* larvaları üzerinde araştırılmış olup %80 ölüm oranı göstermiştir.

Sn12 izolatının 16S rDNA dizi analizi *Staphylococcus sciuri* ile %100 benzerlik gösterdi. İzolatın *Staphylococcus sciuri* olduğu API ve VITEK-2 test sistemleriyle doğrulandı. Genellikle hastane örneklerinden izole edilen *S. sciuri* Grenier vd. (1994) tarafından yaprak bitlerinden, Osborn vd. (2002) tarafından sarıkuyruk kelebeğinden, Butler vd. (2010) tarafından kara sinekten izole edilmiştir. Sn12 (*Staphylococcus sciuri*) izolatının mısır koçan kurdunun larvaları üzerindeki biyotestleri sonucunda insektisidal etkisi %55 olarak belirlendi.

Sn13 izolatının 16S rDNA dizi analizi *Enterobacter kobei*, *Citrobacter gillenii*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter murlinae* ve *Citrobacter werkmanii* ile %98 benzerlik gösterdiği görüldü. Voges-Proskauer testi *Enterobacter* ve *Citrobacter* cinslerinin ayrımını sağlayan bir testtir. Testin pozitif oluşu izolatın *Enterobacter kobei* olduğunu desteklemektedir. *E. kobei* Tang vd. (2012) tarafından bir karasinek türünden izole edilmiş ancak insektisidal etkisi araştırılmamıştır. Sn13 (*E. kobei*)'ün mısır koçan kurdunun larvaları üzerindeki biyotestleri sonucunda insektisidal etkisi %50 olarak belirlendi.

Sn14 izolatının 16S rDNA dizi analizi *Serratia nematodiphila* ve *Serratia marcescens* ile %99 benzerlik gösterdiği görüldü. Karbonhidrat kaynağı olarak D-laktoz, D-arabinoz ve D-ksilozu kullanmadığı için izolatın *Serratia marcescens* olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, API ve VITEK-2 panel sistemlerinin sonuçları izolatın *Serratia marcescens* olduğunu desteklemektedir. *S. marcescens* insektisidal aktivite ile ilgili nükleaz, kitinaz, proteinaz, fosfolipaz, hemolizin ve siderofor gibi ekstrasellüler enzimler üretir (Aucken ve Pitt, 1998). Bu enzimlerden bazıları *B. thuringiensis*'e klonlanarak *cry* proteinlerinin insektisidal aktiviteleri artırılmaya çalışılmıştır (Susuki vd., 2002; Arora vd., 2003; Barboza-Corona vd., 2003; Zhong vd., 2003; Lin ve Xiong, 2004; Driss vd., 2005). *S. marcescens* Bahar ve Demirbağ (2007) tarafından yapılan çalışmada *Oberea linearis*'den izole edilmiş ve *S. marcescens* *Oberea linearis* üzerinde %65 öldürücü etki göstermiştir. Benzer bir çalışmada Sezen ve Demirbağ (1999) *Balaninus nucum*'dan izole ettikleri *S. marcescens*'in *Agelastica alni* üzerindeki öldürücü etkisini %50 olarak bulmuştur. McNeill vd. (2010) tarafından *Sitona lepidus* (Coleoptera: Curculionidae)'a karşı *S. marcescens* ile enfekte parazit *Microctonus aethiopoies* denenmiş ve %50 öldürücü etki tespit edilmiş. Bunların yanı sıra daha birçok böcekten izolasyonu gerçekleştirilmiş ve insektisidal etkisi araştırılmıştır (Klein ve Kaya, 1995; Sikorowski vd., 2001; Inglis ve Lawrence, 2001; Jackson vd., 2001; Osborn vd., 2002; Jeyaprakash vd., 2003; Azambuja vd., 2004; Bahar ve Demirbağ, 2007; Gökçe vd., 2010; Sevim vd., 2012). Çalışmamızda izole edilen Sn14 (*S. marcescens*) mısır koçan kurdunun larvaları üzerinde %75 öldürücü etki gösterdi. İsektisidal aktivite çalışmalarındaki bu farklılıklar *S. marcescens*'in alttürlerinin böcekler üzerinde farklı insektisidal etki gösterebileceğini, bazı böceklerin *S. marcescens*'e dirençli bazılarının ise duyarlı olabileceğini ortaya koymuştur.

Sn15 izolatının 16S rDNA dizi analizi *Microbacterium arborescens* ve *Microbacterium imperiale* ile %99 benzerlik gösterdiği görüldü. Koloni renginin turuncu olması, hareketli olması, jelatin hidrolizinin pozitif olması ve 37°C'de büyüyememesi

nedeniyle *Microbacterium arborescens* olduğuna karar verildi. Yapılan çalışmalarda *M. arborescens* toprak, atık su ve çeşitli gıda maddelerinden izole edilmiştir. Ayrıca klinik örneklerden ve ölü böcek larvalarından da izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Ping vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada *Spodoptera exigua*'dan izole edilmiştir. Yapılan literatür taramalarında bakterinin insektisidal aktivitesi ilgili çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda izole edilen Sn15 (*M. arborescens*) mısır koçan kurdunun larvaları üzerinde %45 öldürücü etki gösterdi.

Yapılan insektisidal aktivite çalışmalarında izole edilen enterik bakterilerin (Sn2, Sn3, Sn4, Sn11, Sn13, Sn14) genellikle düşük aktivite gösterdikleri görüldü. Enterik bakterilerden sadece Sn14 (*S. marcescens*) %75 öldürücü etki gösterdi. Diğer izolatlardan, Alcaligenaceae familyasından olan Sn1 (*Achromobacter insolitus*) %25, Micrococcaceae familyasından olan Sn5 (*Arthrobacter protophormiae*) %30, Flavobacterium familyasından olan Sn6 (*Chryseobacterium indologenes*) %45, Bacillaceae familyasından olan Sn7 (*Bacillus thuringiensis*) %60, Staphylococcaceae familyasından olan Sn12 (*Staphylococcus sciuri*) %55, Microbacteriaceae familyasından olan Sn15 (*Microbacterium arborescens*) %45 öldürücü etki gösterdi. Bacillaceae familyasından olan Sn8 (*Bacillus safensis*), Sn9 (*Bacillus thuringiensis*) ve Sn10 (*Bacillus thuringiensis*) sırasıyla %80, %70 ve %93 insektisidal etki gösterdi.

Tüm flora üyelerinin ve 3 *Bacillus* türünün *S. nonagrioides* üzerinde $1,8 \times 10^9$ bakteri yoğunluğunda insektisidal aktiviteleri araştırıldıktan sonra etkili olduğu belirlenen Sn8, Sn10, Sn14, BnBt, MnD izolatlarıyla doz denemeleri ($3,78 \times 10^9$ ve $0,945 \times 10^9$) yapılarak ölüm oranlarındaki değişiklikler araştırıldı. Uygulanan doz iki katına çıkarıldığında Sn8'in insektisidal aktivitesinin %23 artarak ölüm oranının %90'a çıktığı, Sn10'un insektisidal aktivitesinin %30 artarak ölüm oranının %100'e çıktığı, MnD'nin insektisidal aktivitesinin %2 artarak ölüm oranının %95'e çıktığı, BnBt'nin insektisidal aktivitesinin %4 artarak ölüm oranının %88'e çıktığı görüldü. Doz yarıya indirildiğinde ise Sn8'in insektisidal aktivitesinin %3 artarak ölüm oranının %75'e çıktığı, Sn10'un insektisidal aktivitesinin %3 azalarak ölüm oranının %75'e düştüğü, Sn14'ün insektisidal aktivitesinin %3 azalarak ölüm oranının %73'e düştüğü, MnD'nin insektisidal aktivitesinin %14 azalarak ölüm oranının %80'e düştüğü, BnBt'nin insektisidal aktivitesinin %6 azalarak ölüm oranının %80'e düştüğü görüldü. Bakteri konsantrasyonundaki artışın, özellikle Sn8 ve Sn10 izolatlarının insektisidal etkisini artırdığı görüldü.

Bakteri konsantrasyonu $1,8 \times 10^9$ iken Sn8, Sn10, MnD ve BnBt izolatlarının kullanıldığı biyotestlerde ilk ölümler ortalama 3. günde başlarken, doz iki katına çıkarıldığında 1. günde ölümler görülmeye başladı. Ayrıca bakteri konsantrasyonunun $1,8 \times 10^9$ iken Sn8 izolatının larvaların %50'sini 8. günde, Sn10 izolatının larvaların %50'sini 9 günde, MnD ve BnBt izolatlarının larvaların %50'sini 11 günde öldürdükleri görüldü. Bakteri konsantrasyonu iki katına çıkarıldığında Sn8 ve Sn10 izolatlarının larvaların %50'sini 4 günde, BnBt izolatının larvaların %50'sini 7 günde, MnD izolatının larvaların %50'sini 8 günde öldürdükleri görüldü. Yani bakterilerin konsantrasyonundaki artışın etki süresini kısalttığı görüldü.

Çalışma sonucunda, böcek orjinli yerel bir izolat olan Sn10 (*B. thuringiensis*) önemli bir mısır zararlısı olan *Sesamia nonagrioides* üzerinde oldukça etkili olduğu tespit edildi. Sonraki çalışmalarda bu etmenin başta *Sesamia nonagrioides* olmak üzere *Ostrinia nubilalis* ve diğer mısır zararlılarına karşı bir mikrobiyal mücadele etmenine dönüştürme çalışmaları yapılacaktır.

5. SONUÇLAR

Bu çalışma sonucunda 15 bakteriyel izolat elde edildi. Bu izolatların morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler özellikleri belirlenerek önemli mısır zararlısı olan *S. nonagrioides* üzerindeki insektisidal etkileri belirlendi. Bu çalışmalara göre;

1. Elde edilen 15 bakteriyel izolatın morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler özelliklerine göre karakterizasyonları yapıldı. Böylece *S. nonagrioides*'in kültürü edilebilir bakteriyel florası; *Achromobacter insolitus* (Sn1), *Morganella morganii* (Sn2), *Klebsiella pneumoniae* (Sn3), *Citrobacter freundii* (Sn4), *Arthrobacter mysorens* (Sn5), *Chryseobacterium indologenes* (Sn6), *Bacillus thuringiensis* (Sn7), *Bacillus safensis* (Sn8), *Bacillus thuringiensis* (Sn9), *Bacillus thuringiensis* (Sn10), *Klebsiella pneumoniae* (Sn11), *Staphylococcus sciuri* (Sn12), *Enterobacter kobei* (Sn13), *Serratia marcescens* (Sn14) ve *Microbacterium arborescens* (Sn15) olarak belirlendi.
2. *Achromobacter insolitus* (Sn1)'un ilk defa böcekten izolasyonu gerçekleştirilmiş oldu.
3. *Bacillus thuringiensis* olarak belirlenen Sn7, Sn9 ve Sn10 numaralı izolatların hem *cry1* hem de *cry2* genlerini içerdiği belirlendi.
4. Sn7, Sn9 ve Sn10 numaralı izolatların insektisidal aktivite çalışmalarında farklı sonuçlar gösterdikleri için, izolatların *B. thuringiensis* türüne ait farklı suşlar olabileceğine karar verildi.
5. Sn7, Sn9 ve Sn10 numaralı izolatların *S. nonagrioides* üzerindeki insektisidal etkilerinin belirlenmesi için yapılan deneylerde Sn10 numaralı izolatın 6. günde %93'lük oranda ölüm meydana getirdiği belirlendi.
6. Farklı zararlılardan izole edilen ve yüksek öldürücü etkiye sahip olan *Bacillus* cinsi izolatlardan MnD (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*), 15. günde % 93'lik oranda ölüm meydana getirdiği belirlendi.
7. Yapılan çalışmalarla izole edilen bakterilerle, farklı zararlılardan izole edilmiş yüksek öldürücü etkiye sahip olan bakteriler kıyaslandı ve sonuç olarak zararlıdan izole edilen bakterin daha yüksek öldürücü etkiye sahip olduğu belirlendi.

6. ÖNERİLER

Bu çalışmada, Adana ve çevresindeki mısır arazilerinden toplanan *S. nonagrioides*'ten 10 farklı cinse ait 15 bakteriyel izolat elde edildi ve bunların *S. nonagrioides* larvaları üzerindeki insektisidal etkileri araştırıldı. Çalışma sonuçlarından hareketle, gelecek çalışmalara yönelik olarak aşağıdaki hususlar belirlenmiştir.

1. Spesifik *cry* primerleri kullanılarak, *cry1* ve *cry2* genleri içeren izolatların alt sınıflarının belirlenmesi ve yeni *cry* genlerinin araştırılması gerçekleştirilebilir.
2. *Bacillus thuringiensis* olarak tanımlanan izolatların H-serotiplendirilmesi yapılarak alt tür belirleme çalışmaları yapılabilir.
3. Laboratuvar koşullarında yüksek öldürme oranı olan izolatların arazi uygulamaları gerçekleştirilebilir.
4. Öldürücü aktivitesi yüksek izolatın virulansını etkileyen biyolojik faktörler araştırılabilir.
5. Yüksek öldürücü etkiye sahip olan izolatların mikrobiyal mücadele preparatına dönüştürme çalışmaları başlatılabilir.

KAYNAKLAR

- Abbott, W. S., 1925. A method of computing of effectiveness of on insecticide, Journal of Economic Entomology, 18, 265–267.
- Akdeniz, H., Yılmaz, İ., Andiç, N. ve Zorer, Ş., 2004. Bazı mısır çeşitlerinde verim ve yem değerleri üzerine bir araştırma, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi, 14, 1, 47-5
- Alexandri, M.P. ve Tsitsipis, J.A., 1990. Influence of the egg parasitoid *Platytenomus busseolae* (Hym.: Scelionidae) on the population of *Sesamia nonagrioides* (Lep.: Noctuidae) in central greece, Entomophaga, 35, 61-70
- Alves, M.S., da Silva-Dias, R.C., de Castro, A.C.D., Riley, L. ve Moreira, B.M., 2006. Identification of clinical isolates of indole-positive and indole-negative *Klebsiella* spp., Journal Of Clinical Microbiology, 44, 3640–3646.
- Arıoğlu, H. 2008. Mısır üretiminin Türkiye tarımı açısından önemi. Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Arif, B. ve Kurstak, E., 1991. Viruses of Invertebrates, Kurstak, E. (Ed.), Marcel Dekker.
- Arora, N., Ahmad, T., Rajagopal, R. ve Bhatnagar, R. K. 2003. A constitutively expressed 36 kDa exochitinase from *Bacillus thuringiensis* HD-1, Biochemical and Biophysical Research Communications, 307, 620–625.
- Aucken, H. M. ve Pitt, T. L., 1998. Antibiotic resistance and putative virulence factors of *Serratia marcescens* with respect to O and K serotypes, Journal of Medical Microbiology, 47, 1105–1113.
- Azambuja, P., Feder, D. ve Garcia, E.S., 2004. Isolation of *Serratia marcescens* in the midgut of *Rhodnius prolixus*: impact on the establishment of the parasite *Trypanosoma cruzi* in the vector, Experimental Parasitology 107, 1–2, 89–96.
- Babaoğlu, M., 2005. Mısır ve Tarımı (*Zea mays* L.), Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Edirne, 2005.
- Bahar, A. A. ve Demirbag, Z., 2007. Isolation of pathogenic bacteria from *Oberea linearis* (Coleptera: Cerambycidae), Biologia, Bratislava, 62, 1, 13-18.
- Barboza-Corona, J. E., Nieto-Mazzocco, E., Velazquez-Robledo, R., Salcedo-Hernandez, R., Bautista, M., Jimenez, B., and Ibarra, J. E., 2003. Cloning, sequencing, and expression of the chitinases gene chiA74 from *Bacillus thuringiensis*, Applied and Environmental Microbiology, 69, 1023–1029.

- Bradford, M.M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding, Analytical Biochemistry, 72, 248-254.
- Beegle, C.C. ve Yamamoto, T., 1992. Invitation Paper (C.P. Alexander Fund): History of *Bacillus thuringiensis* Berliner Research and Development, Canadian Entomologist, 124 (1992) 587- 616.
- Ben-Dov, E., Boussiba, S. ve Zaritsky, A., 1995. Mosquito Larvicidal Activity of *Escherichia coli* with Combinations of Genes from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*, Journal of Bacteriology, 2581-2587
- Ben-Dov, E., Zaritsky, A., Dahan, E., Barak, Z., Sinai, R., Manasherob, R., Khamraev, A., Troitskaya, E., Dubitsky, A., Berezina, N. ve Margalith, Y., 1997. Extended Screening by PCR for Seven *cry*-Group Genes from Field-Collected Strains of *Bacillus thuringiensis*, Applied and Environmental Microbiology, 63, 4883-4890.
- Benson, H. J., 1985. Microbiological Applications, a Laboratory Manuel in General Microbiology, Brock, Fourth Edition, Wm C. Brown Publishers, Dubuque, Iowa.
- Boursaux-Eude, C. ve Gross, R., 2000. New insights into symbiotic associations between ants and bacteria, Research in Microbiology, 151, 513–519.
- Braxton, S. M., Onstad, D. W., Dockter, D. E., Giordano, R., Larsson, R. ve Humber, R. A., 2003. Description and Analysis of two Internet-Based Databases of Insect Pathogens: EWDIP and VIDIL, Journal of Invertebrate Pathology, 83, 185-195.
- Brooks, W. M., 1988. Entomogenous Protozoa, In “Handbook of Natural Pesticides”, Vol. V: “Microbial Insecticides, Part A: Entomogenous Protozoa and Fungi” (Ignoffo, C. M. ve Mandava, E. D., Eds.), 1-149, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Buresova, V., Frantaa, Z. ve Kopacek, P., 2006. A comparison of *Chryseobacterium indologenes* pathogenicity to the soft tick *Ornithodoros moubata* and hard tick *Ixodes ricinus*, Journal of Invertebrate Pathology, 93, 2, 96-104.
- Butler, J. F., Garcia-Maruniak, A., Meek, F. ve Maruniak, J. E., 2010. Wild Florida House Flies (*Musca domestica*) as Carriers of Pathogenic Bacteria, Florida Entomologist, 93, 2, 218-223.
- Cappuccino, J. G. ve Sherran, N., 1992. Microbiology, a Laboratory Manual, Third Edition, Rockland Community College, Suffern, New York.
- Cayrol, R.A., 1972. Famille des Noctuidae. In: Balachowsky AS, editor. Entomologie appliquée a l’agriculture, 2, 1255-1520
- Cerit, İ., Güllü, M., Sarihan, H., Kanat, A. D., Turkay, M. A. ve Uçak, A. B., 2006. Mısır kurdu (*Ostrinia nubilalis* Hübner) (Lepidoptera: Crambidae) ve mısır koçan kurdu (*Sesamia nonagrioides* Lefebvre) (Lepidoptera: Noctuidae) 'na dayanıklı transgenik mısır çeşidi Pioneer 33P67 (MON 810) Bt' nin Alan Denemesi, Projesi sonuç raporu, Adana.

- Charpentier, R., Charpentier, B. ve Zethner, O., 1978. The bacterial flora of the midgut of two Danish populations of healthy fifth instar larvae of the turnip moth, *Scotia segetum*, Journal of Invertebrate Pathology, 32, 59-63.
- Coenye, T., Vancanneyt, M., Falsen, E., Swings, J. ve Vandamme, P., 2003. *Achromobacter insolitus* sp. and *Achromobacter spanius* sp. nov., from human clinical samples, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 53, 1819-1824.
- Coşkuntuncel, S. ve Kornoşor, S., 1996. Çukurova’da mısır kurdu (*Ostrinia nubilalis* Hübner Lepidoptera, Pyralidae)’nun biyolojik mücadelesinde yumurta parazitoidi (*Trichogramma evanescens* Westwood, Hymenoptera, Trichogrammatidae)’nin kitle salınım etkinliği ile doğal parazitlenme oranının saptanması. Türkiye 3. Entomoloji Kongresi, Eylül, Ankara, Bildiriler Kitabı, 294-304.
- Czajka, E., Pancer, K., Kochman, M., Gliniewicz, A., Sawicka, B., Rabczenko, D. ve Stypułkowska-Misiurewicz, H., 2003. Characteristics of bacteria isolated from body surface of German cockroaches caught in hospitals, Przeegl Epidemiol, 57, 4, 655-62.
- Danismazoglu, M., Demir, İ., Sevim, E., Demirbag, Z. ve Nalcacioglu, R., 2012. An investigation on the bacterial flora of *Agriotes lineatus* (Coleoptera: Elateridae) and pathogenicity of the flora members, Crop Protection, 40, 1-7.
- Demir, İ., 2004. *Hyphantria cunea* nükleopolihedrovirüs’ünün *Spodopteraa frugiperda* ve *Lymantria dispar* Hücre Kültürlerinde Replikasyonunun Karşılaştırılması, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Demirbağ, Z. ve Beldüz, A. O., 1997. Baculovirüs’ün Biyolojik Mücadeledeki Önemi, Kükem Dergisi, 20, 1, 49-58.
- Demirbağ, Z., Nalçacıoğlu, R., Katı, H., Demir, İ., Sezen, K. ve Ertürk, Ö., 2008. Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele, Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon.
- Derke, E. C., Dahwe, H.W., Schönbeck, F. ve Weber, A., 1994. Crop Pruduction And Crop Protection. Elsevier, Amsterdam, 808.
- Driss, F., Kallassy-Awad, M., Zouari, N. ve Jaoua, S. 2005. Molecular characterization of a novel chitinase from *Bacillus thuringiensis* subsp, *kurstaki*, Journal of Applied Microbiology, 99, 945–953.
- Dugas, J. E., Zurek, L., Paster, B. J., Keddie, B. A. ve Leadbetter E. R., 2001. Isolation and characterization of a *Chryseobacterium* strain from the gut of the American cockroach, *Periplaneta americana*, Archives of Microbiology, 175, 259–262.
- Ecevit, O., 1988. Zirai Mücadele İlaçları ve Çevreye Olan Etkileri, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayınları, 27, Samsun
- Ege, H., 2002. Mısır Nişasta Sanayi, Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü T.E.A.E.- Bakış 1303-8346, 1.

- Erbaş, Z., 2012. Trabzon Yöresinden Entomopatojen Nematodların İzolasyonu, Karakterizasyonu ve *Melolontha melolontha* Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Faria, M. R. D. ve Wraight, S. P., 2007. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. Biological Control, 43, 237-256.
- Farinós, G.P., de la Poza, M., Hernández-Crespo, P., Ortego, F. ve Castañera, P. 2004. Resistance monitoring of field populations of the corn borers *Sesamia nonagrioides* and *Ostrinia nubilalis* after 5 years of Bt maize cultivation in Spain, *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 110, 23–30
- Glare, T. R., O’Callaghan, M., Malone, L.A. ve Burgess, E. P. J., 2001. Summary of current scientific awareness of the effect of genetically modified organisms on the natural environment. Report for The Ministry of Agriculture and Forestry, AgResearch.
- Glazer, I. ve Lewis, E. E., 2000. Bioassays for Entomopathogenic Nematodes, In “ Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes” (Navon, A. ve Ascher, K. R. S., Eds.), 229-247, CAB International Publishing.
- Gokce, C., Sevim, A., Demirbag, Z. ve Demir, I., 2010. Isolation, characterization and pathogenicity of bacteria from *Rhynchites bacchus* (Coleoptera: *Rhynchitidae*) Biocontrol Science and Technology, 20, 9, 973-982.
- Gonzalez-Cabrera, J., Farinos, G.P., Caccia, S., Diaz-Mendoza, M., Castanera, P., Leonardi, M.G., Giordana, B. ve Ferre, J., 2006. Toxicity and Mode of Action of *Bacillus thuringiensis* Cry Proteins in the Mediterranean corn Borer, *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre). Applied and Environmental Microbiology, 72, 4, 2594.
- Grenier, M. A., Nardon, C. ve Rahbe, Y., 1994. Observation on the micro-organism occurring in the gut of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*, Entomologia Experimentalis Et Applicata, 70, 91-96.
- Güllü, M., Tatlı, F., Kanat A. D. ve İslamoğlu M., 2004. Population development of some predatory insects on Bt and non-Bt maize hybrids in Turkey. GMOs in Integrated Production, IOBC wprs Bulletin, 27, 3, 85-91.
- Güllü, M., 2002. Efficacy of Bt corn to target, nontarget and beneficials organisms. Bt. Maize Forum, September, Peyrehorade, France.
- Haiwen, Li., Freder, M., S., Bradleigh, V. ve Craig, J., 2005. Coates Isolation, characterization, and molecular identification of bacteria from the red imported fire ant (*Solenopsis invicta*) midgut, Journal of Invertebrate Pathology, 89, 203-209.
- Hajek, A. E., 1997. Ecology of Terrestrial Fungal Entomopathogens, In “Advanced in Microbial Ecology” (Jones, J. H., Ed.), 15, 193-249, Plenum Press, New York.

- Hannay, C. L., 1953. Crystalline Inclusions in Aerobic Spore-forming Bacteria, Nature, 172, 4387, 1004.
- Hoffman, M. P. ve Frodsham, A. C., 1993. Naturel Enemies of Vegetable Insect Pests, Cooperative Extension, 63, Cornell University, Ithaca.
- Huang, S., Sheng, P. and Zhang, H., 2012. Isolation and Identification of Cellulolytic Bacteria from the gut of *Holotrichia parallela* Larvae (Coleoptera: Scarabaeidae), International Journal of Molecular Sciences, 13, 3, 2563-2577.
- IGC, 2012. Uluslararası Hububat Konseyi Mart Raporu.
- İnce, İ. A., Katı, H., Yılmaz, H., Demir, İ. ve 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 Biotechnology, 24, 3005-3015.
- Inglis, G. D. ve Lawrence A.M., 2001. Effects of *Serratia marcescens* on the F1 generation of laboratory-reared *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae), Journal of Economic Entomology, 94, 2, 362-366.
- Jackson, T. A., Boucias, D. G. ve Thaler, O. J., 2001. Pathobiology of Amber Disease, Caused by *Serratia* spp., in the New Zealand Grass Grub, *Costelytra zealandica*, Journal of Invertebrate Pathology, 78, 4, 232-243.
- Jeyaprakash, A., Hoy, M. A. ve 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.
- Kavut, H., 1985. Ege Bölgesi Mısır ve Sorgumlarında *Sesamia* türleri özellikle *Sesamia nonagrioides*'in Biyolojisi ve Ekolojisi Üzerine Araştırmalar, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Kaya, H. K. ve Stock, S. P., 1997. Techniques in Insect Nematology, In "Manuel of Techniques in Insect Pathology" (Lacey, L. A., Ed.), 281-324, Academic Press, London.
- Kayapınar, A. ve Kornoşor, S., 1990. Mısır Kurtlarının Doğal Düşmanları ve Biyolojik Savaşta Kullanılma Olanakları. Çevre Biyolojisi Sempozyumu, Ekim, Ankara, Bildiriler Kitabı, 169.
- Kaynar, P., 2010. Genetik olarak değiştirilmiş organizmalar (GDO)'a genel bir bakış. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 66, 4, 177-186.
- Kırtok Y. 1998. Mısır Üretimi ve Kullanımı. s.1-445. Kocaelik Basın ve Yayınevi, İstanbul.
- Klein, G. M. ve Kaya, H., 1995. *Bacillus* and *Serratia* species for Scarab control, Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 90, 1, 87-95.

- Knowles, B. H., 1994. Mechanism of Action of *Bacillus thuringiensis* Insecticidal δ -endotoxin, In *Advances in Insect Physiology*, Volume 24. Evans, P.D. (ed.), Academic Press, London, 275-308.
- Kocaçevik, S., 2012. *Dendroctonus micans* (Kugelann)'tan İzole Edilen *Beauveria bassiana* (Balsamo)'nın Bazı Kabuk Böceklerinin Biyolojik Mücadelesinde Kullanılabilirliğinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Kornoşor, S., Sertkaya, E., ve Özpınar, A., 1994. Distribution of the egg parasitoid *Platytenomus busseolae* (Ghan) (Hym.:Scelionidae) and its effect on the population of *Sesamia nonagrioides* (Lep.:Noctuidae) in the Mediterranean region of turkey. *Trichogramma* and other egg parasitoids 4th International Symposium Cairo, October, Egypt, Bildiriler Kitabı, 193-199.
- Krambias, A., Zyngas, J. P. ve Shiakides, T., 1973 Outbreaks and new records, Plant Protection Bulletin, 21, 64-66.
- Kuzina, L. V., Peloquin, J. J., Vacek, D. C. ve 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., Frutos, R., Kaya, H. K. ve Vail, P., 2001. Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future?, Biological Control, 21, 230-248.
- Laemmli, U. K., 1970. Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4, Nature, 227, 680-685.
- Lin, Y. ve Xiong, G. 2004. Molecular cloning and sequence analysis of the chitinase gene from *Bacillus thuringiensis* serovar *alesti*. Biotechnology Letters, 26, 635–639.
- Line, M. A., 1990. Identification of nitrogen-fixing enterobacteria from living *Sassafras* (*Atherosperma moschatum* Labill.) trees, Plant and Soil, 125, 149-152.
- Lipa, J. J., 1975. *An Outline of Insect Pathology*, Warsaw, Poland.
- Liu, J., Pionar, G. O. ve Berry, R. E., 2000. Control of Insect Pests with Entomopathogenic Nematodes: The Impact of Molecular Biology and Phylogenetic Reconstruction, *Annual Review of Entomology*, 45, 287-306.
- Maddox, J. V., 1987. Protozoan Diseases, In “Epizootiology of Insect Diseases” (Fuxa, J. R. ve Tanada, Y., Eds.), 417-452, Wiley, New York.
- McNeill, M. R., Barratt, B. I. P. ve Evans, A. A., 2000. Behavioural acceptability of *Sitona lepidus* (Coleoptera: Curculionidae) to the parasitoid *Microctonus aethiopoides* (Hymenoptera: Braconidae) using the pathogenic bacterium *Serratia marcescens* Bizio, Biocontrol Science and Technology, 10, 205-213.

- Nishiwaki, H., Ito, K., Shimomura, M., Nakashima, K. ve Matsuda, K., 2007. Insecticidal bacteria isolated from predatory larvae of the antlion species *Myrmeleon bore* (Neuroptera: Myrmeleontidae), Journal of Invertebrate Pathology, 96, 80–88.
- Nordlee, J. A., Taylor S.L., Townsend J. A., Thomas L. A., Bush R. K., 1996. Identification of a Brazil-nut allergen in transgenic soybeans. New England Journal of Medicine 334, 688-692.
- Oğurlu, İ., 2000. Biyolojik Mücadele, Süleyman Demirel Üniversitesi Yayın No: 8, Isparta
- Osborn, F., Berlioz, L., Vitelli-Flores, J., Monsalve, W., Dorta, B. ve Lemoine, V. R., 2002. Pathogenic effects of bacteria isolated from larvae of *Hylesia metabus* Crammer (Lepidoptera: Saturniidae), Journal of Invertebrate Pathology, 80, 1, 7-12.
- Özcan, S., 2009. Modern Dünyanın Vazgeçilmez Bitkisi Mısır: Genetiği Değiştirilmiş (Transgenik) Mısırın Tarımsal Üretime Katkısı, Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi 2, 2, 01-34.
- Özkan, F., 2011. *Spodoptera littoralis*'in Kültüre Edilebilir Bakteriyel Florasının Belirlenmesi ve Bakteriyel Mücadele Etmeninin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Öztemiz S. and Kornoşor S. 1999. Biological control of *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera, Crambidae) by *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera, Trichogrammatidae) and its natural parasitization rate on maize in Çukurova Region of Turkey. Proceedings of the XX. Conference of the International Working Group on *Ostrinia* and Other Maize Pests, September, Adana, Bildiriler Kitabı, 122-130.
- Öztemiz S., Göven M.A., Güllü M., Tatlı F., Üremiş İ., Çetin V., Aksoy E. ve Bülbül Z.F. 2004. Mısır Entegre Mücadele Teknik Talimatı. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı, Ankara, 101.
- Öztemiz S., Kalkan M., Kılınç Ö.O., Soylu S. ve Sade B. 2007. Akdeniz Bölgesinde Mısırkurdu'na Karşı Kimyasal ve Biyolojik Mücadele Uygulamalarının Aflatoksin ve İlaç Kalıntı Miktarına Etkileri. Bitkisel Araştırma Dergisi, 1, 18-23.
- Öztemiz, S. ve Güllü, M., Özdemir, F., Fidan, H. ve Bülbül, F., 2008. Akdeniz Bölgesinde mısırdaki entegre mücadele araştırma, uygulama ve eğitim çalışmaları üzerine araştırmalar, KSU Journal of Science and Engineering, 81, 11, 2, 2008.
- Öztürk, F., 2001. Malathion ve gamma radyasyonun kırma biti (*Tribolium confusum*)'nin gelişim evreleri üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Pai, H.H., Chen, W.C. ve Peng, C.F., 2005. Isolation of bacteria with antibiotic resistance from household cockroaches (*Periplaneta americana* and *Blattella germanica*), Acta Tropica, 93, 259–265.

- Ping, L., Büchler, R., Mithöfer, A., Svatoš, A., Spiteller, D., Dettner, K., Gmeiner, S., Piel, J., Schlott, B. ve Boland, W., 2007. A novel Dps-type protein from insect gut bacteria catalyses hydrolysis and synthesis of N-acyl amino acids, Environmental Microbiology, 9, 6, 1572-1583.
- Poinar, G. O., 1979. Nematodes for Biological Control of Insects, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Poinar, G. O., 1990. Taxonomy and Biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae, In "Entomopathogenic Nematodes in Biological Control" (Gaugler, R. ve Kaya, H. K., Eds.), 23-61, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Sacchi, C. T., Whitney, A.M., Mayer, L. W., Morey, R., Steigerwalt, A., Boras, A., Weyant, R.S. ve Popovic, T., 2002. Sequencing of 16S rRNA gene: a rapid tool for identification of *Bacillus anthracis*, Emerging Infectious Diseases, 8, 1117-1123.
- Sakthivel, S., Angaleswari C. ve Mahalingam, P. U., 2012. Isolation and identification of bacteria responsible for flacherie in silkworms, Journal of Microbiology and Biotechnology, 2, 912-915.
- Sannino, L., Espinosa, B. ve Campese, B., 2004. Melon: a new host of *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre), Informatore Fitopatologico, 54, 32-34.
- Satomi, M., La Duc, M. T. ve Venkateswaran, K., 2006. *Bacillus safensis* sp. nov., isolated from spacecraft and assembly-facility surfaces, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 56, 1735-1740.
- Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rien, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D.R. ve Dean, D.H. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 62, 775-806.
- Sertkaya, E., 1993. Çukurova’da Mısır Bitkisinde Zararlı Mısır Koçan Kurdu, *Sesamia nonagrioides* Lefebvre (Lep.:Noctuidae)’nin Biyolojisi, Populasyon Gelişmesi ve Doğal Düşmanları, Yüksek Lisans Tezi, Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Sevim, A., Gökçe, C., Erbaş, Z. ve Özkan, F., 2012. Bacteria from *Ips sexdentatus* (Coleoptera: Curculionidae) and their biocontrol potential, Journal of Basic Microbiology, 52, 6, 695-704.
- Sevim, A., Demirbağ, Z. ve Demir, İ., 2010. A new study on the bacteria of *Agrotis segetum* Schiff. (Lepidoptera: Noctuidae) and their insecticidal activities, Turkish Journal Of Agriculture & Forestry, 34, 333-342.
- Sezen, K. ve Demirbağ, Z., 1999. Isolation and insecticidal activity of some bacteria from the hazelnut beetle (*Balaninus nucum* L.), Applied Entomology and Zoology, 34, 1, 84-85.
- Sezen, K., Demir, İ. ve Demirbağ, Z., 2004. Study of the bacterial flora as a biological control agent of *Agelastica alni* L. (Coleoptera: Chrysomelidae), Biologia, Bratislava, 59, 3, 327-331.

- Sezen, K., Demir, İ. ve Demirbağ, Z., 2007. Identification and pathogenicity of entomopathogenic bacteria from common cockchafer, *Melolontha melolontha* L. (Col., Scarabaeidae), New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 35, 79-85.
- Sikorowski, P. P., Lawrence, A. M. ve Inglis, G. D., 2001. Effect of *Serratia marcescens* on rearing of the Tobacco Budworm (Lepidoptera: Noctuidae), American Entomologist, 47, 1, 51-60.
- Sneath, A. P., 1968. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2, Sneath, A. P., Mair, N. S., Sharge, M. S. ve Holt, J. G., Williams and Wilkins, Baltimore.
- Steinhaus, E. A., 1949. Principles of Insect Pathology, McGraw-Hill, New York.
- Steinhaus, E. A., 1956. Microbial Control: The Emergence of an Idea, Journal of Agricultural Science, 26, 107-160.
- Stevenson, J.P., 1966. The normal bacterial flora of the alimentary canal of laboratory stocks of the desert locust, *Schistocerca gregaria* Forskål., Journal of Invertebrate Pathology, 8, 205-211.
- Strasser, H., Vey, A. ve Tariq, M. B., 2000. Are there any risks in using entomopathogenic fungi for pest control, with particular reference to the bioactive metabolites of *Metarhizium*, *Toxopneustes* and *Beauveria* species? Biocontrol Science and Technology, 10, 717-735.
- Sukontason, K., Bunchoo, M., Khantawa, B., Piangjai, S., Methanitikom, R. ve Rongsriyam, Y., 2000. Mechanical carrier of bacterial enteric pathogens by *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) in Chiang Mai, Thailand, Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, 31, 157-161.
- Susuki, K., Sugawara, N., Susuki, M., Uchiyama, T., Katouno, F., Nikaidou, N. ve Watanabe, T., 2002. Chitinases A, B, and C1 of *Serratia marcescens* 2170 produced by recombinant *E. coli* enzymatic properties and synergism on chitin degradation. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 66, 1075-1083.
- Şimşek, N., Güllü, M. ve Zeren, O. 1988. Studies on effectiveness of some agrochemicals against stem borers, *Sesamia nonagrioides* Lef., *S. cretica* Led. and european corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hbn. in Mediterranean Region of Turkey. Proceedings of a Symposium On Corn Borers And Control Measures, November, Adana, Bildiriler Kitabı, 44-54.
- Şimşek, N. ve Güllü M. 1992. Akdeniz Bölgesi'nde mısırdaki zarar yapan Mısır koçan kurdu (*Sesamia nonagrioides* Lef.) (Lepidoptera: Noctuidae) ve Mısır kurdu (*Ostrinia nubilalis* Hbn.) (Lepidoptera: Pyralidae)'nin mücadelesine esas olabilecek biyolojik kriterlerin araştırılması. Türkiye II. Entomoloji Kongresi, Ocak, Adana, Bildiriler Kitabı, 501- 512.
- Tang, X., Adler, P. H., Vogel, H. ve Ping, L., 2012. Gender-specific bacterial composition of black flies (Diptera: Simuliidae), FEMS Microbiology Ecology, 80, 3, 659-670.

Teoman, A., 1979. Güneydoğu Anadolu Bölgesi buğdaygillerinde zararlı lepidopter türlerinin saptanması, yayılış alanları zarar şekilleri ve *Sesamia nonagrioides* Lef.'in kısa biyolojisi üzerine araştırmalar. G.T.H.B. Zirai mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Araştırma Eserleri, 35, 112.

TKB, 2005. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Adana İl Müdürlüğü. Adana İli Tarımsal İstatistik Verileri, Cep Kitapçığı, Yayın No: 2, Adana.

TMO, Toprak Mahsülleri Ofisi 2007 Yılı Hububat Raporu (www.tmo.gov.tr).

Tomova, I., Lazarkevich, I., Tomova, A., Kambourova, M. ve Tonkova, E. V., 2013. Diversity and biosynthetic potential of culturable aerobic heterotrophic bacteria isolated from Magura Cave, Bulgaria, International Journal of Speleology, 42, 1, 65-67.

Tsitsipis JA. 1988. The corn stalk borer, *Sesamia nonagrioides*: Forecasting, crop loss assesment and pest management. Integrated crop protection in cereals. Balkema, Rotherdam, Brookfield, 171-177.

TÜİK, 2011. Tarım İstatistikleri (Bitkisel üretim istatistikleri, Bitkisel ürünler denge tabloları), <http://www.tuik.gov.tr>.

URL-1 [http://tr.wikipedia.org/wiki/M%C4%B1s%C4%B1r_\(bitki\)](http://tr.wikipedia.org/wiki/M%C4%B1s%C4%B1r_(bitki)). 25 Nisan 2012.

URL-2 <http://bubuleps.com/Sesamianonagrioides.php>. 25 Nisan 2012.

URL-3 <http://www.leps.it/indexjs.htm?SpeciesPages/SesamNonag.htm> 25 Nisan 2012.

URL-4 <http://www.itga.com/estacion/index.asp?IdPlagaComun=22&IdPlagaCientifico=4&IdCultivo=0> 25 Nisan 2012.

URL-5 <http://www.lepinet.fr/especies/nation/lep/?e=1&id=44780#> 25 Nisan 2012.

URL-6 <http://hobibahcemiz.net/viewtopic.php?f=156&t=8752> 25 Nisan 2012.

URL-7 <http://www.agrobestgrup.com/ilac.php?dilkod=TR&ilacid=131&kat=petra-5-ec> 25 Nisan 2012.

URL-8 <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/enzimas/transgenicos.html> 25 Nisan 2012.

URL-9 <http://www.efadip.org/es/servicios/galeria/index.asp?action=displayimage&item=%2Fcomun%2Fservicios%2Fgaleria%2FPLAGAS+Y+ENFERMEDADES++PESTS++AND+DESEASES++PRAGAS+E+ENFERMIDADES%2FMaiz++Maize++Millo%2FTaladros++Drills++Taladros%2FOruga+en+tallo%2Ejpg> 25 Nisan 2012.

URL-10 http://muou.sc.mahidol.ac.th/research_wp_bt.html MU-OU: CRC, 09 Mayıs 2012.

URL-11 http://www.bt.ucsd.edu/bt_history.html, History of Bt, 07 Mayıs 2012.

URL-12 http://www.bt.ucsd.edu/bt_history.html, History of Bt, 07 Mayıs 2012.

- Uygun, N. ve Kayapınar, A., 1993. Günaydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki muzlarda yeni bir zararlı: Mısır koçan kurdu, *Sesamia nonagrioides* Lefebvre, (Lepidoptera, Noctuidae).
- Ünal, G., 1998. Zirai Mücadele İlaçları Toksikolojisi ve Çevre, Ankara Zirai Mücadele.
- Vilas-Boas, G.T., Peruca, A.P.S. ve Arantes, O.M.N., 2007. Biology and Taxonomy of *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, and *Bacillus thuringiensis*, Canadian Journal of Microbiology, 673-687.
- Vural N., 1996. "Toksikoloji", Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi yayınları No 73, Ankara Üniversitesi Basımevi.
- Weiser, J., 1969. An Atlas of Insect Diseases, Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague.
- Woese, C.R., 1987. Bacterial evolution, Microbiological reviews, 51, 2, 221-271.
- Zarchi, A. A. K. ve Vatani, H., 2009. A survey on species and prevalence rate of bacterial agents isolated from cockroaches in three hospitals, Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 9, 2, 197-200.
- Zeren, Y., Güllü, M. ve Şimşek, N., 1988. Some biological investigations to the relating control of stalk borer (*Sesamia* spp.) and European corn borer (*Ostrinia nubilalis* Hbn.) on corn in Mediterranean Region. Proceeding of a Symposium on Corn borers and Control Measures, November, Adana.
- Zhong, W. F., Jiang, L. H., Yan, W. Z., Cai, P. Z., Zhang, Z. X. ve Pei, Y. 2003. Cloning and sequencing of chitinase gene from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*, Yi Chuan Xue Bao, 30, 364-369.

8. EKLER

Ek 1. Besiyeri, Ayıraç, Boyalar ve Kimyasalların Hazırlanışı

Ek 1. 1. Besiyerlerinin Hazırlanışı

Leura-Bertani Agar (LB Agar): 500 ml besiyeri için 5 g tripton, 2,5 g yeast extract, 2,5 g sodyum klorür (NaCl) ve 6 g agar-agar tartılarak saf su ile 500 ml ye tamamlanır, otoklavlanarak steril edilir.

Leura-Bertani Broth (LB Broth): 500 ml besiyeri için 5 g tripton, 2,5 g yeast extract ve 2,5 g sodyum klorür (NaCl) tartılarak saf su ile 500 ml ye tamamlanır, otoklavlanarak steril edilir.

Nişasta Agar: 1g nişasta 10 ml soğuk ddH₂O'da çözüldükten sonra 100 ml nütrient agarla karıştırılır ve otoklavlanarak steril edilir.

Nütrient Agar (NA): Ticari olarak satılan hazır nütrient agar kullanıldı. 1000 ml besiyeri için 28 g tartılıp 1000 ml ye tamamlanır ve otoklavlanarak steril edilir. Kullanılan marka: Fluka, Katalog no: 70148

Nütrient Broth (NB): Ticari olarak satılan hazır nütrient broth kullanıldı. 1000 ml besiyeri için 13 g tartılıp 1000 ml ye tamamlanır ve otoklavlanarak steril edilir. Kullanılan marka: LAB M, Katalog No: 061915

Tryptic Soy Agar (TSA): Ticari olarak satılan hazır besiyeri kullanıldı. 1000 ml besiyeri için 40 g tartılıp 1000 ml ye tamamlanır ve otoklavlanarak steril edilir. Kullanılan marka: Merck, Katalog no: 1,05458,0500

Spor Zorlayıcı Besiyeri: 50 mg mangan sülfat (MnSO₄), 100 mg kalsiyum klorür (CaCl₂), 500 mg magnezyum sülfat (MgSO₄), 28 g nütrient agar tartılıp saf su ile 1000 ml ye tamamlanır ve otoklavlanarak steril edilir.

MacConkey Agar (MCA): Ticari olarak satılan hazır besiyeri kullanıldı. Kullanılan marka: Merck, Katalog no: 1,05465,0500

Ek 1.2. Ayıraçlar ve Boyaların Hazırlanışı

Aseton Alkol: 250 ml % 95'lik etanol ve 250 ml saf aseton karıştırılarak hazırlanır.

Gram İyodu: 1 g iyot ve 2 g potasyum iyodür (KI) 5 ml saf suda çözülüp; üzerine 250 ml saf su ve 60 ml % 5'lik sodyum bikarbonat (NaHCO₃) ilave edilir.

Kristal Violet Boyası: Bu boya için iki ayrı solüsyon hazırlanıp ardından ikisi birbirine karıştırılır: 1) 1 g kristal violet, 10 ml %95'lik etanol, 90 ml saf su ile karıştırılır. 2) 4 g amonyum oksalat ve 400 ml saf su ile karıştırılır. Bu iki solüsyon daha sonra birbirine karıştırılarak 1 gece bekledikten sonra kullanılır.

Malaşit Yeşili: 5 g malaşit yeşili 100 ml saf suda çözülür; süzgeç kağıdı yardımıyla süzülerek kullanılır.

Safranin: 2,5 g safranin O, 100 ml etanol ve 500 ml saf su karıştırılarak hazırlanır.

Ek 1.3. Kimyasalların Hazırlanışı

X-Gal Hazırlanışı: 0,1M 10 ml hazırlamak için 400 mg tartılıp 10 ml ye tamamlanır, filtre yardımıyla steril edilir. X-Gal moleküler ağırlığı; 408,61 g'dir.

IPTG Hazırlanışı: 0,1M 10 ml hazırlamak için 238,3 mg tartılıp 10 ml'ye tamamlanır, filtre yardımıyla steril edilir. IPTG moleküler ağırlığı; 238,3 g'dir.

Ampicilin Sulandırılması: 1 g tuzlu ampicilin 9,5 ml saf suda çözülür ve filtre yardımıyla steril edilir.

TENS(Tris-EDTA-NaOH-SDS) Hazırlanışı: 10 mM pH 8,0 Tris, 1mM pH 8,0 EDTA, 0,1 N NaOH ve %0,5 SDS ile hazırlanır.

3M pH 5,2 Sodyum Asetat Hazırlanışı(100ml): 40,824 g sodyum asetat 50 ml saf suda çözüldükten sonra asetik asit yardımıyla pH'ı 5,2'ye ayarlanır ve daha sonra 100 ml'ye tamamlanır. Otoklavlanarak kullanılır.

Ek 2., Elde Edilen İzolatların 16S rRNA Gen Sıraları

Sn1:

TCACACGGATACCATNTTCTAGAGTTTGAGCGGACGTTACTTCGGTCTGGTGAG
 CAGAGTGGCGAACGGATGAGTAATGTATCGGAACGTGCCAGTAGCGGGGGA
 TAACTACGCGAAAGCGTAGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGCAG
 GGGATCGTAAGACCTTGC ACTATTGGAGCGGCCGATATCGGATTAGCTAGTTG
 GTGGGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAGCTGGTTTGAGAGGACGAC
 CAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTG
 GGGAAATTTGGACAATGGGGGAAACCCTGATCCAGCCATCCCGCGTGTGCGAT
 GAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTTGGCAGGAAAGAAACGTCGTGGGTTA
 ATACCCCGCGAAACTGACGGTACCTGCAGAATAAGCACCGGCTAACTACGTGC
 CAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGT
 AAAGCGTGCGCAGGCGGTTTCGGAAAGAAAGATGTGAAATCCCAGAGCTTAAC
 TTTGGAAGTGCATTTTTAACTACCGAGCTAGAGTGTGTCAGAGGGAGGTGGAA
 TTCCGCGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGATATGCGGAGGAACACCGATGGCGAA
 GGCAGCCTCCTGGGATAACACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAA
 ACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGTCAACTAGCTGTT
 GGGGCCTTCGGGCCTTGGTAGCGCAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCCTGGGG
 AGTACGGTCGCAAGATTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGC
 GGTGGATGATGTGGATTAATTTCGATGCAACGCGAAAAACCTTACCTACCCTTG
 ACATGTCTGGAATTCTGAAGAGATTTGGAAGTGCTCGCAAGAGAACCGGAACA
 CAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC
 GCAACGAGCGCAACCCTTGTCATTAGTTGCTACGAAAGGGCACTCTAATGAGA
 CTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCC
 TTATGGGTAGGGCTTCACACGTCATAAATGGTTCGGGACAGAGGGTCGCCAAC
 CCGCGAGGGGGAGCCAATCCAGAAACCCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTG
 CAACTCGAATGCTATATTAGAGAGTGAGCTACAGCTCTCACACACGGTACC

Sn2:

ATTCTAGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACA
 TGCAAGTCGGGCGGTAACAGGGAGAAGCTTGCTTCTCTGCTGACGAGCGGCGG
 ACGGGTGAGTAATGTATGGGGATCTGCCTGATGGCGGGGGATAACTACTGGAA
 ACGGTAGCTAATACCGCATAATGTCTACGGACCAAAGCGGGGGACCTTCGGGC
 CTCGCGCCATCGGATGAACCCATATGGGATTAGCTTGTAGGTGAGGTAACGGC
 TCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGG
 ACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAATATTGCAC
 AATGGGCGCAAGCCTGATGCAG CCATGCCGCG TGTATGAAGG AGGCCTTCGG
 GTTGTAAGTACTTTTCAGTCGGGAGGAAGGTGGTAAGGTTAATAACCTTATCA
 ATTGACGTTACCGACAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGG
 TAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCA
 GGCGGTTGATTGAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTTAACCCGGGAATTGCAT

CTGATACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCATGTGTAGC
 GGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCCGGCCCCCTG
 GACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGATTAGATA
 CCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGG
 CGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCA
 AGGTTAAAACCTCAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTG
 GTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAAC
 TTAGCAGAGATGCTTTGGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGC
 TGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAAC
 CCTTATCCTTTGTTGCCAGCGCGTGATGGCGGGAACCTCAAAGGAGACTGCCGG
 TGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAG
 TAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTATACAAAGGGAAGCGACCCCCGCGA
 GGGCAAGCGGAACTCATAAAGTACGTGCTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTC
 GACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAA
 TACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACACGGTACCATA

Sn3:

ATTCTAGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACA
 TGCAAGTCGAGCGGTAGCACAGAGAGCTTGCTCTCGGGTGACGAGCGGCGGA
 CGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAA
 ACGGTAGCTAATACCGCATAATGTGCGCAAGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGC
 CTCATGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAACGGC
 TCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGA
 ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCAC
 AATGGGCGCAAGCCTGATGCGGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGG
 TTGTAAGCACTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGGTGAGGTTAATAACCTCATCGA
 TTGACGTTACCCGCGAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGT
 AATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCA
 GCGCGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCAT
 TCGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGC
 GGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCCGGCCCCCTG
 GACAAAGACTGACGCTCAGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
 ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGATTTGGAGGTTGTGCCCTTGAG
 GCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGC
 AAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATG
 TGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACAGA
 ACTTTCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACTGTGAGACAGGTGCTGCATG
 GCTGTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCA
 ACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTTAGGCCGGGAACTCAAAGGAGACTGCCA
 GTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGA
 CCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGACCTCGCG
 AGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGCTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACT
 CGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGA
 ATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACAC GGTACCAT

Sn4:

ATTCTAGAGTTTGGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACA
 TGCAAGTCGAACGGTAGCACAGAGGAGCTTGCTCCTTGGGTGACAGTGGCGGA
 CGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCCGATGGAGGGGGATAACTACTGGAA
 ACGGTAGCTAATACCGCATAATGTCGCAAGACCAAAGAGGGGGACCTTGGGC
 CTCTTGCCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAACGGC
 TCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGA
 ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAACATTGCAC
 AATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGG
 TTGTAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGTGTTGTGGTTAATAACCGCAGCAA
 TTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGT
 AATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCA
 GCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGACTGCATC
 CGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCG
 GTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGG
 ACAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATA
 CCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTCGAGG
 CGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCA
 AGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGT
 GGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAA
 CTTAGCAGAGATGCTTTGGTGCCTTCGGGAACCTCTGAGACAGGTGCTGCATGG
 CTGTCGTCAGCTCGTGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAA
 CCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTTAGGCCGGGAACCTCAAAGGAGACTGCCAG
 TGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAG
 TAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGA
 GAGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTC
 GACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAA
 TACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACACGGTACCAT

Sn5:

AGCGTTGCTGATCTGCGATTACTAGCGACTCCGACTTCATGGGGTTCGAGTTGCA
 GACCCCAATCCGAACCTGAGACCGGCTTTTAGGGATTAGCTCCACCTCACAGTA
 TCGCAACCCATTGTACCGGCCATTGTAGCATGCGTGAAGCCAAGACATAAAG
 GGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCCTCCGAGTTGACCCCGGCAGTCT
 CCCATGAGTCCCCACCACTACGTGCTGGCAACATGGAACGAGGGTTGCGCTCG
 TTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACC
 ACCTGTGAACCAGCCCCGAAGGGAAGGACTATCTCTAGCCCGGTCTGGAACAT
 GTCAAGCCTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAATCCGCATGCTCCGC
 CGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTTAGCCTTTCGGGCCGTACTC
 CCCAGGCGGGGCACTTAATGCGTTAGCTACGGCGCGGAAAACGTGGAATGTCC
 CCCACACCTAGTGCCCAACGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCT
 GTTCGCTCCCCATGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTAAATGCCCAGAGACCTGCC
 TTCGCCATCGGTGTTCCCTCCTGATATCTGCGCATTTACCGCTACACCAGGAAT
 TCCAGTCTCCCCTACATCACTCTAGTCTGCCCGTACCCACCGCAGATCCGAGGT
 TGAGCCTCGGACTTTCACGGCAGACGCGACAAACCGCCTACGAGCTCTTTACG

CCCAATAAATCCGGATAACGCTTGCGCCCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCA
 CGTAGTTAGCCGGCGCTTCTTCTGCAGGTACCGTCACTCTCGCTTCTTCCCTACT
 GAAAGAGGTTTACAACCCGAAGGCCGTCATCCCTCACGCGGCGTCGCTGCATC
 AGGCTTTCGCCCATTTGTGCAATATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGG
 GCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGGTCACCCTCTCAGGCCGGCTACCCGTCG
 TCGCCTTGGTGAGCCATTACCTCACCAACAAGCTGATAGGCCGCGAGTCCATC
 CCCAACCGATAAATCTTTCCACCACAGAACATGCGTTCCGCAGTCATATCCGG
 TATTAGACCCAGTTTCCCAGGCTTATCCCAGAGTCAGGGGCAGGTTACTCACGT
 GTTACTCACCCGTTCCGCCACTAATCCACCAAGCAAGCTTCGGCTTCATCGTTC
 GACTGCT

Sn6:

ATGCTAGCCGAGCGGTAGAGTCTCTTCGGGGACTTGAAGAGCGGCCACGGGT
 GCGGAACACGTGTGCAACCTGCCTTTATCTGGGGGATAGCCTTTTCGAAAGGAA
 GATTAATACCCCATATACTGGATGGCATCATCTGGTATTGAAAACCTCCGGT
 GGATAGAGATGGGCACGCGCAAGATTAGATAGTTGGTGAGGTAACGGCTCAC
 CAAGTCAGCGATCTTTAGGGGGCCTGAGAGGGTGATCCCCACACTGGTACTG
 AGACACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATTGGACAATG
 GGTGAGAGCCTGATCCAGCCATCCCGCGTGAAGGACGACGGCCCTATGGGTTG
 TAACTTCTTTTGTATAGGGATAAACCTAGATACGTGTATCTAGCTGAAGGTAC
 TATACGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGG
 GTGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGTTTAAAGGGTCCGTAGGCGGATCTGT
 AAGTCAGTGGTGAAATCTCACAGCTTAACTGTGAAACTGCCATTGATACTGCA
 GGTCTTGAGTGTTGTTGAAGTAGCTGGAATAAGTAGTGTAGCGGTGAAATGCA
 TAGATATTACTTAGAACACCAATTGCGAAGGCAGGTTACTAAGCAACAACCTGA
 CGCTGATGGACGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTC
 CACGCCGTAAACGATGCTAACTCGTTTTTGGGTTTTTCGGATTTCAGAGACCTAAG
 CGAAAGTGATAAGTTAGCCACCTGGGGAGTACGAACGCAAGTTTGAAACTCAA
 AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGATTATGTGGTTTAATTTCGATGA
 TACGCGAGGAACCTTACCAAGGCTTAAATGGGAAATGACAGGTTTAGAAATAG
 ACTTTTCTTCGGACATTTTTCAAGGTGCTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGCCG
 TGAGGTGTTAGGTTAAGTCCTGCAACGAGCGCAACCCCTGTCACTAGTTGCCA
 TCATTAAGTTGGGGACTCTAGTGAGACTGCCTACGCAAGTAGAGAGGAAGGTG
 GGGATGACGTCAAATCATCACGGCCCTTACGCCTTGGGCCACACACGTAATAC
 AATGGCCGGTACAGAGGGCAGCTACACAGTGATGTGATGCAAATCTCGAAAG
 CCGGTCTCAGTTCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCTATGATAGCTGGAATCG
 CTAGTAATCGCGCATCAGCGCAAG

Sn7:

TGCCGCTGATTTGCAGCCTACAATCCGAACTGAGAACGGTTTTATGAGATTAG
 CTCCACCTCGCGGTCTTGCAGCTCTTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAG
 CCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTT
 GTCACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGATCAA
 GGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGA

CAACCATGCACCACCTGTCACTCTGCTCCCGAAGGAGAAGCCCTATCTCTAGG
 GTTTTTCAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTA
 CCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGCCT
 TGCGGCCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACTTCAGCACTAAAG
 GCGGAAACCCTCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGG
 GTATCTAATCCTGTTTGTCTCCACGCTTTCGCGCCTCAGTGTCAGTTACAGAC
 CAGAAAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCATATCTCTACGCATTTACCCGC
 TACACATGGAATTCCACTTTCCTCTTCTGCACTCAAGTCTCCAGTTTCCAATG
 ACCCTCCACGGTTGAGCCGTGGGCTTTCACATCAGACTTAAGAAACCACCTGC
 GCGCGCTTACGCCAATAATTCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCCGC
 GGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCC
 AGCTTATTCAACTAGCACTTGTTCTTCCCTAACAAACAGAGTTTTACGACCCGAA
 AGCCTTCATCACTCACGCGCGTGTGCTCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGGAAG
 ATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCGGTGTCTCAGTCCCAGTGTG
 GCCGATCACCTCTCAGGTCGGCTACGCATCGTTGCCCTGGTGAGCCGTTACCT
 CACCAACTAGCTAATGCGACGCGGGTCCATCCATAAGTGACAGCCGAAGCCGC
 CTTTCAATTTTCGAACCATGCGGTTCAAATGTTATCCGGTATTAGCCCCGGTTT
 CCCGGAGTTATCCCAGTCTTATGGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCTCCG
 CCGCTAACTTATTAAGAGCAGTGTATGAATCCAGTTGAAACTCTAGA

Sn8:

TCGCATGCTCCGGCCGCCATGGCGGCCGCGGGAATTCGATTATTCTAGAGTTTG
 ATCATGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCG
 GACAGAAGGGAGCTTGTCTCCGGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACG
 TGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACC
 GGATAGTTCCTTGAACCGCATGGTTCAAGGATGAAAGACGGTTTTCGGCTGTCA
 CTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGGGTAATGGCTACCA
 AGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGA
 GACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGG
 ACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTA
 AAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCAGAGTAAGTCTCGCACCTTGAC
 GGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATAC
 GTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGCGGTT
 TCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACT
 GGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAA
 TGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAA
 CTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGT
 AGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCTTAG
 TGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTTCGCAAGACTG
 AAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTA
 ATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCCT
 AGAGATAGGGCTTTCCTTCGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTGCG
 TCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTG
 ATCTTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAA
 CCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCT
 ACACACGTGCTACAATGGACAGAACAAGGGCTGCAAGACCGCAAGGTTTAG
 CCAATCCATAAATCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGT

GAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCC
CGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACCCGGTACCAT

Sn9:

ATGGTACCGTGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCG
CGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATGTAGGCGAGTTGC
AGCCTACAATCCGAACCTGAGAACGGTTTTATGAGATTAGCTCCACCTCGCGGT
CTTGACAGCTCTTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTATAAGGG
GCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTTGTCACCGGCAGTCAC
CTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTGTTGC
GGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCT
GTCACTCTGCTCCCGAAGGAGAAGCCCTATCTCTAGGGTTTTTCAGAGGATGTC
AAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGG
TTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGCCTTGCGGCCGTACTCCCC
AGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACTTCAGCACTAAAGGGCGGAAACCCTCTAA
CACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTG
CTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGTGTCAGTTACAGACCAGAAAGTCGCCTTCG
CCACTGGTGTTCCTCCATATCTCTACGCATTTACCGCTACACATGGAATTCCA
CTTTCCTCTTCTGCACTCAAGTCTCCAGTTTCCAATGACCCTCCAGGTTGAGC
GTGGGCTTTCACATCAGACTTAAGAAACCACCTGCGCGCGCTTTACGCCCAAT
AATTCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTT
AGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCCAGCTTATTCAACTAGCA
CTTGTCTTCCCTAACAACAGAGTTTTACGACCCGAAAGCCTTCATCACTCAGC
CGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCT
CCCGTAGGAGTCTGGGCGGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCCCTCTCA
GGTCGGCTACGCATCGTTGCCTGGTGAGCCGTTACCTCACCAACTAGCTAATG
CGACGCGGGTCCATCCATAAGTGACAGCCGAAGCCGCCTTTCAATTTGGAACC
ATGCGGTTCAAATGTTATCCGGTATTAGCCCCGGTTTTCCCGGAGTTATCCCAG
TCTTATGGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGCGGCTAACTTCATAA
GAGCAAGCTCTTAATCCATTCGCTCGACTTGCATGTATTAGGCACGCCGCCAGC
GTTTCATCCTGAGCCATGATCAAACCTCTAGAAT

Sn10:

ATGGTACCGTGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCG
CAGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATGTAGGCGAGTTGC
AGCCTACAATCCGAACCTGAGAACGGTTTTATGAGATTAGCTCCACCTCGCGGT
CTTGACAGCTCTTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGG
GGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTTGTCACCGGCAGTCA
CCTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGATCGAGGGTTGCGCTCGTT
GCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCAC
CTGTCACTCTGCTCCCGAAGGAGAAGCCCTATCTCTAGGGTTTTTCAGAGGATGT
CAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCG
CTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGCCTTGCGGCCGTACTCCC
CAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACTTCAGCACTAAAGGGCGGAAACCCTCTA

AACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTT
 GCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGTGTACAGTTACAGACCAGAAAGTCGCCTTCG
 CCACTGGTGTTCCTCCATATCTCTACGCATTTACCGCTACACATGGAATTCCA
 CTTTCCTCTTCTGCACTCAGTCTCCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGAGC
 CGTGGGCTTTCACATCAGACTTAAGAAACCACCTGCGCGCGCTTTACGCCAA
 TAATTCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGT
 TAGCCGTGGCTTCTGTTAGGTACCGTCAAGGTGCCAGCTTATTAAGTACGAC
 TTGTTCTTCCCTAACAAACAGAGTTTTACGACCCGAAAGCCTTCATCACTCACGC
 GCGTGTGCTCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTCTGCCTCC
 CGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCAGTGTGGCCGATCACCTCTCAGG
 CCGGCTACGCATCGTTGCCTTGGTGAGCCGTTACCTACCAACTAGCTAATGCG
 ACGCGGGTCCATCCATAAGTGACAGCCGAAGCCGCCTTCAATTTGAACCAT
 GGGTTCAAATGTTATCCGGTATTAGCCCCGGTTTCCCGGAGTTATCCCAGTCT
 TATGGGCAGGTTACCCACGTGTTACTACCCGTCGCGCGTAACCTATAAGAGC
 AAGCTCTTAATCCATTCGCTCGACTTGCATGTATTAGGCACGCCGCCAGCGTCA
 TCCTGAGCCATGATCAAACCTCTAGAAT

Sn11:

ATTCTAGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACA
 TGCAAGTCGAGCGGTAGCACAGAGAGCTTGCTCTCGGGTGACGAGCGGGCGGA
 CGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGGTAACACTACTGGAA
 ACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGC
 CTCATGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAACGGC
 TCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGA
 ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAATATTGCAC
 AATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGG
 TTGTAAGCACTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGGTGAGGTTAATAACCTATCGAT
 TGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCGCCGCGGTA
 ATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAG
 GCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGGCTAACCTGGGAACTGCATT
 CGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCG
 GTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGG
 ACAAGACTG ACGCTCAGGT GCGAAAGCGT GGGGAGCAA CAGGATTAGA
 TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGATTTGGAGGTTGTGCCCTTGAG
 GCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGC
 AAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGGGAGCATGT
 GGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACAGAA
 CTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACTGTGAGACAGGTGCTGCATGG
 CTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAA
 CCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTTCCGGCCGGGAACTCAAAGGAGACTGCCAG
 TGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTCGACC
 AGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAG
 AGCAAGCGGACCTCATAAAGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCG
 ACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAAT
 ACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACACGGTACCAT

Sn12:

CGAACAGATGAGAAGCTTGCTTCTCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAAC
 ACGTGGGTAACCTACCTATAAGACTGGGATAACTCCGGGAACCGGGGCTAAT
 ACCGGATAATATTTTGAACCGCATGGTTCAATAGTGAAAGACGGTTTCGGCTG
 TCACTTATAGATGGACCCGCGCCGTATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTA
 CCAAGGCGACGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGAAC
 TGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAAT
 GGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTCTTCGGATC
 GTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAATTTGTTAGTAACTGAACAAGTCTT
 GACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTA
 ATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGG
 CGTTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTG
 GAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCATGTGTAGCG
 GTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGG
 TCTGTAACCTGACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGATAC
 CCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCC
 CCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCA
 AGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGT
 GGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAAATCTTGACATCCTTTGAC
 CGCTCTAGAGATAGAGTCTTCCCCTTCGGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCAT
 GGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
 AACCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAGGTTGACTGCCGG
 TGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGAT
 TTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATAATACAAAGGGCAGCGAATCCGCGAG
 GCCAAGCAAATCCCATAAAATTATTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGA
 CTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGCATGC

Sn13:

AAGCAGCTTGCTGCTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGA
 AACTGCCCCGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATA
 ACGTCGCAAGACCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCGGATGTGCC
 CAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCT
 AGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAACCTGAGACACGGTCCAGACT
 CCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGC
 AGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGA
 GGAGGAAGGTGCTGTGGTTAATAACCGCAGCAATTGACGTTACTCGCAGAAGA
 AGCACC GGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCG
 TTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTAAAGTCAGAT
 GTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTTGAAACTGGCAGGCTTGAG
 TCTCGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCT
 GGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCTGGACGAAGACTGACGCTCAGG
 TGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTA
 AACGATGTCGACTTGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACG
 CGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAAT
 TGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCG

AAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCACGGAATTTGGCAGAGATGCCTTAGTG
 CCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTG
 AAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCG
 GTTCGGCCGGGAACCTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGG
 GGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACA
 ATGGCATATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAG
 TATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCG
 CTAGTAATCGTAGATCAGAATGCT

Sn14:

CTCTGCAAGTCGAAGCGGTAGCACAGGGGAAGCTTGCTCCCCGGGTGACGAGC
 GGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTA
 CTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAAGAGGGGGACC
 TTCGGGCCTCTTGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGG
 TAATGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCA
 CACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAAT
 ATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGC
 CTTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAGGTGGTGAAGCTTAATACGC
 TCATCAATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAG
 CCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGCG
 CACGCAGGCGGTTTGTAAAGTCAAGTGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAA
 CTGCATTTGAAACTGGCAAGCTAGAGTCTCGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGG
 TGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCCGGC
 CCCCTGGACGAAGACTGACGCTCANGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGA
 TTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAACGATGTCGATTTGGAGGTTGTGCC
 TTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACCGGTTAAATCGACCGCCTGGGGAGTACG
 GCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGA
 GCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCA
 GAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTG
 CATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAG
 CGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTTTCGGCCGGGAACTCAAAGGAGACT
 GCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTT
 ACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTATACAAAGAGAAGCGACCT
 CGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTACGTCTAGTCCGGATTGGAGTCTGC
 AACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTGTAATCGTAGATCAGAATGCG

Sn15:

CTAGAGTTTGATCATGGCTCATAACACACCGCCCGTATTCTAGAGTTTGATCATG
 GCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGTGAAG
 CAGAGCTTGCTCTGTGGATCAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGAGCAATC
 TGCCCCTGACTCTGGGATAAGCGCTGGAAACGGCGTCTAATACCGGATACGAG
 CTGCGACCGCATGGTCAGTAGCTGGAAAGAATTTTCGGTCAGGGATGAGCTCGC
 GGCCTATCAGCTTGTGGTGAAGTAATGGCTCACCAAGGCGTCGACGGGTAGC
 CGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCCACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCC

TACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGACGCAG
CAACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTTAGCAGGG
AAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAAAAGCGCCGGCTAACTACGTGCC
AGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTA
AAGAGCTCGTAGGGCGGTCTGTGCGGTCTGCTGTGAAAACCCGAGGCTCAACCT
CGGGCCTGCAGTGGGTACGGGCAGACTAGAGTGCGGTAGGGGAGATTGGAAT
TCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGATGCGAAG
GCAGATCTCTGGGCCGTATCTGACGCTGAGGAGCGAAGGGTGGGGAGCAAAC
AGGCTTAGATACCCTGGTAGTCCACCCCGTAAACGTTGGGAACTAGTTGTGGG
GTCCATTCCACGGATTCCGTGACGCAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGG
GAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAG
CGGCCGAGCATGCGGATTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTCCAAGGCTT
GACATATAGAGGAAACGTCTGGAAACAGTCGCCCCGCAAGGTCTCTATACAGG
TGGTGCATGGTTGTTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCCTCGTTCTATGTTGCCAGCACGTATGGTGGGAACTCATGGGA
TACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCC
CCTTATGTCTTGGGCTTCACGCATGCTACAATGGCCGGTACAAAGGGCTGCAA
TACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCAAAAAGCCGGTCCAGTTCGGTTGAGGTCT
GCAACTCGACCTCATGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCT
GCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACACGGTACCA
TA

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında İzmir’de doğdu. İlkokula Menemen Cumhuriyet İlkokulu’nda başlayarak ilköğretimine Akiş Öğütçü İlköğretim okulunda devam etti ve liseyi İzmir Vali Erol Çakır Lisesi’nde tamamladı. 2005-2006 Eğitim-Öğretim yılında Dumlupınar Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde lisans öğrenimine başladı. 2009 yılında bu bölümden Biyolog ünvanıyla mezun oldu. Mezun olduktan sonra Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı. İyi derecede İngilizce bilmektedir.