



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ

PROJE BAŞLIĞI

Sucul Kınkanatlılar takımından bazı familyalara (Dydiscidae, Hydrophilidae ve Helophoridae) ait böcek türlerinin sindirim yapılarından izole edilen bakterilerin API identifikasyon kitleri ile karakterizasyonu ve ön tanısı

Proje No

FHD-2020-8649

Proje Türü

Hızlı Destek

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Dr. Öğr. Üyesi Figen ORHAN

Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu\Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Bölümü

Araştırmacının Adı Soyadı

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet BEKTAŞ

Hınıs Meslek Yüksek Okulu\Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Bölümü

Mart 2021

ERZURUM

ÖNSÖZ

Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyonuna hızlı destek projesi olarak sunduğumuz bu proje ile; TÜBİTAK 1002 projesi kapsamında desteklenen ve dolar kurundaki artış sebebi ile ek bütçeye ihtiyaç duyduğumuz ancak TÜBİTAK tarafından ek bütçe desteği sağlanamayan projemize ek bütçe sağlanması ve gerekli analizlerin bir kısmının bu finansman ile tamamlanması amaçlanmıştır. 'Sukul Kınkanatlılar takımından bazı familyalara (Dydiscidae, Hydrophilidae ve Helophoridae) ait böcek türlerinin sindirim yapılarından izole edilen bakterilerin API identifikasyon kitleri ile karakterizasyonu ve ön tanısı adlı projemiz' BAP Komisyonu tarafından 5.998,32 TL ile desteklenmiştir. 02.09.2020 tarihinde başlayan projemiz 6 aylık süre içerisinde tamamlanmıştır.



ATATÜRK
ÜNİVERSİTESİ

İÇİNDEKİLER

ÖZET

ABSTRACT

1.GİRİŞ

2.MATERYAL METOD

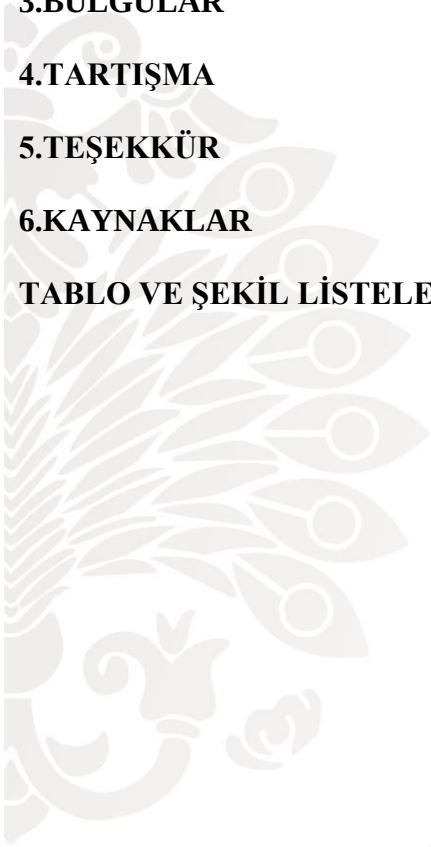
3.BULGULAR

4.TARTIŞMA

5.TEŞEKKÜR

6.KAYNAKLAR

TABLO VE ŞEKİL LİSTELERİ



ATATÜRK
ÜNİVERSİTESİ

ÖZET

Canlılar dünyasının tür çeşitliliği bakımından en zengin gruplarının başında gelen böceklerin; beslenme, yaşam alanı ve metabolizma bakımında büyük bir çeşitlilik gösterir ve bu durum da organizmaların vücut florasından yeni tür ve strainlerin izolasyon şansını artırmaktadır. Ekolojik anlamda endemik, biyoindikatör, tarımsal üretime faydalı veya zararlı böceklerin bağırsak yapılarındaki flora merak konusu olmuş, özellikle biyolojik mücadele amacıyla son dönemlerde incelenmeye başlanmıştır. Sucul kınkanatlıların yaşam alanlarının, tarımsal ve içme suyu olarak kullandığımız su kaynaklarında bulunması esasıyla, çok daha önemiyet kazandığını görmekteyiz. Böcek mikrobiyotasının en önemli üyelerinin bakteriler olduğu bilinmektedir ve bu mikroorganizmalar böcekler için yaşamsal faaliyetlerinin sürdürülmesinde olumlu ya da olumsuz yönde rol alırlar

Daha önce sadece karasal kınkanatlılar familyalarına ait bakteri mikrobiyotası çalışmaları yapılmış ancak sucul kınkanatlılar faunasına ait böceklerden projemizde yer alan familyalarda bu tür bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada; sucul kınkanatlı (Hydrophilidae ve Helophoridae) faunasına ait bazı böceklerin sindirim yapısından elde ettiğimiz bazı Gram (-) bakterilerin API 20 E test multi test sistemi ile karakterizasyon ve ön tanısının yapılması amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda analiz edilen 25 adet bakteriden 18'i isimlendirilirken 7'si isimlendirilememiş, ancak karakterizasyonu yapılabilmiş ve sonrasında yapılan moleküler analizleri desteklemiştir.

Anahtar Kelimeler: Sucul kınkanatlılar, Bakteri karakterizasyonu, Mikrobiyota, API 20 E

ABSTRACT

Insects, one of the richest groups in the world in terms of species diversity shows a great variety form nutrition, habitat and metabolism, so increases the chance of isolation of new species and strains from the organisms' body flora. Ecologically, endemic, bio-indicator, advantageous for agricultural production or microbiota in the gut structures of detrimental insects have been a subject of curiosity, especially biological control has recently been studied. We comprehend that habitats of aquatic insects target more importance with the water resources using as agricultural and drinking water. Insect microbiota is known to be the most important bacteria and these microorganisms take positive or negative action in sustainable to their vital activities.

Only bacterial microbiota belonging to the terrestrial insects group was tested in advance, but no such clues were found in families of aquatic coleoptera fauna in our project. At this study; it is purposed to characterize and pre-diagnose some Gram (-) bacteria belonging to aquatic insects (Hydrophilidae and Helophoridae) fauna with API 20 E test multi-test system. While 18 of the 25 analyzed bacteria were nomencultured, 7 of them could not be named. However, it subsequently could be characterized and supported with molecular analyzes that have been made.

Keywords: Aquatic Coleoptera, Bacteria characterization, Microbiota, API 20 E

1. GİRİŞ

Canlılar aleminin çoğunluğunu böcekler; böceklerin ise büyük bir kısmını Coleoptera takımına ait bireyler oluşturur. ‘Kırankanatlılar’ ya da ‘sert kanatlılar’ olarak ifade edilen Coleoptera takımı yeryüzünde en çok türle temsil edilen böcek grubudur. Mevcut böceklerin %40’ı bu takım içerisinde yer alır (Bektaş 2015). Böceklerin bağırsak mikrobiyotası, ev sahibi böceklerle büyüme, gelişme ve çevresel adaptasyonunda önemli rol oynar. Çok yakın zamanda, böcek mikrobiyotası ve genomları (mikrobiyom), biyo-işleme endüstrisi için önemli bir genetik kaynak olarak kabul edilmiştir. (Krishnan 2014) Haşereler ile mücadelede en ümit verici, çevre dostu, ucuz ve sürdürülebilir yöntem “biyolojik mücadele”dir. Günümüzde biyolojik mücadele çalışmalarına ağırlık verilmesinin nedeni, sadece kimyasal mücadelenin olumsuz etkisinden kurtulmak değil, aynı zamanda, doğada zararlıları %99 oranında baskı altında tutan faydalı mikro ve makro organizmalardan yararlanılmak istenmesidir. Birçok entomopatojenin kitle üretimi yapılarak “biyolojik insektisit” olarak piyasaya sürülmüştür.

Biyolojik insektisit olarak kullanılan mikroorganizmaların en başta gelenlerinden birisi *Bacillus thuringiensis* türü olup, birçok böcek türüne karşı başarı ile kullanılmaktadır. Entomopatojenler genellikle standart ilaçlama aletleri veya sulama suyuna karıştırılarak uygulanmaktadır. Ticari olarak üretilen bu entomopatojenler genellikle türe spesifik olduğu için biyolojik mücadelede emniyetle kullanılabilecek etmenlerdir. Ne yazık ki bu preparatlar dünya ilaç piyasasının sadece %2-5’ini oluşturmaktadırlar. Ancak bu konudaki çalışmalar hızla sürdürülmekte olup, birçok entomopatojen türün biyolojik mücadelede ümit veren sonuçları ortaya çıkarılmıştır (Uygun 2010). Entomopatojenik araştırmalarda; bakterilerin böceklerle en ortak ilişkili mikroorganizmalar olduğu, bazılarının patojen olmasa da, önemli bir kısmının böceklerde hastalıklara neden olduğuna vurgu yapılmıştır. Özellikle larva safhasında bakteriler tarafından öldürülen böceklerin hızlıca renklerinin koyulaştığı, organ ve dokularında yıkımın olduğu, çürük-leş gibi bir koku meydana geldiğini, böcek ölümünden sonra bu patojen bakterilerin bol sayıda kümелendiği entomopatojenik araştırmalarda belirtilmiştir (Yoshinori 2018). Tarımsal mücadele konusunda ise, bakteri ve böcek

arasındaki ilişkileri nitelendirme bazında, ülkemizde tüm dünyada uygulandığı gibi zararlı böceklerin kontrolünde çeşitli kimyasal insektisitler kullanılarak kimyasal mücadele yürütülmektedir. Fakat kullanılan bu kimyasal insektisitler hem doğal çevreye ve hem de hedeflenmemiş organizmalar üzerinde olumsuz etkilere sahiptir (İskender ve Algur 2009). Bu nedenle son zamanlarda bu zararlılarla mücadelede bazı virüs ve bakteriler gibi entomopatojenlerin kullanıldığı biyolojik mücadeleye ağırlık verilmiştir (Dadaşoğlu 2013).

Tarımsal mücadele konusunda ise, bakteri ve böcek arasındaki ilişkileri nitelendirme bazında, ülkemizde tüm dünyada uygulandığı gibi zararlı böceklerin kontrolünde çeşitli kimyasal insektisitler kullanılarak kimyasal mücadele yürütülmektedir. Fakat kullanılan bu kimyasal insektisitler hem doğal çevreye ve hem de hedeflenmemiş organizmalar üzerinde olumsuz etkilere sahiptir (İskender ve Algur 2009). Bu nedenle son zamanlarda bu zararlılarla mücadelede bazı virüs ve bakteriler gibi entomopatojenlerin kullanıldığı biyolojik mücadeleye ağırlık verilmiştir (Dadaşoğlu 2013).

Mikrobiyal insektisitler, yaşayan mikroskopik (virüs, bakteri, fungus, protozoa ve nematod) organizmalardan veya bunların ürünleri olan toksinlerden oluşmaktadır. Zararlı böcekler ile mücadelede yaygın olarak kullanılan mikrobiyal kontrol ajanları bakterilerden (*Bacillus thuringiensis*), virüslerden (*Baculovirus*), funguslardan (*Beauveria bassiana*), protozoalardan (*Nosema locustae*) ve nematodlardan (*Heterorhabditidae* ve *Steinernematidae*)dır. Mikrobiyal kontrol ajanları içerisinde yer alan entomopatojen biyoinsektisitler, türe özgü etki gösterdiği için diğer doğal düşmanlara göre daha avantajlıdır. Bunlar diğer insektisitler gibi püskürtme, toz ve granül halde uygulanacak şekilde hazırlanmış olup, birçok zararlı böcek ile mücadelede kullanılmaktadır. Mikrobiyal insektisitlerin yaban hayatı ve hedef dışı insan ve diğer canlılar üzerinde toksik etkisi göstermemesi, ürettikleri toksinlerin genellikle tür veya cins düzeyinde etki göstermesi, diğer faydalı böcek türlerine zarar vermemesi, birçok durumda konvansiyonel pestisitlerle birlikte kullanılabilmesi ve hasat döneminde dahi uygulanabilmesi bu mikrobiyal insektisitlerin avantajlarıdır. Her zararlı için kullanılamasa da bu ürünler süs bitkilerinde yaşayan bazı

zararlı böcekler için başarılı bir şekilde kullanılabilir. Çünkü mikrobiyal insektisitlerin çoğu belli böceklere karşı etkilidir ve bu insektisitlerin yarı ömürleri oldukça kısadır. Kullanıcılar hedef zararlıyı iyi bir şekilde tanımlamalı ve etkili bir uygulama yöntemi belirlemelidir. Ancak, bu insektisitler yüksek düzeyde seçiciliğe sahip olduklarından uygulandıkları alanlardaki diğer zararlı türlere etki etmemektedir (Azizoğlu 2012). Wooldridge and Wooldridge (1972), Hydrophilidae familyasına ait tek bir *Tropisternus lateralis nimbatus* (Coleoptera: Hydrophilidae) alt türü çalışmışlar, kamu sağlığı yönünden patojenik bakteriler ve vektör canlı olarak *Tropisternus* türünü örnek vermişlerdir. Bu çalışmanın, ülkemizden çok uzak bir türün çalışılması ve sadece tek bir alt türün bakteri mikrobiyotası hakkında sınırlı bilginin olduğu görülmüştür.

Böcekler ile funguslar arasındaki ilişkiler konusunda ise, (Kırpık vd. 2010), 2009 yılında Kars Platosunda, farklı istasyonlardan alınan Kafkas ırkı (*Apis mellifera caucasica* Pollmann, 1889), canlı ve ölü arı örneklerinin, vücut yüzeyleri ile sindirim sistemlerine ait mikrofungus mikrobiyotasının belirlenmesi amacı ile yaptıkları araştırma sonucunda; *Penicillium*, *Alternaria*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Ulocladium*, *Verticillium* ve *Zythia* cinslerine ait toplam 13 farklı fungus türü teşhis etmişler ve bu fungusların arılarla ilişkilerini literatüre dayalı olarak tartışmışlardır. Bu projenin sonuçları temel alınarak ortaya çıkabilecek yeni projeler ile bu türlerde fungusların da tanımlanması, ileride bizim tanımladığımız bakterileri ile ilişkisinin zenginleştirilmesine olanak sağlayarak çalışmanın yaygın etkisini de arttıracaktır.

Karasal kırankatlılardan Kızılağaç böceği *Agelastica alni* (Coleoptera: Chrysomelidae) dünyada fındık ve kızılağaç zararlılarının başında gelir. Bu zararlıya karşı daha etkin ve güvenli bir biyolojik kontrol ajanı bulmak için 2000-2002 yılları arasında Trabzon civarında toplanan kızılağaç böceklerinden bakteri izole edip tanımlanmış ve bu izolatların yetişkin ve larvalara karşı insektisidal etkilerini araştırılmış, *A. alni*'nin biyolojik kontrol olarak bakteri mikrobiyotasının incelenmesi üzerine herhangi bir çalışma olmadığını bildirmişlerdir (Sezen 2004).

2. MATERYAL VE METOT

Böcek Numunelerinin Toplanması ve Tür Teşhisi

Sucul Kınkanatlılardan; Mayıs–Eylül 2020 tarihinde her ay düzenli olarak belirli günlerde araştırma alanına yakın bölgelerden göl, kaynak, dere, birikinti ve su gözelerinden; gözenek çapı 1-3 mm olan elek, kepçe ve ağ kullanılarak örnekler toplanmıştır. Toplanan böcek türleri ve lokalite bilgileri **Tablo 1**'de verilmiştir. Böcekler canlı olarak yakalandıktan sonra, lokalite bilgileri yazılıp ve şişeler içerisinde tür teşhisi için Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Entomoloji Laboratuvarına getirilmiş ve Dr. Öğretim Üyesi Mehmet BEKTAŞ tarafından tanımlanmıştır.

2.1. Böcek Sindirim Yapısının Açılması

Sucul ortamdan toplanıp laboratuvara canlı olarak getirilen ergin ve sağlıklı böcekler kullanılmıştır. Toplanan böcekler üzerindeki olası kontaminant mikroorganizmaları ortadan kaldırmak için %70'lik alkol ile 5 dakika muamele edilerek hem bayılmaları sağlanıp hem de yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Daha sonra otoklavlanmış steril saf su ile yıkanarak alkolden arındırılan böceklerin sindirim yapısı laboratuvarında steril bir ortamda binoküler mikroskop altında disekte edilip ayrıştırılmıştır ve beklemeksizin bakteri ekimi için mikrobiyoloji laboratuvarına getirilmiştir.

2.2. Örneklerin İnokülasyonu

Böcek sindirim kanalı %5'lik steril fizyolojik tuzlu su içerisinde cam baget yardımı ile ezilip vorteks ile homojenize edilmiş ve ardından seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Bu dilüsyonlardan (10^{-8}) steril pipet ile 100 µL alınıp genel üretim besiyerlerinden tryptic soy agar (TSA) ve nutrient agar (NA) (Merck) besiyerlerine Drigalski spatülü ile yayma ekim yapılmıştır. Ekim yapılan örnekler hem aerob hem de anaerob ortamlarda 30°C'de inkübe edilmiştir. Ardından üreyen bakterilerin; koloni rengi, kokusu, koloni morfolojisi ve üreme hızları belirlenerek farklı özellikteki bakterilerden alt kültürler yapılarak ileri identifikasyonlar için %16'lık gliserol içeren Nutrient Broth (NB) içerisinde -20°C'de saklanmıştır.

2.3.Konvansiyonel yöntemler (Morfolojik ve biyokimyasal özellikler)

Seçilen mikroorganizmalara Gram boyama ve biyokimyasal analizleri (KOH, katalaz, oksidaz) yapılarak gram negatif olanlardan enterik olduğu düşünülen 25 adet bakteri seçilerek API 20E (biomerieux) testi ile karakterizasyonu yapılmıştır.

2.3.1.Morfolojik Özellikler

2.3.1.1. Koloni rengi ve morfolojisi: İlk olarak bakterilerin TSA ve NA besiyerlerinde üretildikten sonra; üreme süresi, koloni morfolojisi, pigment oluşumu, kokusu gibi fenotipik özellikleri kaydedilmiştir.

2.3.1.2. Oksijenli ve oksijensiz ortamda üreme: Aynı örnekten iki adet ekim yapıp biri aerob diğeri anaerob kavanoz içerisinde üremeye bırakılmıştır. Aerop ortamdakiler 24 saat, anaerop ortamdakiler 48-72 saat kadar bekletilmiştir. Anaerop ortamın kontrolü, anaerop test stripleri kullanılarak yapılmıştır.

2.3.1.3. Gram boyama: Gram (+) ve Gram (-) bakterilerin ayrımı için boyama yapılmıştır. Yaklaşık 18 saatlik preparatlardan örnek hazırlanıp fikse edilmiştir. Kristal-viyola ile 1 dakika boyanıp süre sonunda su ile boyası akıtıldıktan sonra lügol solüsyonu ile 1 dakika muamele edilmiştir. Lügol, su ile giderildikten sonra 10 saniye % 70'lik alkol içerisinde boya giderimi yapılmıştır. Bu işlemten sonra preparat karşıt boya olan sulu fuksin ile 30 saniye boyanıp su ile yıkanmıştır. Ardından kurutma kâğıdıyla kurutulup ışık mikroskopunun 100x objektifinde immersiyon yağı damlatılarak incelenmiş ve Gram (+), Gram (-) bakteriler kaydedilmiştir.

2.3.1.4. Hareketlilik testi: Bakterilerin hareket yeteneğini belirlemek için içerisinde %0.4-0.5 oranında agar bulunan nutrient agar besiyerinde test edilmiştir. İğne öze ile dibe kadar düz bir hat boyunca ekim yapılarak 24-48 saat 30°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda, inokülasyon hattından etrafa agarın içine doğru bir yayılma ve dallanma gösterenler hareketli, sağa veya sola doğru bir dallanma ve yayılma oluşturmayanlar ise hareketsiz olarak değerlendirilmiş, ayrıca zayıf hareket özelliği olanlar kaydedilmiştir.

2.3.2.Biyokimyasal Özellikler

2.3.2.1. KOH testi; Saf kolonilerden örnek alınarak KOH ile muamele edilmiştir. Kolonilerde sünme olanlar Gram(-), olmayanlar Gram (+) olarak kaydedilmiştir.

2.3.2.2. Katalaz testi: 30°C'de 24-48 saat TSA agarda gelişen kolonilerden plastik öze ile bir miktar örnek alınıp lam üzerinde, bir damla %3'lük H₂O ile muamele edilerek gaz çıkışı olup olmadığı kaydedilmiştir.

2.4. API 20 E Multi Test Sistemi İle Ön Tanı; Yaptığımız moleküler testlerin konvansiyonel yöntemlerle desteklenmesi amaçlanmıştır. Bakterilerin analitik profillerini tanımlarken bütçenin sınırlı olması sebebi ile çalışmamızda en fazla izole ettiğimiz grup olan Gram (-) enterik bakteriler için uygun olan, API (Analytical Profile Index) 20 E test stripleri tercih edilmiştir. İzole ettiğimiz Gram(-) bakterilerden 25 adet izolat seçilerek üretici firmanın (bioMerieux) çalışma prensibi doğrultusunda analiz edilmiştir. Bu testte her bir strip ile bakterinin 20 adet biyokimyasal özelliği test edilmiştir

API 20E testi kısaca şu şekilde yapılmıştır:

1. 18 saatlik genç kültürlerden saf olduğu düşünülen tek bir bakteri kolonisinden alınıp API süspansiyon ampulüne eklenerek 0,5 McFarland bulanıklığında süspansiyon hazırlanmıştır.
2. Bu süspansiyon API 20E şeridindeki her bir kuyucuğa hava kabarcığı kalmayacak şekilde aktarılmış ve üzeri kapatılarak 30°C'de nemli ortamda 24 saat inkübe edilmiştir.
3. İnkübasyon sonrası ilgili kuyucuklara gerekli solüsyonlar eklenerek 10 dakika içerisinde okunmuş, oluşan renk değişimlerine göre pozitif ve negatif olarak kaydedilmiştir.
4. Renk değişiminden şüphe duyulan kuyucuklar boş (?) bırakılmıştır.
5. Daha sonra sonuçlar API Web tanımlama yazılımına (Gram-negatif API 20 E V4.1) 7 basamaklı profil numarası girilerek okuma yapılmıştır.

3. BULGULAR

Çalışmamızda **Tablo 1**'de verilen 19 adet böcek türlerinden farklı zamanlarda üç ya da dördü olarak bağırsak içeriği disekte edilmiş ve her birinden yaklaşık bir hafta süre ile mikroorganizmalar üretilip stok besiyerlerine alınmıştır. Proje bütçemizin kısıtlı olması ve araştırmacımızın Hyrdophilidae ve Helophoridae familyalarında uzman olduğundan Dytiscidae familyasındaki türde sadece TUBİTAK proje başvurusunda ön çalışmada faydalanılmıştır. Bütçemiz doğrultusunda bunlardan enterik olduğunu düşündüğümüz 25 tanesinin API 20E testi ile ön tanısı yapılmıştır. Analiz sonucunda; 25 adet Gram(-) bakterinin 19 tanesi tür düzeyinde tanımlanmıştır.

4. TARTIŞMA

Çoğu böcek bağırsağı, memeli bağırsaklarına kıyasla nispeten daha az mikrobiyal tür içerir. Ancak bazı böcekler, özel bakterilerden oluşan büyük bağırsak topluluklarını barındırabilir. Böcek bağırsakları; protistler, mantarlar, arkeler ve bakterileri içerebilir. Ancak bu mikrobiyal florasının en önemli üyelerini bakteriler oluşturmaktadır. Protista, mantar ve arkeler özellikle odun ve odun döküntüleri ile beslenen termit ve odun hamam böceklerinde bulunur ve muhtemelen sindirimde rol alırlar. Bakteriler ise; çoğu böcek türünün bağırsaklarındaki organizmaların tümünü veya çoğunluğunu oluşturur. Böceklerdeki bağırsak mikrobiyal toplulukları beslenmeyi iyileştirme parazitlere ve patojenlere karşı koruma gibi etkiler göstermektedir. Ancak bu bakteri toplulukları, boyut, bileşim ve bağırsak içindeki konumları ve işlevleri açısından büyük farklılıklar gösterir. Hatta pek çok böcekte, bağırsak bakteri toplulukları, bir tür içindeki bireyler arasında dahi farklılık gösterir ve bu durum özellikle beslenmeye bağlı olarak geçici mikroorganizma folarısından kaynaklanır. Bu duruma örnek verecek olursak; *Melanoplus sanguinipes* çekirge türünün yetişkinleri yaklaşık 106, yetişkin bir *Drosophila melanogaster* yaklaşık 105 bakteri içerir. Bununla beraber bitki özleri ile beslenen böceklerin çoğu, çok az bakteri içerir veya hiç içermezler, bunun yerine hücre içi simbiyontlar barındırırlar. Böcek bağırsaklarında yaygın olarak *Gammaproteobacteria*,

Alphaproteobacteria, *Betaproteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Clostridia*, *Actinomycetes*, *Spirochetes*, *Verrucomicrobia*, *Actinobacteria* filumları bulunur.

Böceklerin bakterilerle olan simbiyotik yaşamına baktığımız zaman; *Wolbachia pipientis*, *Spiroplasma species* ve *Hamiltonella defensa* gibi simbiyont türler konakçıları istila eden patojen mikroorganizmalardan ve larvalardan korumaları sebebi ile konakçıları için genel olarak faydalıdır. Diğer bir örnek olan *W. pipientis* ise konakçılara fayda sağlamadan kendi çoğalmalarını destekleyebilirler, ancak bu "bencil" ortak yaşam da bile ev sahiplerine fayda sağlayabilirler; örneğin, *Drosophila* türlerinde *W. pipientis*'in bazı RNA virüslerinin neden olduğu enfeksiyonlara karşı koruduğu gösterilmiştir (Engel 2013). Yine *Spiroplasma*'lar konakçıları nematod parazitlerine karşı koruduğu gösterilmiştir. Bu örneklerin deneysel çalışmalar ışığında daha da artması mümkündür.

Birkaç araştırmacının *Drosophila* bağırsak mikrobiyotası ile yaptıkları çok sayıda kültüre dayalı olmayan araştırmada baskın taksonların laboratuvarlar arasında farklılık gösterdiğini ve diyetten etkilendiğini, ancak belirli taksonların tekrarlandığını göstermektedir.(Engel 2013) Örneğin *Lactobacillus* spp. türleri bu baskın türlerden birisidir.

Böceklerde bağırsak mikrobiyotası ile ilgili mikroorganizmaların tespiti ve karakterizasyonu için özellikle moleküler yaklaşımlar, önemli bakteri çeşitliliğini ortaya çıkarmıştır ve bu konuda literature sürekli yeni bilgiler eklenmektedir. Özellikle, 16S rRNA genlerinin nükleik asit dizisi yaklaşımları artık mikrobiyal böcek topluluğu hakkında önemli yeni verileri ortaya çıkarmaktadır. Çalışmamızda bu nitelikteki bir çalışmadır.

Çalışmamızda besiyeri tercihinde hem genel üretim besiyeri olması hem de koloni rengi ve morfolojilerinin kolay tanımlanması sebebi ile literatür taramasıyla da desteklenerek NA ve TSA (Merc) besiyerleri tercih edilmiş ve ilk ekimler paralel yapılmıştır. Ancak iki besiyeri arasında bakteri üreme performansı açısından fark olmaması sebebi ile daha sonraki ekimler sadece TSA besiyerine yapılmıştır. Örnekler çift ekim yapılarak biri aerob diğeri ise anaerob kavanozda indikatör kiti eşliğinde inkübe edilmiştir. Çalışma sonucu elde ettiğimiz izolatların çoğu fakültatif anaerob olup zorunlu anaerob örneğe rastlanılmamıştır.

API 20 E analiz sonuçlarımız değerlendirildiğinde; özellikle hedef mikroorganizmaya yönelik çeşitleri olması sebebi ile API testleri seçilirken analiz öncesi bakterinin morfolojik ve biyokimyasal özelliklerinin iyi analiz edilmesi gerekmektedir. Çalışmamızda gram (-) olup fenotipik ve biyokimyasal analizler sonucu enterik olduğunu düşündüğümüz 8 adet izolat API 20 E'nin veri tabanında olmaması sebebi ile isimlendirilememiş ancak biyokimyasal karakterizasyonu yapılmıştır. Literatür taraması yapıldığında API 20E'nin enterik bakterileri tür düzeyinde ayırt etmek için yeterli olmadığını, mikroorganizmaların taksonomik konumunu doğrulamak için mutlaka genomik çalışmaların gerekli olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda API 20 E analiz sonuçlarımızı moleküler analizler ile karşılaştırdığımızda 17 adet bakteri tür ya da cins düzeyinde uyumlu bulunurken 7 adet bakteri isimlendirilememiştir.

Mikrobiyoloji alanında morfoloji ve biyokimyasal tanı tekniklerine ilaveten moleküler tanı tekniklerinin kullanımının yaygınlaşması, taksonomik araştırmalarda türlerin tanımlanmasında yeni bir bakış açısı getirmiştir. Taksonominin yalnızca morfolojik esaslar üzerinden yapılması, türlerin doğru teşhislerinin güvenilirliğini azaltmaktadır. Bu yüzden türlerin teşhisinde moleküler yöntemlerin kullanılması oldukça önemlidir. Bugün pek çok ülke moleküler sistematik verilerini bir gen kütüphanesi oluşturmak için kullanmaktadır (Gholamzade 2017).

Karasal kırankatlılar üzerine yapılan bakteri mikrobiyotası çalışmalarından daha önemlisi, sucul kırankatlıların yaşam alanlarının, tarımsal ve içme suyu olarak kullandığımız su kaynaklarında bulunması esasıyla, çok daha ehemmiyet kazandığını görmekteyiz. Çalışmamız sonucunda tür ya da cins düzeyinde tanımlamış olduğumuz 19 adet bakterinin tarım, ekolojik ve sağlık araştırmalarındaki yeri ve ayrıca insanlar için potansiyel patojen olanları literatür eşliğinde tartışılacaktır.

Böcek bağırsağında yer alan simbiyont bakterilerin çoğu çevresel bakterilerden oluşur. Böcek bağırsığı toplulukları ile yapılan en eski çalışmalarından birinde, Çingene güvesi tırtıllarının bağırsaklarının diyetle büyük ölçüde bağımlı olan ve Pseudomonas ve Bacillus gibi çevresel ortamlarda yaygın olarak bulunan taksonlara sahip olduğu bulunmuştur. (Broderick

2004). Yine lahana beyaz kelebeğinin tırtıllarının bağırsak toplulukları üzerine yapılan benzer bir çalışmada, bağırsak topluluğunda yaygın çevresel taksonların baskın olduğu bildirildi. (Robinson ve diğerleri, 2010) Çalışmamızda da API 20 E testleri ile yaptığımız çalışmada *Acinetobacter*, *Aeromonas* ve *Pseudomonas* gibi çevresel izolatlar en fazla tanımlanan izolatlar olmuştur.

Enterobacteriaceae ailesi yeryüzünde geniş yayılım gösterirler; taze suda, toprakta, pis sularda, bitkilerde, hayvan ve insanların dışkılarında, serbest yaşayan organizmalarda yer alırlar. Doğal ortamları ise insan ve hayvan bağırsaklarıdır (Tetik, 2007). Çalışmamızda tanımladığımız bakterilerin çoğunluğu Enterobacteriaceae familyasına ait izolatlardır.

İnsanlarda bağırsak mikrobiyotasının oldukça önemli çok üyesi olan *E.coli* çalışmamızdaki 2 farklı böcek türünde (*Laccobius syriacus* Guillebeau, 1896, *Hydrophilus piceus* (Linnaeus 1758) izole edilmiş olması dikkat çekmektedir. *E.coli* olarak tanımlanan iki izolat ayrıca EMB besiyerinde ekilerek metalik refle görünümü gözlemlenerek doğrulanmıştır.

Laccobius syriacus Guillebeau, 1896, *Helophorus brevipalpis* Bedel, 1881.böcekten izole ettiğimiz ve hem API hem de moleküler test sonucu ile *Vibrio cholere* olarak tanımlanan bakteri Gram(-) kıvrık, hareketli oksidaz ve katalaz testi pozitif özelliktedir. Özellikle balık patojeni olarak bilinen ve genellikle deniz balıklarında vibriosize yol açtığı bilinmektedir (Tanrıkul ve Çağırhan 2004).

Virülans faktörlerinin olmayışı sebebi ile biyoteknolojik öneme sahip olan *Pseudomonas putida*; tüm genomu çıkarılmış olan çevresel bakteridir. *P. putida* suşları, organik çözücülere ve diğer çevresel streslere karşı dikkate değer bir direnç gösterirken, ksenobiyotik bileşikler de dahil olmak üzere çok çeşitli kimyasalları parçalayabilir, bu da *P. putida* suşlarını çok değerli biyokatalizör olmasını sağlamaktadır (Nogales 2020).

Çalışmamızda en fazla izole edilen bakteri *Aeromonas* olmuştur. Akuatik çevrenin normal faunasında bulunan aeromonasların su ortamında fazlaca bulunması ve daha önceki

çalışma deneyimizle bu durum öngörebildiğimiz bir sonuç olmuştur. *Aeromonas hydrophila*, yaygın olarak tatlı ve tuzlu sularda, klorlu ve klorsuz içme sularında ve toprak dahil olmak üzere çeşitli habitatlarda bulunur. Sıcak ve soğukkanlı hayvanlar için patojendir. Çeşitli virülans faktörlerine (aerolizin/hemolisin, proteazlar, lipazlar, DNAazlar vb.) sahip olan bu bakteri İnsanlarda yara enfeksiyonları, sepsis, su salgınları ve gıda kaynaklı gastroenteritte yol açarlar (Natiq H, 2014). En önemli patojenler *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae* ve *A. veronii biovar sobria*'dır. Enterobacteriaceae ailesi üyelerine morfolojik olarak benzemeleri sebebi ile tanımladığımız bakterilerin büyük çoğunluğunu oluşturmuşlardır.

Acinetobacter cinsi bakterilerin taksonomisinde son 30 yıldan bu yana DNA-temelli metotların yaygın kullanımı sayesinde önemli değişiklikler kaydedilmiştir. Tanımlanan tür sayısı her geçen gün artmaktadır. *Acinetobacter* izolatlarının cins düzeyinde tanımlanma için fenotipik özellikleri yeterlidir. Bununla birlikte mevcut konvansiyonel veya ticari biyokimyasal yöntemler ile tür düzeyinde tanımlanamazlar. Özellikle klinik olarak önemli türler olan *A. baumannii*, *A. nosocomialis*, *A. pittii* ve *A. calcoaceticus* biyokimyasal testler ile ayrılmazlar. Bu nedenle bu dört bakteri türü *A. baumannii* complex (ABC) başlığı altında toplamıştır. (Esen B.2020). *Acinetobacter* cinsine ait bakteriler hareketsiz organizmalar olarak karakterize edilir. Ancak son zamanlarda yapılan birkaç çalışma *Acinetobacter*'lerde seğirme ve kaynama şeklinde iki tip hareket tanımlanmış ve özellikle nemli koşullar altında katı yüzeylerde bu hareketi meydana getirdikleri ifade edilmiş ve bu durum virülans ile ilişkilendirilmiştir. Çalışmamızda tanımlanmış olduğumuz 2 adet *Acinetobacter* izolatında hareket gözlenmiştir. (Alexandra Machen,2019)

Yapılan çalışmalar yeni haşere kontrol önlemlerinin uygulanması için böceklerin bağırsak mikrobiyotasını dikkate alınması gerekliliğini ve diğer bakterilerin entemopatojenik rollerinin araştırılmasını ortaya koyuyor. Böceklerin geniş ekolojik ve taksonomik çeşitliliği, bağırsak mikrobiyotaları hakkında genelleme yapmayı zorlaştırıyor. Çalışmamızdan elde ettiğimiz verilerin böcek mikrobiyotası hakkında güncel veri sunacağı ve gelecekteki araştırmalar için literatüre katkı sağlayacağı kanaatindeyiz. Çalışmamızda elde edilen bakterilerin büyük

çoğunluğu insanlar için patojen olup, böceklerin besin kaynağı olma potansiyellerinin gelecekte daha fazla artacak olması sebebi ile, besin kaynağı olarak kullanılması durumunda taşımış olduğu risklerinde ortaya koymaktadır. Çünkü protein değeri bakımından değerli olan ve geleceğin alternatif besin kaynaklarından birine aday olan bu böceklerin tüketilmesinin, fırsatçı patojenler sebebi ile özellikle immün sistemi düşük kişilerde risk teşkil edebileceği kanaatindeyiz. Çalışmamız ile bu potansiyel patojen bakteriler kısmende olsa tanımlanmıştır.

Bölgemizde geçmiş yıllarda yapılan çalışmalar dikkate alındığında; yapmış olduğumuz çalışmanın; ileride yapılacak olan tarımsal, ekolojik ve tıbbi alanlardaki çalışmalarda kaynak olabileceğine, biyolojik mücadelede yeni yöntem ve metotların bulunmasında yol göstereceğine ve bu alanda yapılacak çalışmalar ile bilim dünyasına yeni türlerin ilavesinin mümkün olacağına inanmaktayız. Çalışmamıza konu olan türlerin yaşadığı ekosistemin besin zincirinde, mikrobiyal analiz sonucu ortaya çıkan mikroorganizmalar ile ileride yapılacak olan; mikrobiyolojik çalışmalar ve çevresel sorunlar gibi çalışmalar için yeni veri oluşturacaktır

6.SONUÇ

Proje verilerimiz değerlendirildiğinde;

1. Çalışmamız sonucunda 16 adet bakteri tür düzeyinde 2'si ise cins düzeyinde tanımlanmıştır
2. Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz izolatlar ile yeni bir bilimsel alan olan ve her geçen gün ilerleyen Entomopatoloji'ye ve ülkemizin biyolojik zenginliğinin ortaya çıkarılmasına katma değer sağlayacağına inanmaktayız.
3. Çalışmamız ülkemizde daha önce çalışılmış faunalardan farklı olup, sucul kınkanatlı faunası ile yapılan ilk mikrobiyota çalışması olmuştur. Araştırma bulgularımızın İleride yapılacak ekolojik çalışmalar için, bakteri ve böcek popülasyonlarının birbirleriyle olan ilişkilerini incelemede, biyo-çeşitlilik ve tarımsal mücadele vakalarında temel kaynak verisi olabilecektir.
4. Elde ettiğimiz izolatların çeşitli enzimatik aktiviteleri belirlenerek özellikle entomopatojenik potansiyellerinin araştırılarak, toksikolojik çalışmalarda veri havuzuna katkı sağladığını düşünmekteyiz.
5. Projeden elde ettiğimiz verilerin akademik değeri yüksek dergilerde yayınlanması ve sözlü sunum olarak sunulması planlanmaktadır

7. TEŞEKKÜR

Projemize desteklerinden dolayı BAP koordinasyon birimine ve üniversite yönetimine teşekkür ediyorum.

8.KAYNAKLAR

- Alexandra Machen**, Joshua Mettlach. In Vitro Motility Assays for *Acinetobacter* Species. *Acinetobacter baumannii*, s 177-187.2019
- Azizoğlu U**, Bulut S, Yılmaz S. Organik tarımda biyolojik mücadele; entomopatojen biyoinsektisitler. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 28(5):375-381
- Bektaş M. 2015.** Gaziantep, Hatay, Kahramanmaraş, Kilis ve Osmaniye illeri Helophoridae, Hydrochiidae ve Hydrophilidae (Coleoptera) Faunası. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. 1-4.
- Dadaşoğlu F.** Şahin F., 2013. Bakterilerin Yüzük Kelebeği *Malacosoma neustria* L. (Lepidoptera: Lasiocampidae)'nın Biyolojik Mücadelesinde Kullanımı, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 41(2): 97-104.
- Engel P**, Moran NA. 2013. The gut microbiota of insects – diversity in structure and function. FEMS Microbiol Rev 37. 699–735
- Gholam Zadeh S. 2017.** Türkiye'de yayılış gösteren bazı Helophoridae, Hydrochiidae ve Hydrophilidae Türlerinin Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz C genine dayanarak, moleküler karakterizasyonu. Doktora tezi. Atatürk Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kırpık MA**, Aydoğan MN, Örtücü S, Hasenekoğlu i. Kafkas Arısı (*Apis mellifera caucasica* Pollmann, 1889) (Hymenoptera: *Apidae*)'nın, Dış Yüzey ve Sindirim Sistemi Mikrofungus Florasının Belirlenmesi. Kafkas Univ Vet Fak Derg. DOI:10.9775/kvfd.2010.2589.
- İskender NA**, Algur ÖF. Sekiz Dişli Kabuk Böceği (*Ips typographus*, Coleoptera: Scolytidae)'nin Bakteriya Florası Üzerine Araştırmalar. Kafkas Üniv Fen Bil Enst Derg, 2009, 2(1):67-76.
- Sezen K.**, Demir, I. Demirbag, Z. 2004. Study of the bacterial flora as a biological control agent of *Agelastica alni* L. (Coleoptera: Chrysomelidae). Biologia 59: 327–331.
- Krishnan M**, *Insect gut microbiome—An unexploited reserve for biotechnological application*, Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. Volume 4, Supplement 1, May 2014, Pages S16-S21
- Natiq H**, Fatlawy K.A, Aziz H, Hadrawy A. Isolation and Characterization of *A. hydrophila* from the Al-Jadrya River in Baghdad (Iraq). American Journal of Educational Research, 2014, Vol. 2, No. 8, 658-662.
- Nogales J**, Mauller J, Gudmundsson S, Canalejo FJ, Duque E. High-quality genome-scale metabolic modelling of *Pseudomonas putida* highlights its broad metabolic capabilities. Environmental Microbiology (2020) 22(1), 255–269.
- Sezen, K.**, Demir, I. and Demirbag, Z. 2004. Study of the bacterial flora as a biological control agent of *Agelastica alni* L. (Coleoptera: Chrysomelidae). Biologia 59: 327-331.
- Uygun N**, Ulusoy MR, Satar S. Biyolojik mücadele. Türk. biyo. мү. derg., 2010, 1(1): 1-14
- Yoshinori T.** Kaya H.K. (1992). Insect Pathology. Academics Press Inc. 82-84. Güncelleme Tarihi:30/07/2018. <https://books.google.com.tr/book>.
- Wooldridge D.P.** Wooldridge C.R. 1972. Bacteria from the Digestive Tract of the Phytophagous Aquatic Beetle *Tropisternus lutealis nimbatus* (Coleoptera: Hydrophilidae). Environmental Entomology. Vol. 1. No:4. Downloaded from <http://ee.oxfordjournals.org>. at University of Nebraska-Lincoln Libraries on June 5, 2016.

TABLO VE ŞEKİL LİSTELERİ

Şekil 1: Test ettiğimiz API 20 E Stripleri ve proje çalışmalarından görüntüler



Tablo1. Toplanan böcek türleri ve lokalite bilgileri

Böcek türü	Koordinatlar	Rakım (metre)	Toplanma zamanı	Toplanma Yeri
<i>Anacaena rufibes</i> (Guillebeau, 1896)	40°03'01" K 41°31'23" D	1853	25.05.2020	Karasu Çayı / Yolgeçti köyü / Yakutiye / Erzurum
<i>Microlaccobius gracilis</i> Moutschoulsky, 1855	40°43'00" K 41°18'36" D	1558	26.05.2020	Karasu çayı / Küçükgeçit/ Aşkale/ Erzurum
<i>Berosus spinosus</i> (Steven 1808)	40°43'00" K 41°18'36" D	1558	26.05.2020	Karasu çayı / Küçükgeçit/ Aşkale/ Erzurum
<i>Berosus spinosus</i> (Steven 1808)	40°43'00" K 41°18'36" D	1558	26.05.2020	Karasu çayı / Küçükgeçit/ Aşkale/ Erzurum
<i>Hydrobius fuscipes</i> (Linnaeus 1758)	39°33'10" K 42°19'30" D	1722	15.06.2020	Başköy Çayı/ Ovaçevirme / Hınıs / Erzurum
<i>Helophorus hiliaris</i> Sharp, 1916	39°33'10" K 42°19'30" D	1722	15.06.2020	Başköy Çayı/ Ovaçevirme / Hınıs / Erzurum
<i>Helophorus aquaticus</i> (Linnaeus, 1758)	40°21'106" K 41°08'100" D	2109	13.07.2020	Kuzgun baraj bağlantı suyu / Pazaryolu / Erzurum
<i>Laccobius syriacus</i> Guillebeau, 1896	40°21'106" K 41°08'100" D	2109	13.07.2020	Kuzgun baraj bağlantı suyu / Pazaryolu / Erzurum
<i>Helochares obscurus</i> (Müller 1776),	40°47'39" K 41°38'15" D	1179	13.07.2020	Çoruh nehri taşkınları / Aşağı Özbağ / İspir / Erzurum
<i>Hydrochara caraboides</i> (Linnaeus 1758)	40°38'38" K 41°32'49" D	1453	22.08.2020	Yellitepe deresi / Arılı / Tortum / Erzurum
<i>Enochrus fuscipennis</i> (Thomson 1884)	40°43'21" K 41°44'21" D	1441	22. 08.2020	Kaleboynu çayı / Şenyurt / Tortum / Erzurum
<i>Laccobius simlutatrix</i> d'Orchymonth, 1932	39°40'38" K 41°07'09" D	2164	01.09.2020	Çat Barajı / Karaşeyh köyü mevki/ Çat / Erzurum
<i>Enochrus quadripunctatus</i> (Herbst 1797)	39°39'37" K 41°03'19" D	2133	01.09.2020	Çat Barajı Budaklar Deresi / Çat / Erzurum
<i>Hydrophilus piceus</i> (Linnaeus 1758)	40°17'52" K 41°49'21" D	2198	03.09.2020	Kızılgeçit deresi, Hürriyet Mahallesi / Tekman/ Erzurum
<i>Paracymus aeneus</i> (Germar 1824)	40°17'52" K 41°49'21" D	2198	03.09.2020	Kızılgeçit deresi, Hürriyet Mahallesi / Tekman/ Erzurum
<i>Coelostoma orbiculare</i> (Fabricius 1775)	41°11'04" K 42°09'36" D	1852	12.09.2020	Oltu çayı / Vişneli / Oltu / Erzurum
<i>Helophorus brevipalpis</i> Bedel, 1881	40°47'14" K 42°38'27" D	1866	12.09.2020	Norman çayı/ Toprakkale / Oltu / Erzurum
<i>Laccobius striatulus</i> (Fabricius 1801)	41°15'05" K 42°34'52" D	1858	12.09.2020	Melikoğlu deresi / Akşar / Şenkaya / Erzurum

Tablo 2: İzole edilen bakterilerin biyokimyasal fenotipik özellikleri ve API 20E analiz sonuçları

Stok No	İzole edilen böcek türü	Koloni Morfolojisi (Kontrol Edildi)	Boyutu ve Gram Boyanma Özelliği	Katalaz	Oksidaz	Hareket	KOH	Oksijen toleransı ve üreme sıcaklığı	API 20 E Test Sonucu
FO-5	<i>Laccobius syriacus</i> Guillebeau, 1896	Sarımsı, parlak, S koloniler	0.5-1 µm X 1.5-1,8 µm gram(-) kısa basil	+++	Pozitif	+	Negatif	Aerop-30 °C	<i>Vibrio cholerae</i>
FO-10	<i>Laccobius syriacus</i> Guillebeau, 1896	Turuncu, parlak, yaygın, koloniler	0,5-0,8µm X 1.5-2,5 µm basil gram(-)	+++	Zayıf pozitif	Zayıf	Negatif	Zorunlu aerop -30 °C	API 20 E veri tabanında olmaması sebebi ile tanımlanamadı
FO-26	<i>Laccobius striatulus</i> (Fabricius 1801)	Açık krem, parlak, mukoid, S koloniler	1.0-1.5X 1.5-2 µm gram(-) kok ve diplokok	+++	Negatif	++üst kısımda	Negatif	Aerop-30 °C	<i>Acinetobacter calcoiticus</i>
FO-27	<i>Laccobius striatulus</i> (Fabricius 1801)	Kenarları pürüklü, krem, R koloniler	0,3-0,5µm X 0,5-1,2µm gram(-) kısa basil	+++	Pozitif	++	Negatif	Aerop-30 °C	<i>Pseudomonas putida</i>
FO-31	<i>Laccobius syriacus</i> Guillebeau, 1896	Açık krem, yuvarlak, mat koloniler	0,7X-1,5µm gram(-) kokoid	+++	Zayıf pozitif	+++Gaz	Negatif	Fakültatif anaerop	<i>Escherichia coli</i>
FO-45	<i>Hydrobius fuscipes</i> (Linnaeus 1758)	Mat, yuvarlak, küçük koloniler	0,8µm X 1µm gram(-) kısa basil	+++	Pozitif ++	+++	Negatif	Aerop-30 °C	<i>Pseudomonas fluorescens/ putida</i>
FO-51	<i>Helophorus brevipalpis</i> Bedel, 1881	Yaşlandıkça R koloni oluşturan krem koloniler	0,2-0,4µm X 2-2,5µm gram(-) kısa basil	++	Pozitif	+	Negatif	Aerop-30 °C	<i>Vibrio cholerae</i>
O-57	<i>Laccobius striatulus</i> (Fabricius 1801)	Turuncumsu, yuvarlak mat koloniler	0,2-0,3µm gram(-) basil	+ zayıf	Pozitif	ND	Negatif	Aerop-30 °C	API 20 E veri tabanında

									olmaması sebebi ile tanımlanamadı
FO-62	<i>Coelostoma orbiculare</i> (Fabricius 1775)	Sarı pigmentli, mat S koloniler	0,8-1µm X 3-4µm gram (-) kokobasil ve basiller	+	Negatif	ND	Negatif	Aerop-30 °C	API 20 E veri tabanında olmaması sebebi ile tanımlanamadı
FO-63	<i>Helophorus aquaticus</i> (Linnaeus, 1758)	Sarı pigmentli, parlak koloniler	0.8-1X1.5-3 µm civarı gram(-) basil	++	Pozitif	-	Negatif	Aerop-30 °C	API 20 E veri tabanında olmaması sebebi ile tanımlanamadı
FO-71	<i>Helochares obscurus</i> (Müller 1776),	Krem, mat yaygın koloniler	0,7-0,9X1-3µm gram (-)kokobasil	++	Pozitif	+++ ,GG	Negatif	Aerop-30 °C	Aeromonas hydrophilia veroni
FO-74	<i>Microlaccobius gracilis</i> <i>gracilis</i> Moutschoulsky, 1855	Ten rengi parlak koloniler	Gram(-) kokobasil	+	Pozitif	+G	Negatif	Aerop-30 °C	Aeromonas hydrophilia/cavia/sobria
FO-77	<i>Hydrophilus piceus</i> (Linnaeus 1758)	Açık turuncu parlak koloniler	1,2µm X 1,5-2µm gram(-) basil	+++	Zayıf pozitif	+G	Negatif	Aerop-30 °C	<i>Escherichia coli</i>
FO-82	<i>Helochares obscurus</i> (Müller 1776),	Küçük yuvarlak mat koloniler	0,6-0,8µm X 2-4µm gram(-)ince basiller	Negatif	Pozitif	++	Negatif	Aerop-30 °C	API 20 E veri tabanında olmaması sebebi ile tanımlanamadı
Stok No	İzole edilen böcek türü	Koloni Morfolojisi (Kontrol Edildi)	Boyutu ve Gram Boyanma Özelliği	Katalaz	Oksidaz	Hareket	KOH	Oksijen toleransı ve üreme sıcaklığı	API 20 E Test Sonucu
FO-96	<i>Berosus spinosus</i> (Steven 1808)	Akışkan mukoid koloniler	0,5-0,6µm X 2,5-4µm gram(-) ince basil	Negatif	Pozitif	+	Negatif	Aerop-30 °C	<i>Aeromonas hydrophilia</i>

FO-97	<i>Berosus spinosus</i> (Steven 1808)	Küçük krem koloniler	1-1,5µm X 0,8µm gram(-) ince basil	+	Negatif	+	Negatif	Aerop-30 °C	<i>Pantoea sp.</i>
FO-101	<i>Laccobius simlutatrix</i> d'Orchymonth, 1932	Kokulu, krem renkli parlak, R koloniler	3µm X 1µm gram(-) basil	+++	Negatif	?	Negatif	Aerop-30 °C	API 20 E veri tabanında olmaması sebebi ile tanımlanamadı
FO-103	<i>Paracymus aeneus</i> (Germar 1824)	Açık krem yaygın koloniler	1-1.5X 2 µm, gram(-) kokobasil	+++	Negatif	+	Negatif	Aerop-30 °C	<i>Acinetobacter baumannii</i> \calcoaceticus
FO-105	<i>Paracymus aeneus</i> (Germar 1824)	Krem parlak koloniler	Gram(-)kokobasil	Pozitif	Pozitif	+	Negatif	Aerop-30 °C	<i>Aeromonas hydrophilia/cavia/sobria</i>
FO-108	<i>Hydrochara caraboides</i> (Linnaeus 1758)	Krem parlak koloniler	1,2µm gram(-) kok	+++	ND	-	Negatif	Aerop-30 °C	<i>Acinetobacter sp.</i>
FO-110	<i>Anacaena rufibes</i> (Guillebeau, 1896)	Açık krem mat koloniler.	Gram(-) kokobasil	+++	Negatif	++	Negatif	Aerop-30 °C	<u><i>Acinetobacter calcoaceticus</i></u>
FO-118	<i>Enochrus quadripunctatus</i> (Herbst 1797)	Krem mat, R koloniler	1µm X 4-6 µm gram(-) ince uzun basiller	+++	Negatif	-	Negatif	Aerop-30 °C	API 20 E veri tabanında olmaması sebebi ile tanımlanamadı
FO-122	<i>Enochrus fuscipennis</i> (Thomson 1884)	Açık krem mat, S koloniler	0,8µm X 2-3µm, gram(-)basiller	+++	Negatif	++	Negatif	Fakültatif anaerob	<u><i>Serratia plymuthica</i></u>
FO-130	<i>Paracymus aeneus</i> (Germar 1824)	Krem yaygın, parlak koloniler	0,8µm-1X 2,5µm gram(-) kısa basiller	+++	Pozitif	+++G	Negatif	Aerop-30 °C	<u><i>Aeromonas dhakensis</i></u>
FO-132	<i>Paracymus aeneus</i> (Germar 1824)	Açık krem parlak, S koloniler	1µm çapında gram(-) koklar	+++	Negatif	-	Negatif	Aerop-30 °C	<i>Acinetobacter calcoiticus</i>

ND: belirlenemedi, +++: kuvvetli pozitif, G; gaz oluşumu



ATATÜRK
ÜNİVERSİTESİ