

***Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) 'nın biyolojik mücadelesinde bakteriyel endofitlerin kullanılması**

Pınar ÖZSARI^{1*}, Mustafa AKBABA¹, Hatice ÖZAKTAN¹, Yusuf KARSAVURAN¹

Use of Endophytic Bacteria for the Biological Control of *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae)

Abstract: The main purpose of this study was to investigate the biocontrol potential of 19 strains of endophytic bacteria (EB), and *Pseudomonas fluorescens* 184 (Pf) which was isolated from diseased *Leptinotarsa decemlineata*, on larvae of *L. decemlineata*. First, second, third and fourth-instar larvae were starved for 16-h. They were then placed in petri dishes containing fresh potato leaves and sprayed with the EB suspensions and *P. fluorescens* 184. Larvae and potato leaves treated with sterile distilled water was used the negative control. The larvae were incubated for 8 days to determine the mean mortality percentage. The highest insecticidal activity, 80% mortality within 8 days, was in larvae treated with EB strain *Pantoea agglomerans* CC372-83. This test on fresh potato leaves was a quick and reliable screening method for potential biological control agents of *L. decemlineata* larvae. This work will continue with *in vivo* pot test.

Keywords: Biological control, potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pantoea agglomerans*

Öz: Bu çalışmanın amacı; laboratuvar stoklarından seçilen 19 endofitik bakteri (EB) izolatının ve daha önce renk değişimi gözlenen Patates böceği larvasından izole edilen bir *Pseudomonas fluorescens* 184 (Pf) izolatının *L. decemlineata* larvalarına etkilerinin araştırılmasıdır. Birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü dönem *L. decemlineata* larvaları 16 saat süreyle aç bırakıldıktan sonra, EB süspansiyonu uygulanmış sağlıklı patates yaprakları bulunan petri kaplarına bırakılmıştır. Negatif kontrol olarak sadece steril su ile uygulama görmüş larva ve patates yaprakları kullanılmıştır. Petri kaplarında 8 gün süreyle tutulan larvaların ortalama ölüm oranı (%) saptanmıştır. Testlenen EB izolatlarından *Pantoea agglomerans* (Pa) CC372-83 larvalarda %80 ölüm oranıyla en başarılı uygulama olmuştur. *L. decemlineata* larvalarının biyolojik mücadelesi açısından koparılmış yaprak testinin duyarlı ve hızlı bir ön eleme yöntemi olduğu dikkati çekmiştir. Bu çalışma *in vivo* saksı denemeleri ile devam edecektir.

Anahtar kelimeler: Biyolojik mücadele, patates böceği, *Leptinotarsa decemlineata*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pantoea agglomerans*

¹ Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü 35100 İzmir

*Sorumlu Yazar : pınar.guneyi@ege.edu.tr

Alınış (Received) : 14.06.2017

Kabul ediliş (Accepted) : 30.10.2017

Giriş

Anavatanı Güney Amerika olan patates (*Solanum tuberosum* L.), bünyesindeki karbonhidrat, protein, mineral maddeler ve vitaminleriyle insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Birim alandan fazla verim alınması ve her çeşit iklimde yetişmesi açısından hemen hemen bütün dünya ülkeleri tarafından üretilmektedir. Dünyada toplam patates üretimi yaklaşık 324 milyon ton civarındadır. Patates üretim miktarı en fazla olan ülkeler sırasıyla Çin, Hindistan ve Rusya'dır. Türkiye dünya sıralamasında üretim miktarı bakımından yaklaşık 4,8 milyon ton ile 13. sırada yer almaktadır (Anonymous, 2012).

Türkiye patates üretiminin, yaklaşık% 25'ini (1.076.983 ton) karşılayan Ege Bölgesi'nde en fazla patates üretimi İzmir ilinde (157.038 da ekiliş alanı ve 570.671 ton üretim miktarı) gerçekleştirilmektedir. Patates üretimi bakımından ilçe bazında birinci sırayı alan Ödemiş ilçesi 126.563 da ekiliş alanında Ege Bölgesi patates üretiminin 464.969 tonunu karşılarken, bunu Kiraz (11684 da, 47.939 ton), Tire (12070 da, 34.998 ton), Dikili (3440 da, 12.797 ton), Beydağ (2207 da, 6.991 ton) ve Bergama (905 da, 2.626 ton) ilçeleri takip etmektedir (Tüik 2012).

Patatesin bazı önemli fungal, viral ve bakteriyel hastalıklarının yanı sıra en önemli zararlılarından biri oligofag bir böcek olan *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) (Patates böceği)'dir. Birçok ülkede karantinaya tabi olan zararlı ülkemizde de yaygın olarak bulunmaktadır (Has 1992; Anonymous 2008). Oligofag olan bu zararlının mücadelesinde, yayılmasını engellemeye yönelik yasal ve kültürel önlemler alınmakta olup, önerilen kimyasal pestisitlere karşı hızla gelişen dayanıklılık sorunu nedeniyle, etkili bir kimyasal savaşım yöntemi bulunmamaktadır. Bu nedenle mücadelesi için alternatif yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Biyolojik mücadele çevre dostu özelliği ile alternatif mücadele yöntemlerinin başında gelmektedir. Bunun içerisinde de bitki hastalıklarına karşı endofitik bakterilerin (EB) kullanımı son yıllarda yeni bir yaklaşım olarak ortaya çıkmaktadır.

Hallmann ve ark. (1998), EB'leri bitkilere herhangi bir zarar vermeyen, bitkilerin içsel dokularından ekstrakte edilen ya da yüzey dezenfeksiyonu yapılmış bitki dokularından izole edilen bakteriler olarak tanımlamıştır. Lilley ve ark. (1996), yaptıkları çalışmalarla bu bakterilerin birçok bitkinin çiçek, yaprak, meyve, gövde, kök ve tohumlarından izole edebilmişlerdir.

Endofitler bitkinin iletim sistemleri ve içsel dokularında olumsuz bir etki yaratmadan yaşayabilmekte ve bitki gelişimini artırabilmektedir (Spaepen ve ark., 2008; Sgroy ve ark., 2009). Tek yıllık, iki yıllık ve çok yıllık bitkilerde görülen bazı fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerine karşı yapılan çalışmalarda endofitlerden olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Lodewyckx ve ark., 2002; Bargabus ve ark., 2004; Kloepper ve ark., 2004; Andreote ve ark., 2009; Muthukumar ve

ark., 2010; Amerasan ve ark., 2012; Munif ve ark., 2012; Ramesh & Phadke 2012; Lanna-Filho ve ark., 2013). Son yıllarda, EB'lerin, bazı böcek larvalarına karşı da etkili birer biyolojik mücadele elemanı olduğu bilinmektedir (Azevedo ve ark., 2000; Tunaz ve Küsek, 2015).

Bitki içinde konukçusuyla uyum ve yakın ilişki içinde olan endofitlerin bitkide; bitki büyümesini artırma (Barka ve ark., 2002; Kang ve ark., 2007), hastalık şiddetini azaltma (Coombs ve ark., 2004; Kloepper ve ark., 2004; Senthil-Kumar ve ark., 2007), bitki savunma mekanizmalarını harekete geçirme (Bargabus ve ark., 2002; Mishra ve ark., 2006; Bakker ve ark., 2007), zararlıları uzaklaştırıcı ürünler üretme (Sullivan et al., 2007), azotu fikse etme (Martinez ve ark., 2003; Jha & Kumar 2007) ve bitkinin mineral alımını artırma (Malinowski & Belesky 2000) gibi pek çok yararı vardır.

Bitki gelişimini teşvik eden bakteriler (plant growth promoting bacteria-PGPB, plant growth promoting rhizobacteria-PGPR); tohum çimlenmesi, bitkinin sudan yararlanması, kök gelişimi ayrıca kendi yararlarına rizosferde mikrobiyal dengeyi değiştirmesi, mineral madde oranını düzenleyerek bitki gelişimini dolaylı olarak etkileme, aynı zamanda bakteriyel, fungal hastalıkları ve nematod, böcek vb. zararlıları büyük oranda baskılama, viral hastalıklara karşı koruma sağlama gibi önemli özellikler göstermektedir (Sıddıqui 2006).

Bu bakterilerin önemli bir bölümünün, endodermisi geçerek, kök korteksinden başlayarak vasküler sistem boyunca taşınıp bitkinin yaprak, gövde, yumru ile diğer organlarında endofitik olarak yaşayabildiği belirlenmiştir (Bell ve ark., 1995; Hallman ve ark., 1997; Compant ve ark., 2005a; Gray & Smith 2005). Ayrıca bazı PGPR'ların kök içerisine girebileceği ve burada endofitik popülasyon oluşturabileceği de yapılan çalışmalarla belirtilmiştir (Kloepper ve ark., 1999). EB'ler uygulandıkları noktalardan aşağı ve yukarı doğru taşınabilir, içsel dokularda kolonize olabilir ve vasküler silindir içerisine herhangi bir patojenin girişini engelleyebilir.

Endofitler birçok yollarla bitki büyümesini teşvik edebilmektedirler. Bu yollar arasında fosfatı parçalama (Verma ve ark., 2001; Wakelin ve ark., 2004), indol asetik asit üretimi (Lee ve ark., 2004) ve siderofor üretimi bulunmaktadır. Ayrıca EB'ler bitkiler için gerekli vitaminleri sağlamak (Pirttilä ve ark., 2004), stomaların açılmasını düzenlenmek, kök morfolojisini değiştirmek, minerallerin alımı ile birlikte azot birikimi (Compant ve ark., 2005a; 2005b) sağlamak vb. aktivitelere de sahiptir.

Özaktan ve ark. (2015) tarafından yürütülen bir projede serada hıyar yetiştiriciliğinde *Fusarium* solgunluğunu başarıyla engelleyen ve meyve verimini artıran EB izolatu *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) olarak tanılanmıştır. Bu tür, özellikle, entomopatojen özelliği ağır basan gerçek EB'dir. İspanya'da yürütülen bir çalışmada; kuraklık stresi altındaki mısır bitkisine *Bt*'in etkinliği araştırılmış ve sonuçlar söz konusu EB'nin bitki gelişimi ve verimi arttırdığını göstermiştir (Armada ve ark., 2015). *Bt*'in, hem bitki gelişimini hem de patojenlere karşı

Leptinotarsa decemlineata 'nın biyolojik mücadelesinde bakteriyel endofitlerin kullanılması

dayanıklılığı uyardığı belirtilmektedir (Selvakumar ve ark., 2008; Anil & Podile 2011). *Bt* strain 15A3'in uygulandığı bitkilerde *Rhizoctonia solani*, *Physalospora piricola*, *Penicillium chrysogenum* ve *Botrytis cinerea*'ya karşı güçlü antifungal aktivitesinin yanı sıra; *Spodoptera exigua* ve *Helicoverpa armigera* gibi böcek larvalarına karşı da güçlü bir entomopatojen olduğu belirtilmiştir (Liu ve ark., 2010). Bu bakterinin güçlü kitinaz aktivitesi nedeniyle, bitkilerde dayanıklılığın uyarılmasında ve biyolojik savaşta etkili olduğu anlaşılmaktadır.

Scarabaeidae (*Anomala corpulenta*), Chrysomelidae (*Leptinotarsa decemlineata*) ve *Colaphellus bowringi*'ye karşı insektisidal etkiye sahip *Bt* 3A-HBF ırkı ile başarılı sonuçların alındığı belirtilmektedir (Yan ve ark., 2009).

L. decemlineata'ya karşı daha etkili ve güvenli bir biyolojik kontrol ajanı bulmak amacıyla yapılan bir çalışmada, böcek larvasından izole edilen Ld4 no.lu bir *Pseudomonas putida* izolatu *L. decemlineata* larvalarında 5 gün içerisinde %100 oranında ölüme neden olmuş ve etkili bir biyolojik mücadele elemanı olacağı kanısına varılmıştır (Muratoğlu ve ark., 2011).

Bt'in *L. decemlineata*'ya karşı ekzotoksinin etkililiğini belirlemek için yürütülen laboratuvar testlerinde, biyolojik preparat domates bitkisi yaprakları üzerine püskürtüldüğünde, birinci ve ikinci dönemde olan larvaları %90 oranında öldürmüştür. Öldürücü dozun altındaki dozu yiyen genç larva, körelmiş ağız parçaları ve antene sahip erginler haline dönüşmüştür (Cantwell & Cantelo 1981).

L. decemlineata'dan izole edilen bir entomopatojenik bakteri olan *Leclercia adecarboxylata*'nın yüksek insektisidal aktiviteye sahip olduğu saptanmış ve larvalardaki ölüm oranının 5 gün içinde %100 olduğu belirlenmiştir (Muratoğlu ve ark., 2009).

Bu çalışmada *L. decemlineata* 'nın biyolojik mücadelesinde bakteriyel endofitlerin kullanılmasının araştırılması planlanmıştır. Bu konunun araştırılmasına gerek duyulmasının nedeni ise; bu zararlının kullanılan kimyasal insektisitlere hızla dayanıklılık kazanması ve kimyasalların doğurduğu kalıntı ve çevre kirliliği riskleridir. Endofitik bakteri izolatlarının bitki gelişimini artırma ve hastalıklara karşı biyolojik mücadele potansiyellerinin yanı sıra, *L. decemlineata*'ya da entomopatojenik etkileri olduğu bilinmektedir. Bu çalışma kapsamında, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakterioloji Laboratuvarı stoklarında bulunan ve daha önce çeşitli konukçu x patojen sistemlerinde denenerek başarılı oldukları saptanan, bitki gelişimini artırma potansiyelleri bulunan EB izolatları ve daha önce renk değişimi gözlenen doğal enfekteli Patates böceği larvasından izole edilerek, patojenite testleri ve kesin tanısı yapılmış bir *Pseudomonas fluorescens* izolatu'nun koparılmış yaprak testi ile, *L. decemlineata* larvalarına etkisini belirlemek üzere laboratuvar koşullarında ön eleme testleri yapılmıştır.

Materyal ve yöntem

Materyal

Araştırmanın ana materyali, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'ne ait nem ve sıcaklığın sabit tutulduğu iklim odasında üretimi yapılan *L. decemlineata*'nın tüm larva dönemlerine ait bireyler, Marabel patates çeşidi ve endofitik bakteriler (EB)'dir.

Araştırmada *L. decemlineata*'ya karşı etkililiği araştırılmak üzere Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji laboratuvarı stoklarında -80°C'de derin dondurucuda muhafaza edilen EB türleri arasından, özellikle, *Bacillus thuringiensis*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *Pantoea agglomerans* vb. gibi daha önce bazı böcek larvalarına karşı entomopatojenik özellikleri saptanmış türler arasından seçilen 19 EB izolatının yanı sıra, kararma gözlenen enfekteli larvalardan elde edilen, patojenisite ve moleküler tanısı yapılan bir bakteri de bu çalışmada kullanılmıştır. Ticari bir *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) preparatı da (DELFIN WG, AGRİKEM - *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*) bu çalışmada karşılaştırma preparatı olarak yer almıştır. Çalışmada kullanılan endofitik bakterilere ilişkin bilgiler Çizelge 1'de toplu olarak verilmiştir:

Yöntem

Bitkisel materyalin yetiştirilmesi

Marabel çeşidi patates böceğinin tercih ettiği bir çeşittir. Denemelerde bitkisel materyal olarak bu çeşit kullanılmıştır. Patates böceğinin stok kültürünün oluşturulmasında besin olarak kullanılacak bitkiler yetiştirilirken çeşit göz önüne alınmadan patates yumruları kullanılmıştır. Bu yumrular saksıya dikilmeden önce filizlendirilmiştir. Filizlendirme işlemi için 100 litre suya 1 tablet dozunda Gibberellic asit (GA3) (Sumitomo Corporation Dış Ticaret A. Ş.) uygulaması önerilmektedir. Bir tablet 5 gr olup, bu tablet 1 gr gibberellic asit içermektedir. Tablet etil alkolde çözdürülmüş ve gerekli miktardaki su ilavesiyle 1 ppm konsantrasyonunda eriyik hazırlanmıştır. Hazırlanan bu eriyik içerisinde yumrular 10 dakika bekletilmiştir. Daha sonra bu yumrular eriyikten çıkartılarak oda sıcaklığında kurumaya bırakılmış ve daha sonra karanlık oda koşullarında filtre kağıdı üzerine yerleştirilmiştir. Yaklaşık 1 ay içerisinde yumrular filizlenmeye başlayarak dikime hazır hale gelmiştir. Sterilize edilmiş bahçe toprağı ve torf 1:1 oranında karıştırılarak bitkilerin yetiştirilmesinde kullanılacak olan toprak hazırlanmıştır. Bu topraklar, 17 cm çapında, 14 cm yüksekliğindeki 1,5 litrelik silindirik plastik saksılara konularak, filizlenen yumruların dikimi yapılmıştır. Bu saksılar 28x38 cm boyutlarında, 8 cm derinliğinde olan dikdörtgen şeklindeki plastik küvetlerin içerisine yerleştirilip ahşap iskeletli cam kafesler içerisine konulmuştur.

Leptinotarsa decemlineata 'nın biyolojik mücadelesinde bakteriyel endofitlerin kullanılması

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan endofitik bakteri izolatlarına ilişkin bilgiler
Table 1. Details of endophytic bacterial isolates used in the study

İzolat No	İzolat Kodu	İzolasyon Yeri	İzole Edilen Bitki	Floresan Pig. Üret.	Tütünde HR	Gram Testi	Bakterinin Türü
2	CB11	Menderes	Hıyar	-	-	-	Gram (-), non floresan*
6	CB23	Menderes	Hıyar	-	-	-	Gram (-), non floresan*
11	CB52	Çamönü	Hıyar	-	-	-	Gram (-), non floresan*
15	CB81	Çamönü	Hıyar	-	-	-	<i>Cronobacter sakazakii</i>
18	CB92	Çamönü	Hıyar	-	-	-	<i>Serratia ureilytica</i>
31	CA173	Kocayatak	Hıyar	+	-	-	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
37	CB182	Komluca	Hıyar	-	-	-	<i>Pseudomonas punonensis</i>
53	CA272	Yeşilköy	Hıyar	+	-	-	<i>Pseudomonas lutea</i>
56	CA281	Yeşilköy	Hıyar	-	-	-	<i>Pseudomonas punonensis</i>
61	CA292	Patara	Hıyar	+	-	-	<i>Pseudomonas putida</i>
73	CA332	Menderes	Hıyar	+	-	-	Floresan <i>Pseudomonas</i> *
80	CB361	Ödemiş	Hıyar	-	-	-	<i>Ochrobactrum pseudintermedium</i>
83	CC372	Ödemiş	Hıyar	-	-	-	<i>Pantoea agglomerans</i>
88	CA391	Ödemiş	Hıyar	-	-	-	<i>Chryseobacterium elymi</i>
99	CA411	Bayındır	Hıyar	-	-	+	<i>Bacillus thuringiensis</i>
103	CC412	Bayındır	Hıyar	-	-	-	Gram (-), non floresan*
108	CC422	Bayındır	Hıyar	-	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i>
112	CC44	Bayındır	Hıyar	+	-	-	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
184	-	Niğde	Patates böceği	+	-	-	<i>Pseudomonas fluorescens</i>

*Konvensiyonel tanı testleri uygulanan, ancak, moleküler tanılama yapılmayana izolatlar

***Leptinotarsa decemlineata*'nın üretilmesi**

Patates Araştırma İstasyonu Müdürlüğü (Niğde) çalışanları tarafından 10.05.2014 tarihinde Niğde'de patates bitkileri üzerinden toplanan ergin bireylerle 13.05.2014 tarihinde laboratuvarında oluşturulan stok kültürün devam etmesi sağlanmıştır. Böcek üretimi için 43x75x65 cm boyutlarında, ön ve yan taraflarında birer adet 18 cm çapında organze naylon kaplı havalandırma delikleri olan ahşap iskeletli cam kafesler kullanılmıştır. Bu kafeslerin içerisine böceklerin beslenmesi ve yumurta bırakması için, plastik saksı içinde bulunan, 18-20 cm boyundaki, yaklaşık 8-10 yapraklı patates bitkileri konulmuştur. *L. decemlineata* bu bitkiler üzerine alınarak beslenmeye bırakılmıştır. Stok kültürde kullanılan bitkilerin besin değerini kaybetmeye başlamasıyla bu bitkiler üzerindeki böcekler, henüz daha genç yeni bir bitki üzerine elle toplanarak aktarılmıştır. İklim odasında üretimine başlanan *L. decemlineata* dişilerinden alınan yumurtalar, ahşap iskeletli cam kafeslerden birinin içerisindeki bitkiler üzerine yerleştirilmiştir. Bu yumurtalardan çıkan larvalar dördüncü döneme geldiklerinde beslendikleri bitkinin bulunduğu saksı içerisindeki toprakta pupa olmaktadır. Erginlerin çıkışı başladığında, bu ergin böcekler toplanarak yeni bir kafese aktarılmıştır.

Endofitik bakterilerin çoğaltılması

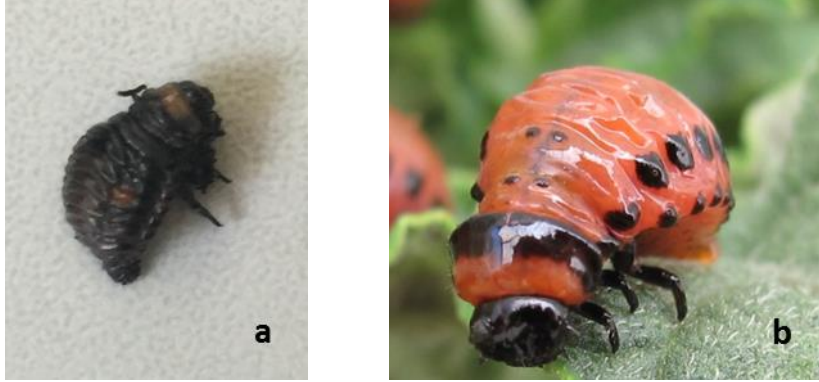
Söz konusu EB izolatları -80C'de derin dondurucudan alınarak King B besiyerine çizgi ekimle ekilmiş ve 24-48 saat süreyle 24°C'de inkubatörde gelişmeleri sağlanmıştır. Gelişmesini tamamlayan EB kültürlerinden Tween 20 (%0,1) içeren steril suda süspansiyonları hazırlanarak yoğunlukları spektrofotometrede OD_{600nm}: 0.1, 10⁹ cfu/ml yoğunluğuna ayarlanmıştır (Özaktan ve ark., 2015b).

Endofitik bakterilerin *L. decemlineata*'ya entomopatojenik aktivitesinin testlenmesi

Bu testler *in vitro* koşullarda petri kabında gerçekleştirilmiştir. Birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü dönem *L. decemlineata* larvaları 16 saat süreyle aç bırakıldıktan sonra, 30 dakika süreyle EB süspansiyonu (10⁹ cfu/ml yoğunluğunda) emdirilmiş steril kurutma kağıtlı petrilere yerleştirilmiştir. Larvaların bakteriyle beslendiğinin kanıtı olarak abdomeninin şişmesi dikkate alınmıştır. Daha sonra, steril kurutma kağıdı içeren petri kapları içine EB süspansiyonuna daldırılmış taze patates yaprakları yerleştirilmiş ve bu larvalar da yaprakların üzerine konularak gelişimleri izlenmiştir. Denemelerde pozitif kontrol olarak sadece steril su ile uyulama görmüş larva ve patates yaprakları, negatif kontrol olarak ise steril su ile uygulama görmüş ve larva yerleştirilmemiş patates yaprakları kullanılmıştır. Denemede EB izolatlarının *L. decemlineata* larvalarına etkililiğini karşılaştırmak amacıyla, ticari bir *Bt* preparatının önerilen dozuna (100 g/100 l su) yer verilmiştir. Bu testler 5 tekerrürlü ve tesadüf parselleri deneme desenine göre, her tekerrürde (petri kabı) 1 larva olacak şekilde laboratuvar koşullarında, oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir (Otsu ve ark., 2003). Testler iki kez yinelenmiştir. Larvalardaki sekizinci günde ölümle sonuçlanan renk değişimi ve vücutta yumuşama gibi

Leptinotarsa decemlineata'nın biyolojik mücadelesinde bakteriyel endofitlerin kullanılması

belirtiler (Şekil 1a) dikkate alınarak ölüm oranı (%) saptanmıştır. Bu belirtilerin gözlenmediği bireyler ise sağlıklı olarak değerlendirilmiştir (Şekil 1b).



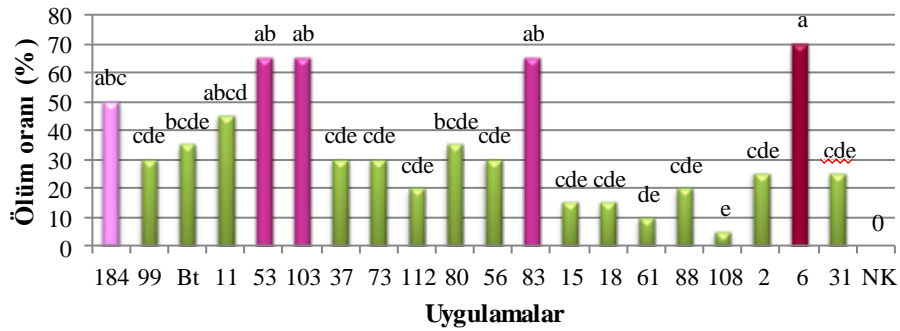
Şekil 1. a. Dördüncü dönem larvada gözlenen renk değişimi **b.** Sağlıklı birey
Figure 1. a. Color change observed in a deceased fourth instar larva **b.** Healthy individual

Verilerin analizi

Uygulamalar arasındaki fark varyans analizi ile test edilmiştir. DUNCAN çoklu karşılaştırma testi ile gruplandırmalar yapılmıştır. İstatistiksel analizler SPSS istatistik analiz paket programı (IBM SPSS Statistics 24.0) kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular ve tartışma

Çalışmada *L. decemlineata*'nın 4 farklı larva dönemine karşı etkililiği testlenen 20 EB izolatının koparılmış yaprak testinden elde edilen toplu ölüm oranları Şekil 2'de görülmektedir.

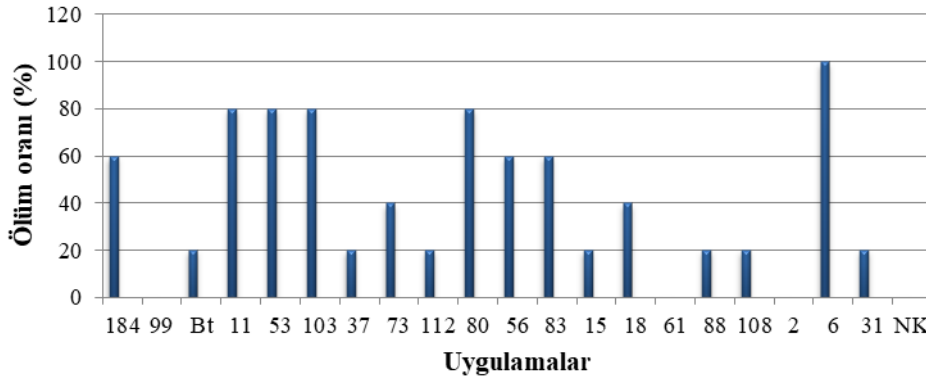


Şekil 2. Endofitik bakteri uygulaması sonrasında *L. decemlineata*'nın tüm larva dönemlerinde meydana gelen ortalama ölüm oranları (%).

Figure 2. The mean mortality percentages (%) for all larval stages of *L. decemlineata* after the application of endophytic bacteria.

L. decemlineata'nın 4 farklı larva dönemine karşı etkililiği testlenen 20 EB izolatından % 50 ve üzerinde ölüme neden olan bakterilere bakıldığında, 6 numaralı izolatın ortalama % 70 ile en etkili olduğu görülmektedir. Bunu sırasıyla 53, 83 ve 103 numaralı izolatlar ortalama % 65 ölüm oranı ile izlemiştir. Enfekteli patates böceği larvasından izole edilen 184 numaralı izolatta ise ortalama % 50 ölüm oranı görülmüştür. Denemede karşılaştırma preparatı olarak yer alan ticari *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki* (*Bt*) preparatında ise toplu ölüm oranı %35 olarak saptanmıştır.

Endofitik bakteri uygulamalarının *L. decemlineata*'nın farklı larva dönemlerine etkililiği de ayrıca değerlendirilmiştir. Birinci larva döneminde meydana gelen ölüm oranları Şekil 3'te görülmektedir.



Şekil 3. Endofitik bakteri uygulamaları sonrasında *L. decemlineata*'nın I. larva döneminde meydana gelen ölüm oranları (%).

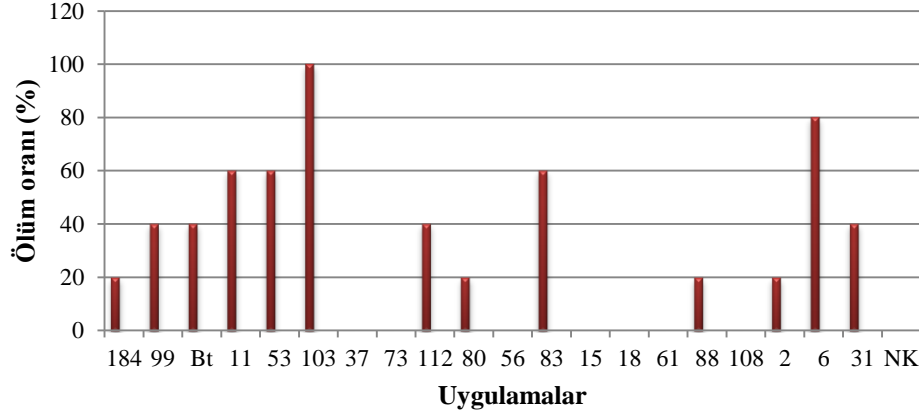
Figure 3. Mean mortality percentages (%) of *L. decemlineata* during the first larval stage after the application of endophytic bacteria.

Birinci dönem larvalarında en yüksek ölüm oranı 6 numaralı izolatta ortalama % 100 olarak saptanmıştır. Bunu ortalama % 80 ölüm oranıyla 11, 53, 103 ve 80 numaralı izolatlar izlemiştir. 184, 56 ve 83 numaralı izolatlar birinci dönem larvalarının ortalama % 60'ında ölüme neden olmuştur. Çalışmada referans biyopreparat olarak testlenen ticari *Bt* preparatında ortalama ölüm oranı % 20 olarak kaydedilmiştir. Ayrıca I. larva döneminde 99, 61, 2 numaralı izolatlarda ve negatif kontrolde ölüm görülmemiştir.

Testlenen EB izolatlarının İkinci larva dönemindeki *L. decemlineata* bireylerine etkisi değerlendirildiğinde; en etkili EB izolatının % 100 ölüm oranı ile 103 numaralı izolat olduğu dikkati çekmektedir, bunu ortalama % 80 ölüm oranı ile 6 numaralı izolatın izlediği görülmektedir. Ortalama % 60 ölüm oranı ise 11, 53 ve 83 numaralı izolatlarla kaydedilmiştir. Ticari *Bt* preparatı ise II. dönem larvalarının ortalama % 40'ında ölüme neden olmuştur. Bunun yanı sıra II. larva döneminde

Leptinotarsa decemlineata'nın biyolojik mücadelesinde bakteriyel endofitlerin kullanılması

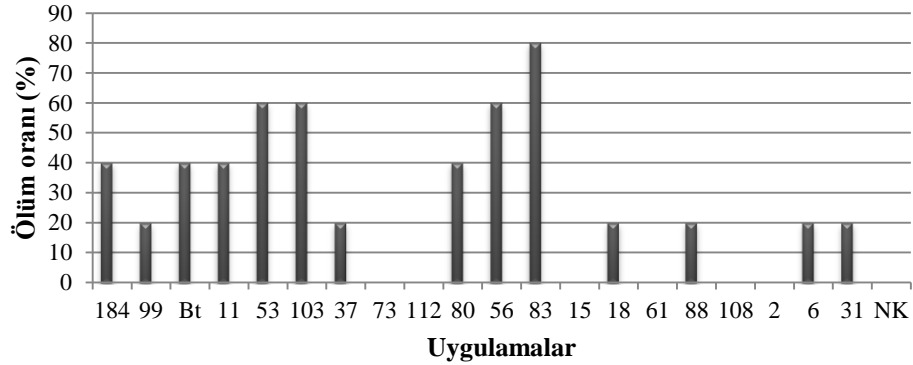
37, 73, 56, 15, 18, 61, 108 numaralı izolatlarda ve negatif kontrolde ölüm saptanmamıştır (Şekil 4).



Şekil 4. Endofitik bakteri uygulamaları sonrasında *L. decemlineata*'nın II. larva döneminde meydana gelen ölüm oranları (%).

Figure 4. Mean mortality percentages (%) in the second larval stage of *L. decemlineata* after the application of endophytic bacteria.

L. decemlineata'nın III. larva dönemine karşı etkililiği testlenen 20 EB izolatının koparılmış yaprak testinden elde edilen ölüm oranları Şekil 5'de görülmektedir. En yüksek ölüm oranı 83 numaralı izolatta ortalama % 80 olarak kaydedilmiştir. Bunu ortalama % 60 ile 53, 103 ve 56 numaralı izolatlara izlemiştir.

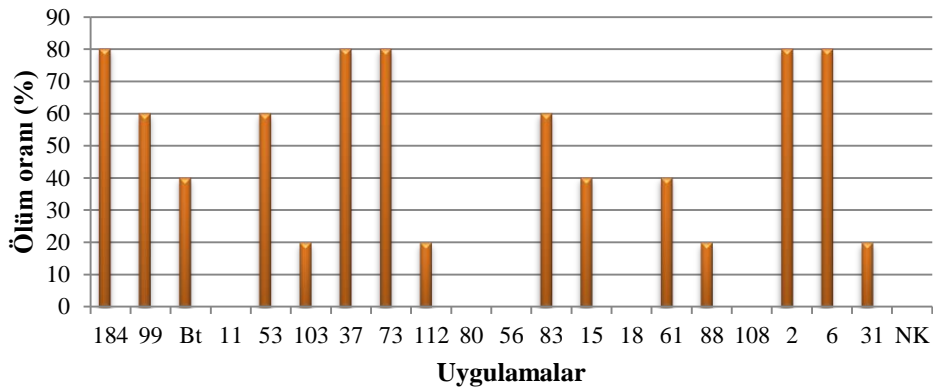


Şekil 5. Endofitik bakteri uygulamaları sonrasında *L. decemlineata*'nın III. Larva döneminde meydana gelen ölüm oranları (%).

Figure 5. Mean mortality percentages (%) in the third larval stage of *L. decemlineata* after the application of endophytic bacteria.

Ticari *Bt* preparatı ise III. dönem larvalarının ortalama % 40'ında ölüme neden olmuştur. Ayrıca III. larva döneminde 73, 112, 15, 108, 2 numaralı izolatlarda ve negatif kontrolde ölüm gözlenmemiştir.

L. decemlineata'nın IV. larva döneminde en yüksek ölüm oranı ortalama % 80 ile 184, 37, 73, 2 ve 6 numaralı izolatlarda görülmektedir. Bunu sırasıyla 99, 53 ve 83 numaralı izolatlar ortalama % 60 ile izlemektedir. Ticari *Bt* preparatı ise IV. dönem larvalarının ortalama % 40'ında ölüme neden olmuştur. Bunun yanı sıra IV. larva döneminde 11, 80, 56, 18, 108 numaralı izolatlarda ve negatif kontrolde ölüm görülmemiştir (Şekil 6).



Şekil 6. Endofitik bakteri uygulamaları sonrasında *L. decemlineata*'nın IV. Larva döneminde meydana gelen ölüm oranları (%).

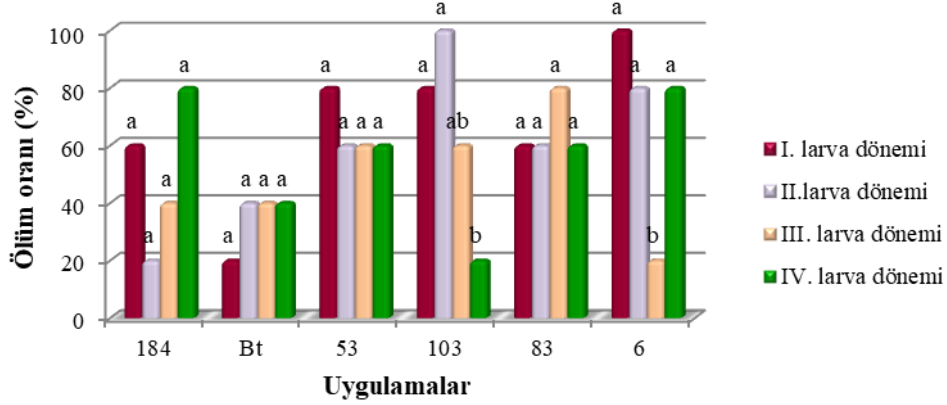
Figure 6. Mean mortality percentages (%) in the fourth larval stage of *L. decemlineata* after the application of endophytic bacteria.

Ayrıca testlenen 20 EB izolatu arasından *L. decemlineata*'nın tüm larva dönemlerinde % 50 ve üzerinde ölüm oranı saptanan 5 izolat seçilerek, ticari *Bt* preparatı ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir (Şekil 7).

Tüm larva dönemleri açısından % 50'nin üzerinde ölüme neden olan etkili EB izolatlarının 53 numaralı *Pseudomonas lutea* ve 83 numaralı *Pantoea agglomerans* olduğu dikkati çekmektedir. Bu izolatları 6, 103 ve 184 numaralı EB izolatları izlemiştir. *Bt* preparatında ise ortalama % 40 ve altında etki saptanmıştır.

Yirmi EB izolatu arasından seçilen en etkili 5 EB izolatu ticari *Bt* preparatından daha başarılı bulunmuştur. Toplam ölüm oranı açısından en etkili izolatın 6 numaralı Gram (-) bir EB izolatu olduğu dikkati çekmiştir. Ancak, bu izolatın moleküler tanısı henüz gerçekleştirilmemiştir.

Leptinotarsa decemlineata'nın biyolojik mücadelesinde bakteriyel endofitlerin kullanılması



Şekil 7. Beş endofitik bakteri ve *Bt* uygulamalarının *L. decemlineata*'nın farklı larva dönemlerinde ortalama ölüm oranları açısından karşılaştırılması.

Figure 7. Comparison of the treatments of five endophytic bacteria and *Bt* that caused the highest mean mortality percentage on different larval stages of *L. decemlineata*.

Enfekteli böcekten izole edilen 184 no.lu *Pseudomonas fluorescens* izolatının tüm larva dönemlerinde ölüme neden olması, entomopatojenik bir izolat olduğunu göstermiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda *P. fluorescens*'in farklı böcek gruplarında insektisidal etkisinin olduğu belirtilmektedir (Castrillo ve ark., 2000, Sevim ve ark., 2012).

Testlenen 19 EB izolatı bakteriyoloji laboratuvarı stoklarından seçilmiştir. Bu izolatlar sağlıklı hıyar bitkilerinin içsel dokularından izole edilen endofitik bakterilerdir. Testlendikleri farklı konukçu patojen sistemlerinde kabakgillerdeki bazı önemli bitki patojenlerine karşı etkili bulunmuşlardır. Çalışmada *L. decemlineata* larvalarına karşı ortalama % 65 ölüm oranına neden olan 83 numaralı izolatın moleküler tanısı *P. agglomerans* olarak saptanmıştır (Özaktan ve ark. 2015a; 2015b). *P. agglomerans*'ın da insektisidal aktivitesi daha önce bazı çalışmalarda da gösterilmiştir (Bahar & Demirbağ, 2007. Üstelik bu izolatın hıyarda *Fusarium solgunluğuna* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*) ve bakteriyel köşeli leke hastalığına (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*) karşı etkili olduğunun bilinmesi ve bitki gelişimini arttırıcı özelliklerinin olması (Akat 2015; Özaktan ve ark. 2015a; 2015b; Akbaba 2014; Fakhraei 2015), hastalık ve zararlılara karşı biyolojik savaş çalışmalarında kullanılabilme potansiyelleri açısından önemlidir.

53 numaralı *Pseudomonas lutea* izolatı karpuzda karantina etmeni bir bakteri olan karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığı etmeni *Acidovorax citrulli*'ye etkili bulunan bir endofitik bakteridir (Ceyhan, 2016). Çalışmada insektisidal aktivitesi saptanan *P. lutea*'nın biyokontrol özellikleri çok iyi bilinmemekle birlikte, fosfat çözme nedeniyle bitki gelişimini arttırmada yararlı bir bakteri türü olarak bilinmektedir (Peix ve ark., 2004). Bu ve daha önceki çalışmalarda biyolojik

mücadele potansiyelinin saptanması ve bitki gelişimini arttırma konusunda yararlı bir bakteri olduğunun bilinmesi entegre mücadele programlarında bu yeni bakteriye yer verilebileceğini düşündürmektedir.

Bu kapsamda; Patates böceği larvalarına karşı etkili bulunan ve patates bitkisinin gelişmesine olumlu etkileri olan EB izolatlarının saptanması, bu zararlıyla biyolojik mücadele için olumlu bir alternatif yaklaşım olacaktır. Bu zararlıya karşı ticari anlamda kullanılan *Bt* preparatları bulunmakla birlikte, test edilecek EB izolatlarının bu preparata yakın ya da daha yüksek etki göstermesi biyolojik mücadele açısından çalışmanın en önemli yararı olacaktır.

Kaynaklar

- Akat Ş. 2015. Endofitik bakterilerin hıyar bitkilerinde kolonizasyonunun ve bitki gelişimine etkisinin araştırılması, E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek lisans tezi, Bornova-İzmir, 91s.
- Akbaba M. 2014. Bitki gelişimini arttıran bakteriyel endofitlerin hıyar bakteriyel köşeli yaprak leke hastalığının (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*) önlenmesinde kullanıma olanakları, E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek lisans tezi, Bornova-İzmir, 119s.
- Amerasan N., V. Jayakumar, K. Kumar & N.Thajuddin 2012. Endophytic bacteria from tomato and chilli, their diversity and antagonistic potential against *Ralstonia solanacearum*. *Archives of Journal of phytopathology and Plant Protection*, 45(3),344-355.
- Andreote F.D., W.L. Araujo, J.L. Azevedo, J.D. Elsas, U.N. Rocha & L.S. Overbeek 2009. Endophytic Colonization of Potato (*Solanum tuberosum* L.) by a Novel Competent Bacterial Endophyte, *Pseudomonas putida* Strain P9, and Its Effect on Associated Bacterial Communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 3396-3406.
- Anil K. & A.R. Podile 2011. HarpinPss–mediated enhancement in growth and biological control of late leaf spot in groundnut by a chlorothalonil- tolerant *Bacillus thuringiensis* SFC24. *Microbiological Research*, 167, 194-198.
- Anonymous 2008. Zirai Mücadele Teknik Talimatları, Cilt III (Sebze Hastalıkları, Sebze Zararlıları, Depolanmış Soğan ve Patateslerdeki Filizlenmeler), Tarım ve Köyüşleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü. Ankara, 332.
- Anonymous 2012. Food and Agriculture Organization Statistics Division. <http://faostat.fao.org>
- Armada E., R. Azcon, O. Lopez-Castillo, M. Calvo-Polanco & J. Ruiz-Lozano 2015. Autochthonous arbuscular mycorrhizal fungi and *Bacillus thuringiensis* from a degraded Mediterranean area can be used to improve physiological traits and performance of a plant of agronomic interest under drought conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 90, 64-74.
- Azevedo J.L., Jr.W. Maccheroni, J.O. Pereira & W. Luiz de Araújo 2000. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electronic Journal of Biotechnology*, 3(1), 40-65.
- Bahar A. A. and Demirbağ Z. 2007. Isolation of pathogenic bacteria from *Oberea linearis* (Coleoptera: Cerambycidae). *Biologia, Bratislava*, 62/1: 13—18.

Leptinotarsa decemlineata 'nın biyolojik mücadelesinde bakteriyel endofitlerin kullanılması

- Bakker P.A.H.M., J.M. Raaijmakers, G.V.Bloemberg, M. Hofte, P. Lemanceau & M. Cooke 2007. New perspectives and approaches in plant growth-promoting rhizobacteria research. *European Journal of Plant Pathology*, 119, 241–242
- Bargabus R.L., N.K. Zidack, J.E. Sherwood & B.J. Jacobsen 2002. Characterization of systemic resistance in sugar beet elicited by a non-pathogenic, phylosphere-colonizing *Bacillus mycoides*, biological control agents. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 61, 289–298. <http://doi.org/10.1080/09583150410001683538>
- Bargabus R.L., N.K. Zidack, J.E. Sherwood & B.J. Jacobsen 2004. Screening for the identification of potential biological control agents that induce systemic acquired resistance in sugar beet. *Biological Control*, 30, 342–350.
- Barka A.E., S. Gognies, J. Nowak, J.C. Audran & A. Belarbi 2002. Inhibitory effect of endophyte bacteria on *Botrytis cinerea* and its influence to promote the grapevine growth. *Biological Control*, 24(2), 135–142. [http://doi.org/10.1016/S1049-9644\(02\)00034-8](http://doi.org/10.1016/S1049-9644(02)00034-8)
- Bell C.R., D G.A. ickie, W.L.G. Harvey & J.W.Y.F. Chan 1995. Endophytic bacteria in grapevine. *Canadian Journal of Microbiology*, 41, 46–53.
- Cantwell G.E. & W.W. Cantelo 1981. *Bacillus thuringiensis* a Potential Control Agent for the Colorado Potato Beetle. *American Journal of Potato Research*, 58, 457–468.
- Castrillo L.A., R.E.JR. Lee, M. R. Lee, & S.T. Rutherford 2000. Identification of Ice-Nucleating Active *Pseudomonas fluorescens* Strains for Biological Control of Overwintering Colorado Potato Beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) *Journal of Economical Entomology*, 93(2): 226–233.
- Ceyhan B. 2016. Karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığı etmeni *Acidovorax citrulli*'nin moleküler tanısı ve endofitik bakterilerle önlenme olanaklarının araştırılması. Yüksek lisans tezi, Bornova-İzmir, 83s.
- Compant, S., B. Duffy, J. Nowak, C. Clément, & E.A. Barka 2005a. Use of plant growth-promoting bacteria for the control of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 4951–4959.
- Compant S., B. Reiter, A. Sessitsch, J. Nowak, C. Clément, & E. Ait Barka 2005b. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 1685–1693.
- Coombs J.T., P.P. Michelsen & C.M.M. Franco 2004. Evaluation of endophytic actinobacteria as antagonists of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in wheat. *Biological Control*, 29, 359–366.
- Gray E.J. & D.L. Smith 2005. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 395–412.
- Fakhraei D. 2015. Endofitik bakterilerin hıyar bitkilerinde dayanıklılığı uyarma yoluyla *Fusarium solgunluğuna* etkisinin araştırılması, Doktora tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova-İzmir, 135s.
- Hallmann J., Quadt H.A., R. Rodriguez & J.W. Kloepper 1998. Interactions between *Meloidogyne incognita* and endophytic bacteria in cotton and cucumber. *Soil Biology and Biochemistry*, 30, 925–937.
- Hallmann J., A. Quadt-Hallman, W.F. Mahafee & J.W. Kloepper 1997. Bacterial endophytes in agricultural crop. *Canadian Journal of Microbiology*, 43, 37–42.

- Has A. 1992. Orta Anadolu Bölgesi Koşullarında Patates Böceği (*Leptinotarsa decemlineata*)'nin Biyo Ökolojisi ve Özellikle Konukçu Bitki İlişkileri Üzerinde Araştırmalar, Ankara Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü, İstanbul, 194.
- Jha P.N. & A. Kumar 2007. Endophytic colonization of *Typha australis* by a plant growth-promoting bacterium *Klebsiella oxytoca* strain GR-3. *Journal of Applied Microbiology.*, 103(4), 1311–20. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03383.x>
- Kang S.H, H.S Cho, H Cheong, C.M Ryu, & ark. 2007. Two bacterial endophytes eliciting both plant growth promotion and plant defense on pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17, 96-103.
- Kloepper J.W., R. Rodriguez-Ubana, G.W. Zehnder, J.F. Murphy, E. Sikora & C. Fernandez 1999. Plant root-bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. *Australasian Plant Pathology Journal*, 28, 21–26.
- Kloepper J.W., C.M. Ryu & S. Zhang 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Journal of Phytopathology*, 94,1259-1266.
- Lanna-Filho R., S R.M. ouza, M.M. Magalhães, L. Villela, E. Zanotto, P.M. Ribeiro-Júnior & M.L.V. Resende 2013. Induced defense responses in tomato against bacterial spot by proteins synthesized by endophytic bacteria. *Tropical Plant Pathology Journal*, 38 (4).
- Lee S., M. Flores-Encarnación, M. Contreras-Zentella, L. Garcia-Flores, J.E. Escamilla & C. Kennedy 2004. Indole-3-acetic acid biosynthesis is deficient in *Gluconacetobacter diazotrophicus* strains with mutations in cytochrome c biogenesis genes. *Journal of Bacteriology*, 186, 5384-539.
- Lilley A.K., J.C. Fry, M.J. Bailey & M.J. Day 1996. Comparison of aerobic heterotrophic taxa isolated from four root domains of mature sugar beet (*Beta vulgaris*). *FEMS Microbiology Ecology Journal*, 21, 231–242.
- Liu X.Y., L.F. Ruan, Z.F. Hu, D.H. Peng, S.Y. Cao, Z.N. Yu, & M. Sun 2010. Genome-wide Screening Reveals the Genetic Determinants of an Antibiotic Insecticide in *Bacillus thuringiensis*. *The Journal of Biological Chemistry*, 285(50), 39191–39200. <http://doi.org/10.1074/jbc.M110.148387>
- Lodewyckx C., J. Vangronsfeld, R. Porteous, E.R.B. Moore, S.Taghavi, M. Mergeay & D. van der Lelie 2002. Endophytic bacteria and their potential applications. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21, 583-606.
- Malinowski D.P. & D.P. Belesky 2000. Adaptations of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: Mechanisms of drought and mineral stress tolerance. *Crop Science*, 40, 923–940.
- Martínez L., J. Caballero, J. Orozco, & E Martínez-Romero, 2003. Diazotrophic bacteria associated with banana (*Musa* spp.). *Plant and Soil*, 257, 35-47.
- Mishra S., S. Srivastava, R.D. Tripathi, R. Govindarajan, S.V. Kuriakose, & M.N.V. Prasad 2006. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monniera*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 44, 25-37
- Munif A., J. Halman & R. Sikora 2012. Isolation of endophytic bacteria from tomato and their biocontrol activities against fungal diseases. *Microbiology Indonesia*, 6(4), 148-156.
- Muratoğlu H., Z. Demirbağ, & K. Sezen 2011. An entomopathogenic bacterium, *Pseudomonas putida*, from *Leptinotarsa decemlineata*. *Turkish Journal of Biology*, 35, 275-282

Leptinotarsa decemlineata'nın biyolojik mücadelesinde bakteriyel endofitlerin kullanılması

- Muratoğlu H., H. Kati, Z. Demirbag, & K. Sezen 2009. High insecticidal activity of *Leclercia adecarboxylata* isolated from *Leptinotarsa decemlineata* (Col.: Chrysomelidae). *African Journal of Biotechnology*, 8(24), 7111-7115.
- Muthukumar A., R. Bhaskaran & K. Sanjeevkumar 2010. Efficacy of endophytic *Pseudomonas fluorescens* (Trevisan) migula against chilli damping-off. *Journal of Biopesticides*, 3 (1), 105-109.
- Otsu Y., Y. Matsuda, H. Shimizu, H. Ueki, H. Mori, K. Fujiwara, T. Nakajima, A. Miwa, T. Nonomura, S. Sakuratani, Y. Tosa, S. Mayama & H. Toyoda 2003. Biological control of phytophagous ladybird beetles *Epilachna vigintioctopunctata* (Coleoptera: Coccinellidae) by chitinolytic phylloplane bacteria *Alcaligenes paradoxus* entrapped in alginate beads. *Journal of Applied Entomology*, 127, 441-446.
- Özaktan H., A. Gül, B. Çakır, L.Yolageldi, A. Akköprü, M. Akbaba & G. Eryiğit 2015a. Bakteriyel Endofitlerin Hıyar Yetiştiriciliğinde Biyogübre ve Biyopestisit Olarak Kullanılma Olanakları. Tubitak - COST 1110505 (Kesin raporu).
- Özaktan H., B. Çakır, A. Gül, L.Yolageldi & A. Akköprü 2015b. Isolation and evaluation of endophytic bacteria against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* infecting cucumber plants, *Austin Journal of Plant Biology*, 1(1): 1003-1006.
- Peix A., I. Santa-regina & PF. Mateos 2017. *Pseudomonas lutea* sp . nov ., a novel phosphate-solubilizing bacterium isolated from the rhizosphere of grasses. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, 847-850, doi: 10.1099/ij.s.0.02966-0.
- Pirttilä A., P. Joensuu, H. Pospiech & J. Jalonen 2004. A bud endophytes of Scots pine produce adenine derivatives and other compounds that affect morphology and mitigate browning of callus cultures. *Physiologia Plantarum*, 121, 305-312.
- Ramesh R. & G.S. Phadke 2012. Rhizosphere and endophytic bacteria for the suppression of eggplant wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. *Crop Protection*, 37, 35-41.
- Selvakumar G., S. Kundu, J. Piyush, N. Sehar, A. Gupta, P. Mishra & H. Gupta, 2008. Characterization of a cold-tolerant plant growth-promoting bacterium *Pantoea dispersa* 1A isolated from a sub-alpine soil in the North Western Indian Himalayas. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 955-960.
- Senthil-Kumar M., G. Govind, L. Kang, K. S. Mysore & M.Udayakumar 2007. Functional characterization of *Nicotiana benthamiana* homologs of peanut water deficit-induced genes by virus-induced gene silencing. *Planta*, 225, 523-539 10.1007/s00425-006-0367-0.
- Sevim A., , C. Gökçe, Z. Erbaş, & F. Özkan 2012. Bacteria from *Ips sexdentatus* (Coleoptera: Curculionidae) and their biocontrol potential. *Journal of Basic Microbiology*: 52, 695-704
- Sgro V., F. Cassan, O. Masciarelli, M.F Del Papa, A. Lagares & V. Luna 2009. Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting (PGPB) or stress homeostasis-regulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte *Prosopis strombulifera*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85, 371-381.
- Siddiqui Z.A 2006. Prospective Biocontrol Agents of Plant Pathogens. PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Editör: Zaki, A. Siddiqui, The Netherlands: Springer, 111-142 pp.
- Spaepen S., S. Dobbelaere, A. Croonenborghs & J. Vanderleyden 2008. Effects of *Azospirillum brasilense* indole-3-acetic acid production on inoculated wheat plants. *Plant and Soil*, 312:15-23.

- Sullivan J.J, P.A Williams, & S.M Timmins 2007. Secondary forest succession differs through naturalised gorse and native kānuka near Wellington and Nelson. *New Zealand Journal of Ecology*, 31, 22–38.
- Tunaz, H. & M. Küsek 2015. Mortality effects of eicosanoid biosynthesis inhibitors on *Spodoptera littoralis* larvae co-injected with the bacteria, *Serratia marcescens*. *Türk. Ent. Derg.* 39:121-127.
- Tüik 2012. Türkiye istatistik kurumu. <http://www.tuik.gov.tr>
- Verma S.C., J.K. Ladha & A.K. Tripathi 2001. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *Journal of Biotechnology*, 91, 127-141.
- Wakelin S.A., R.A. Warren, P.R. Harvey & M.H. Ryder 2004. Phosphate solubilization by *Penicillium* sp. closely associated with wheat roots. *Biology and Fertility of Soils*, 40, 36-43.
- Yan G., F. Song, C. Shu, J. Liu, C. Liu, D. Huang & J. Zhang 2009. An engineered *Bacillus thuringiensis* strain with insecticidal activity against Scarabaeidae (*Anomala corpulenta*) and Chrysomelidae (*Leptinotarsa decemlineata* and *Colaphellus bowringi*). *Biotechnology Letters*, 31:697–703.