

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**ANTALYA’NIN BAZI İLÇELERİNDEN TOPLANAN *Tuta absoluta* Meyrick
(LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE) POPÜLASYONLARINDA *Wolbachia*
sp.’NİN REAL-TİME PCR İLE TESPİTİ**

Dilşan BOYLU

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EKİM 2024

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**ANTALYA’NIN BAZI İLÇELERİNDEN TOPLANAN *Tuta absoluta* Meyrick
(LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE) POPÜLASYONLARINDA *Wolbachia*
sp.’NİN REAL-TİME PCR İLE TESPİTİ**

Dilşan BOYLU

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EKİM 2024

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANTALYA’NIN BAZI İLÇELERİNDEN TOPLANAN *Tuta absoluta* Meyrick
(LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE) POPÜLASYONLARINDA *Wolbachia*
sp.’NİN REAL-TİME PCR İLE TESPİTİ

Dilşan BOYLU
BİTKİ KORUMA
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

EKİM 2024

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANTALYA’NIN BAZI İLÇELERİNDEN TOPLANAN *Tuta absoluta* Meyrick
(LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE) POPÜLASYONLARINDA *Wolbachia*
sp.’NİN REAL-TİME PCR İLE TESPİTİ

Dilşan BOYLU
BİTKİ KORUMA
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 21/10/2024 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Cengiz İKTEN
Prof. Dr. Zübeyir DEVRAN
Prof. Dr. Erhan KOÇAK

ÖZET

ANTALYA’NIN BAZI İLÇELERİNDEN TOPLANAN *Tuta absoluta* Meyrick (LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE) POPÜLASYONLARINDA *Wolbachia* sp.’NİN REAL-TİME PCR İLE TESPİTİ

Dilşan BOYLU

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Cengiz İKTEN

Ekim 2024; 32 Sayfa

Domates güvesi, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) domatesin ekonomik açıdan önemli bir zararlısıdır. Bu zararlı, çok çeşitli eklembacaklılarda bulunan sitoplazmik olarak aktarılan *Wolbachia* bakterisini barındırmaktadır. Bu çalışmada, domates güvesinin farklı gelişim aşamalarındaki *Wolbachia* enfeksiyon dinamiklerini incelemek amacıyla kantitatif gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) testleri gerçekleştirilmiştir. qRT-PCR için *Wolbachia* *ftsZ* genini hedefleyen FAM etiketli TaqMan probu kullanılırken, konukçu gen miktarı normalizasyonu için *Tuta absoluta* *Aktin* genini hedefleyen HEX etiketli TaqMan probu kullanılmıştır. Larva örnekleri, 2021 yaz sezonunda Antalya’da yetiştirilen domates seralarından toplanmıştır. Bazı larva örnekleri laboratuvar koşullarında belirli bir yaşa kadar büyütülmüştür. Her yaşa özgü örneklerden total nükleik asit izolasyonu yapılmıştır, ardından optimizasyonu gerçekleştirilerek qRT-PCR testine tabi tutulmuştur. Her yaş evresine özgü en az 20 örnek test edilmiştir. Kantitatif olarak değişkenlik göstermekle birlikte, test edilen tüm domates güvesi örnekleri %100 *Wolbachia* enfeksiyonu göstermiştir. TaqMan probu yöntemi kullanılarak, zararlının gelişim aşamaları arasında *Wolbachia* yoğunluklarında önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Genel olarak, ilk larva aşaması en düşük *Wolbachia* sinyal seviyesini gösterirken, dördüncü larva gelişim aşamasına doğru sinyal seviyesi giderek artmıştır. *Wolbachia* miktarı, pupa evresinde larva evresine göre daha yüksek bulunmuş, ancak ergin evresinden biraz daha düşük seviyede tespit edilmiştir. Pupa evresinde 1, 3, 6 ve 9 günlük pupalar arasında herhangi bir fark bulunmamıştır. Benzer şekilde, *Wolbachia* miktarının 1, 3, 6 ve 9 günlük erginler arasında farklılık göstermediği gözlemlenmiştir. Antalya’nın farklı ilçelerinden toplanan dördüncü dönem larva örneklerinin *Wolbachia* yoğunlukları qRT-PCR ile analiz edilmiştir. Sonuç olarak en fazla *Wolbachia* yoğunluğu Kepez ilçesinde, en düşük ise Finike’de tespit edilmiştir. Larvaların farklı vücut bölgeleri incelendiğinde, *Wolbachia* yoğunluğunun en fazla abdomenin 3-6. segmentlerinde olduğu, bunu toraks segmentleri, baş ve abdomenin son segmentinin izlediği görülmüştür. Ergin döneminde ise en fazla *Wolbachia* yoğunluğu baş kısmında bulunmuş, bunu toraks segmentleri ve abdomen takip etmiştir. Kanatlar ve bacaklarda ise en düşük yoğunluk gözlemlenmiştir. Sonuçlar, zararlının gelişim evreleri ve vücut bölümleri arasında *Wolbachia* yoğunluğunda anlamlı farklılıklar olduğunu göstermiştir. qRT-PCR analizi, konukçu-endosimbiont dinamiği etkileşimi açısından etkinliği ve uygulanabilirliği bakımından değerlendirilmiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: Endosimbiont, Real-Time PCR, *Tuta absoluta*, *Wolbachia* sp.

JÜRİ: Doç. Dr. Cengiz İKTEN

Prof. Dr. Zübeyir DEVRAN

Prof. Dr. Erhan KOÇAK



ABSTRACT

DETECTION OF *Wolbachia* sp. in *Tuta absoluta* Meyrick (LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE) POPULATIONS COLLECTED FROM SOME DISTRICTS OF ANTALYA USING REAL-TIME PCR

Dilşan BOYLU

MSc Thesis in Plant Protection

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Cengiz İKTEN

October 2024; 32 pages

The tomato pinworm, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), commonly known as the tomato leafminer, is an economically important pest of tomato. This pest harbors cytoplasmically transmitted *Wolbachia* bacteria, which is found in the arthropods. In this study, we developed a quantitative real-time PCR (qRT-PCR) assay to screen the dynamics of *Wolbachia* infections across different developmental stages of tomato pinworm. A FAM-labeled TaqMan probe targeting the *Wolbachia* *ftsZ* gene was used for qRT-PCR, while a HEX-labeled TaqMan probe targeting the *Tuta absoluta*, *Aktin* gene was used for the host gene quantity. Larval samples were collected from tomato grown greenhouses in Antalya, during the 2021 summer season. Some larval samples were reared to specific age under the laboratory condition. Total nucleic acid was extracted from age-specific whole specimens and subjected to optimized qRT-PCR assay. Each age-specific stage was represented with at least 20 biological samples. Though quantitatively variable, all tested *Tuta absoluta* samples showed 100% infected with *Wolbachia*. Using TaqMan Prob assay, a significant difference in *Wolbachia* densities was detected among the developmental stages of the pest. Overall, the first larval stage showed the lowest *Wolbachia* signal level, with an increasing amount towards the fourth larval developmental stage. The amount of *Wolbachia* was found to be higher in the pupal stage compared to the larval stage, but slightly lower than in the adult stage. No differences were observed among the 1-, 3-, 6- and 9-day old pupae. Similarly, the *Wolbachia* amount seemed not to differ in 1-, 3-, 6- and 9-day old moths.

The *Wolbachia* densities in fourth-instar larvae collected from different districts of Antalya were analyzed using qRT-PCR. As a result, the highest *Wolbachia* density was detected in the Kepez district, while the lowest was observed in Finike district. Upon examining different body regions of the larvae, it was found that *Wolbachia* density was highest in abdominal segments 3-6, followed by the thoracic segments, the head, and the last segment of the abdomen. In the adult stage, the highest *Wolbachia* density was found in the head, followed by the thoracic segments and abdomen. The lowest density was observed in the wings and legs. The results indicated significant differences in *Wolbachia* density between developmental stages and body regions of the pest. The qRT-PCR

analysis was evaluated for its efficiency and applicability in studying the host-endosymbiont interaction dynamics.

KEYWORDS: Endosymbiont, Real-Time PCR, Tomato leaf miner, *Wolbachia* sp.

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Cengiz İKTEN

Prof. Dr. Zübeyir DEVRAN

Prof. Dr. Erhan KOÇAK



ÖNSÖZ

Yüksek Lisansım süresince bana verdiği değerli bilgiler, emekleri, maddi, manevi desteği ve engin tecrübelerinden faydalandığım aynı zamanda bilimsel çalışkanlığıyla ve duruşuyla ilham aldığım çok kıymetli danışman hocam Doç. Dr. Cengiz İKTEN'e şükranlarımı dile getirir sonsuz defa teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimim boyunca yardımını ve desteğini sürekli gördüğüm laboratuvar çalışmalarında bana farklı bilimsel bakış açıları kazanmamda katkı sağlayan Dr. Hilal Şule TOSUN'a çok teşekkür ederim.

Çalışmam boyunca bana yardımcı olan Viroloji laboratuvar ekibine, Mikoloji Laboratuvar ekibine, arazi çalışmalarında bana yardımcı olan Zir. Müh. Osman TOSUN'a, Zir. Yük. Müh. Muhammet Ali ÇİFTÇİOĞLU'na, Zir. Yük. Müh. Yusuf YÜKSEKYAYLA'ya, Zir. Yük. Müh. Tuğba EKER'e, Zir. Yük. Müh. Arda İNAK'a, Zir. Müh. Alican GÜRLÜ'ye, Domates ıslahçısı Zir. Müh. Gamze ÇİÇEK'e ve Musa KAYA amcama teşekkür ederim.

Yardımlarından dolayı Entomoloji Laboratuvarı ekip arkadaşlarım Dr. Payman EHSAS, Zir Müh. Merve AYGÜN, Zir. Müh. Ahmet Turhan İKTEN'e ve manevi desteklerini her daim hissettiğim arkadaşım Zir. Müh. Sümeyye GÜZEL'e ve AREO TOHUM Tarla Bitkileri Ürün Geliştirme Yöneticisi Zir. Yük. Müh. Rifat KEPİLDEK'e teşekkür ederim.

Domates fidesi temin etmem de yardımcı olan Zir. Yük. Müh. Ezgi İMREK ve Zir. Yük. Müh. Barış İMREK çiftine teşekkür ederim.

Hayatımın her anında maddi, manevi olarak, anlayış ve sevgisiyle benim her zorluğu aşabileceğim inancını bana hissettiren, bana her daim dayanak olan canım babam Süleyman BOYLU'ya, canım annem Nimet BOYLU'ya, kardeşlerim Can BOYLU'ya, Semanur BOYLU'ya, ablam Dilan EMİNOĞLU'na, eniştem Fırat EMİNOĞLU'na ve tatlı yeğenlerim Mila EMİNOĞLU'na ile Mehmet Sait EMİNOĞLU'na minnetlerimi sunar teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	6
3. MATERYAL VE METOT	11
3.1. Materyal.....	11
3.1.1. Örnekleme zamanı ve alanları	11
3.2. Metot	11
3.2.1. Zararlının Biyolojik Dönemlerine Göre Elde Edilmesi	11
3.3. Toplam Nükleik Asit İzolasyonu	12
3.4. Primerlerin ve Probların Tasarlanması.....	14
3.5. Real-Time PCR Optimizasyonu	15
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	17
5. SONUÇLAR	26
6. KAYNAKLAR	27
7. EKLER.....	32
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Antalya’nın Bazı İlçelerinden Toplanan *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) Popülasyonlarında *Wolbachia* sp.’nin Real-Time PCR ile Tespiti” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

21/10/2024

Dilşan BOYLU

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde oranı
°C	: Santigrat derece
bp	: Baz çifti
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
g	: Gram
kcal/g	: Kilokalori/gram
kg	: Kilogram
m	: Metre
M	: Molar
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
n	: Sayı
sn	: Saniye
µl	: Mikrolitre

Kısaltmalar

CI	: Sitoplazmik Uyumsuzluk
CTAB	: Cetly Trimethyl Amonyum Bromide
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksiribonükleotidtrifosfat
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
MK	: Erkek Öldürme
NaCl	: Sodyum klorür

PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	: Ribonükleik asit
rpm	: Rotation per minute-dakikadaki devir sayısı
rRNA	: Ribozomal RNA
sp.	: Taksonomide bir cinse ait türü ifade eder
T _m	: Primer bağlanma (annealing) sıcaklığı
Tris-HCl	: Tris (hydroxymethyl) aminomethane-klorür
Wsp	: <i>Wolbachia</i> yüzey proteini
LPA	: Linear Polyacrylamide

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Tuta absoluta</i> 'nin domates bitkisi ve meyvesinde oluşturduğu zarar şekli a) yapraktaki iki epidermis arasında oluşturduğu zarar şekli; b) olgunlaşmamış domates meyvesindeki zarar şekli; c) olgun domates meyvesindeki zarar şekli	3
Şekil 3.1. Araziden <i>Tuta absoluta</i> örneklerinin toplanması, a) <i>Tuta absoluta</i> ile bulaşık domates yaprak örneklerinin toplanması, b) örneklerin saf etanol ortamında eppendorf tüpe alınması, c) örneklerin konumlandırılarak sıralanması.....	11
Şekil 3.2. Mikroskop altında <i>T. absoluta</i> 'nın biyolojik dönemlerine göre ayrılması, a) ışık mikroskop altında görüntüleme; b) dördüncü dönem larva; c) pupa dönemi; d) ergin dönemi	12
Şekil 3.3. Toplam nükleik asit izolasyonu, a) CTAB+Merceptoetanol eklenmesi; b) Tissue Lyser ile örneklerin ezilmesi; c) DNA örneklerinin agaroz jele yüklenmesi; d) agaroz jel görüntüsü.....	14
Şekil 4.1. Agaroz jelde <i>Aktin</i> ve <i>ftsZ</i> genlerin görüntüsü, M1; 1kb plus DNA markör (Thermo Fisher Scientific), M2; 1kb DNA markör (Thermo Fisher Scientific), 1; <i>Aktin</i> PCR ürünü, 2; <i>ftsZ</i> PCR ürününün göstermektedir.	17
Şekil 4.2. <i>Wolbachia</i> yoğunluğunun zararlının larva dönemleri arasındaki stabilitesi ..	18
Şekil 4.3. <i>Wolbachia</i> yoğunluğunun pupa dönemlerindeki stabilitesi.....	19
Şekil 4.4. <i>Wolbachia</i> yükünün ergin dönemlerindeki stabilitesi	19
Şekil 4.5. <i>Wolbachia</i> yükünün <i>T. absoluta</i> 'nın biyolojik dönemindeki değişkenliği.....	20
Şekil 4.6. <i>T. absoluta</i> 'nın 4. dönem larva döneminin vücut segmentlerindeki <i>Wolbachia</i> yükünün değişkenliği.....	22
Şekil 4.7. <i>T. absoluta</i> 'nın ergin döneminin vücut segmentlerindeki <i>Wolbachia</i> yükünün değişkenliği	22
Şekil 4.8. <i>T. absoluta</i> 'nın ergin ve larva döneminin vücut segmentlerindeki <i>Wolbachia</i> yükünün değişkenliği.....	24
Şekil 4.9. <i>T. absoluta</i> 'nın farklı lokasyonlardaki <i>Wolbachia</i> yükünün değişkenliği.....	24

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Korunmuş bölgeleri çoğaltmak için tasarlanan primerler ve dizilimleri	14
Çizelge 3.2. <i>Aktin</i> ve <i>ftsZ</i> gen bölgesinin çoğaltılması için gerekli RT-PCR bileşenler ve miktarları	15
Çizelge 3.3. <i>Aktin</i> ve <i>ftsZ</i> genini çoğaltmak için kullanılan RT-QPCR Programı.....	16
Çizelge 4.1. Antalya ilinin 8 farklı lokasyonundan toplanan <i>Tuta absoluta</i> bireylerinin endosimbiontlarla bulaşıklık durumları	17



1. GİRİŞ

Domates (*Solanum lycopersicum* L.), 24 kromozoma sahip diploid bir bitki türüdür. Solanaceae familyasında, patates, patlıcan, petunya, biber, tütün ve diğer bitkiler de dâhil olmak üzere 3000'den fazla bitki ile beraber domateste yer almaktadır (Bai ve Lindhout 2007). Ayrıca, domatesin 10 binden fazla çeşidi bulunmaktadır (Peralta ve Spooner 2019). And Dağları kökenli bir bitki olan domatesin anavatanı Güney Amerika'nın batısında bulunan Peru'dur. Amerika'da keşfedildikten sonra 15. yüzyılda Avrupa'ya tanıtılmıştır. Günümüzde kültür bitkisi olarak dünya genelinde üretimi yapılmakta ve günümüzde tüketimi artmaya devam etmektedir. Domates Türkiye'ye ilk defa 19. yüzyılda Fransa üzerinden getirilmiştir (Kaya vd. 2018).

Domates, küresel tarım sektöründe üretim ve tüketim açısından en geniş ölçekte işlenen ve pazarlanan ürünlerden biri konumundadır. Dünya genelindeki tarım faaliyetlerinin merkezinde yer alarak, insan beslenmesinde temel bir rol oynamaktadır. Ticari açıdan büyük bir öneme sahip olan domates, dünya genelindeki tarım ürünleri ticaretinde öncü bir konumda yer almaktadır. Bu sebze, endüstriyel kullanım için çeşitli şekillerde işlenerek geniş bir ürün yelpazesi oluşturmaktadır. Dondurulmuş domates ürünleri, konserve domates, soslar, salçalar, ketçaplar, turşular ve domates suyu gibi çeşitli ürünlerde kullanılmaktadır. Bu geniş ürün yelpazesi, domatesin küresel gıda tüketiminde ve endüstriyel kullanımında ne kadar önemli bir konumda olduğunu göstermektedir (TÜİK 2022).

Türkiye'de sebze ürünleri üretim miktarı 2023 yılında bir önceki yıla göre %0,6 artarak yaklaşık 31,8 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Sebze türlerinden domateste %2,3 oranında üretim azalışı olmuştur (TÜİK 2023). Akdeniz Bölgesi'nde yoğun olarak tarım faaliyetleri gerçekleştirilmektedir. Özellikle Antalya ili domates için elverişli bir ortam sağlamaktadır. Ancak, konvansiyonel tarımın hâkim olduğu bölgelerde artan üretim yoğunluğu, domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda zararlı organizmaların çoğalmasına neden olmaktadır. Bu durum, domates bitkisinde ekonomik zarar eşiğini aşan hastalık etmenler, yabancı otlar ve zararlılarla mücadele gerekliliğini ortaya koymaktadır (Alaca vd. 2018).

Domates, ülkemiz tarım sektörü için stratejik öneme sahiptir. Ancak, dünya genelinde olduğu gibi ülkemizde de meyvesi tüketilen sebzeler arasında en yaygın olarak faydalanılanlardan biri olan domatesin, verim ve kalite kayıplarına yol açan üretimini etkileyen çeşitli zararlı organizmalar bulunmaktadır (Anonim 2021). Bu zararlılar, domatesin verimi ve kalitesi üzerinde olumsuz etki bırakmaktadır. Zararlı organizmalar arasında *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae), *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae), *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889), *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood, 1856) (Hemiptera: Aleyrodidae), *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895), *Thrips tabaci* (Lindeman, 1889) (Thysanoptera: Thripidae), *Myzus persicae* (Sulzer, 1776), *Aphis gossypii* (Glover, 1877), *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas, 1878) (Hemiptera: Aphididae), *Liriomyza* spp., (Diptera: Agromyzidae) ve *Tetranychus* spp. (Acarina: Tetranychidae) yer almaktadır. Bu zararlı organizmalar, domates üretiminin verimini ve kalitesini önemli ölçüde olumsuz etkilemektedir. Özellikle *Tuta absoluta* olarak bilinen domates güvesi, diğer zararlılar arasında öne çıkmaktadır.

Bu nedenle, bu zararlı organizmalarla etkili bir mücadele ve kontrol stratejilerinin geliştirilmesi domates yetiştiricileri için hayati bir gerekliliktir. Bu amaç doğrultusunda gerçekleştirilen araştırmalar ve çalışmalar, zararlı organizmaların etkilerini azaltmaya yönelik stratejilerin belirlenmesi ve uygulanmasında kritik bir rol oynamaktadır. Bu çalışmaların sonuçları, domates üretiminin sürdürülebilirliğini sağlamak ve verimliliğini artırmak amacıyla tarım sektöründe aktif olarak kullanılmaktadır. Dolayısıyla, birçok zararlılarla mücadele hem verim kayıplarını önlemek hem de ürün kalitesini artırmak açısından kritik bir gereklilik haline gelmiştir (Öngören vd. 1977; Yaşarakıncı ve Hıncal 1997; Nawrocka 1999; Bulut ve Göçmen 2000; Kılıç 2010; Canbay vd. 2011). Özellikle domates üretimini ciddi bir şekilde tehdit eden başlıca zararlı olarak *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) olarak adlandırılan domates güvesi, yer almaktadır (Alaca vd. 2018).

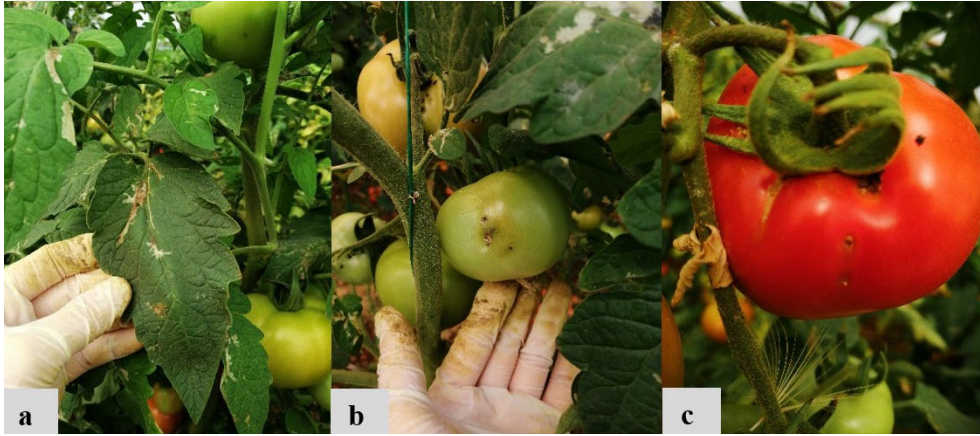
Tuta absoluta, domates güvesi olarak bilinir ve ilk kez 1964 yılında Amerika kıtasının güneyinde yer alan Arjantin'de tanımlanmıştır. *Tuta absoluta*, Güney Amerika'dan Kuzey Amerika'ya kadar yayılmıştır. 2006 yılında İspanya başta olmak üzere İtalya, Fransa, Almanya, İngiltere de *Tuta absoluta* domates tarlalarında tespit edilmiştir. 2008 yılı ve sonrası Afrika da bazı ülkelerde; Cezayir, Fas ve Tunus'ta varlığı saptanmıştır. 2010 ve 2011 yıllarında Asya kıtasında bazı ülkelerde bu zararlının varlığı görülmüştür. Akdeniz kıyılarındaki bölgeler başta olmak üzere Amerika, Avrupa, Asya ve Afrika'da hızla yayılmıştır (Garzia 2009; Korycinska ve Moran 2009; USDA 2011).

Türkiye'de ilk kez 2009 yılında ağustos ayında İzmir'in Urla ilçesinde görüldüğü bildirilmiştir (Kılıç, 2010). Türkiye'nin Akdeniz bölgesinde 2010 yılının Ocak ayında Antalya'nın Kumluca ilçesinde bir üretici serasında feromon tuzaklarında bulunan ve domates bitkilerinde fenotipik gözlem sırasında rastlanılmıştır (Erler vd. 2010). Ülkemizde uygun ekolojik şartlar altında hızla yayılan zararlı, 2010 yılı ağustos ayına kadar tüm Akdeniz ve Ege Bölgeleri'ne tamamen bulaşmış ve daha önce zararlı tespit edilmemiş bölgelere de hızla yayılmaya devam etmiştir (Başpınar vd. 2016).

Uygun iklim koşullarında, yılda 10-12 nesil verebilen *T. absoluta*, geniş popülasyonlar oluşturma yeteneğine sahiptir. Söz konusu zararlı türün dişi bireyleri yaşamları boyunca yaklaşık 120-260 adet yumurta bırakabilirler (Öztemiz 2012). Dişi bireyler, görünüm olarak silindirik yapıya sahip olan ve ortalama uzunluğu 0.2 mm ile genişliği 0.4 mm olan yumurtalarını genellikle yaprak altına ve olgunlaşmamış meyvelere yerleştirmektedirler. Bu yumurtaların çoğu, bırakıldıktan sonra yaklaşık 4-5 gün içinde açılmaktadır (Erler vd. 2010; Cocco vd. 2015). *T. absoluta*, dört larva evresinden geçmekte ve toplam larva süresi ortalama 13-15 gün arasında değişmektedir. Bireylerin boyutu birinci larva evresinde 0.9 mm iken, dördüncü larva evresinde yaklaşık olarak 7.5 mm'ye ulaşmaktadır (Vargas 1970; Desneux vd. 2010). Larvalar gelişimlerini tamamladıktan sonra genellikle toprakta veya yaprak yüzeyinde açtıkları galerilerde bir kokon içinde pupa evresine geçmektedirler (Öztemiz 2012). Pupalar yaklaşık 5-6 mm uzunluğunda ve 1.5 mm genişliğindeki silindirik yapıda olmakla birlikte ilk başta yeşil renkte ancak daha sonra kahverengiye dönüşmektedir (Estay 2000; Desneux vd. 2010). *T. absoluta* erginleri, yaklaşık olarak 6-7 mm uzunluğunda ve 10 mm kanat açıklığına sahip olup, antenleri ip şeklindedir. Erkek bireylerde ortalama yaşam süresi 15-18 gün iken, dişi bireylerde bu süre 20-25 gündür (Coelho ve França 1987; Cuthbertson vd. 2013; Krechmer vd. 2015).

Tuta absoluta, konukçu dizisi olarak geniş bir yelpazeye sahip olması ile birlikte tercih ettiği ana konukçu olarak domatesi (*Solanum lycopersicum* L.) seçse de, karpuz (*Citrullus lanatus* L.), şeker pancarı (*Beta vulgaris* L.), *Jatropha curcas* L., fasulye (*Phaseolus vulgaris* L. - Fabaceae), kara yonca (*Medicago sativa* L.), patlıcan (*Solanum melongena* L.), patates (*Solanum tuberosum* L.), ıspanak (*Spinacia oleracea* L.), pepino (*Solanum muricatum* (Ait.)) bitkilerini de konukçu olarak kullanabilmektedir. Ayrıca, bazı süs bitkileri ve bazı yabancı otlar da konukçuları arasında yer almaktadır (Öztemiz 2012; EPPO 2022).

Tuta absoluta'nın tüm biyolojik döngüsünü, domates bitkisinin yeşil kısımlarında ve meyvelerinde geçirir; ancak larva evreleri zararlı olmaktadır. *T. absoluta*'nın konukçularında meydana getirdiği zarar şekli ise, zararlının larva dönemi bitkinin kökü haricinde yaprak, gövde, sap, yeşil ve olgunlaşmış meyve olmak üzere domates bitkisinin tüm fenolojik dönemlerinde beslenmekte ve ciddi ekonomik zarar oluşturacak şekilde kalite kaybına yol açmaktadır (Estay 2000; Öztemiz 2012; Cuthbertson vd. 2013; Guimapi vd. 2016) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. *Tuta absoluta*'nin domates bitkisi ve meyvesinde oluşturduğu zarar şekli **a)** yapraktaki iki epidermis arasında oluşturduğu zarar şekli; **b)** olgunlaşmamış domates meyvesindeki zarar şekli; **c)** olgun domates meyvesindeki zarar şekli

Zararlı, yaprakların iki epidermisi arasında beslenerek, yapraklarda düzensiz galeriler açmakta ve yaprak üzerinde birden fazla galeri bulunmaktadır (Korycinska ve Moran. 2009). Zararlıların açtığı galerilerde, dikkat çekici siyah renkteki dışkıları belirgin bir şekilde görülmektedir. Zararlılar beslendikçe, galerilerin içi boşalmakta ve geniş, şeffaf boşlukların oluştuğu fark edilmektedir. Bu galeriler daha sonra kuruyarak, kahverengiye dönüşmektedir. Yapraktaki galeriler nedeniyle bitkinin fotosentez kapasitesi azalır ve kuruma meydana gelmektedir, bu da ürün miktarında azalmaya neden olmaktadır (Öztemiz 2012).

Zararlının, sap ve gövde de beslenmesi sonucunda galerilerin oluşumuna neden olmaktadır. Bu galeriler, bitkinin beslenme kanallarına zarar verip aynı zamanda nekrozları meydana getirmektedir. Ayrıca, bitkinin gelişimini olumsuz etkileyen bir başka duruma da gövdede açılan galerilerdir (Öztemiz 2012). Meyvedeki zararlar,

bitkinin tomurcuk ve çiçeklerinde meydana gelerek bitki gelişimini ve büyümesini engeller ve meyve verim kriterlerini önemli ölçüde azaltmaktadır. Zararlıının, oluşturduğu düzensiz galeriler meyvenin her tarafında gözlemlenebilmektedir. Genellikle kaliks altından meyveye giriş yaparlar. Meyvedeki galerilerde zararlıların siyah renkli dışkıları belirgin hale gelir.

Zararlıların beslenmesi sonucunda meyvede şekil bozuklukları meydana gelmekte ve meyve pazar değerini kaybetmektedir. Sekonder mikroorganizmaların meyvedeki galerilere yerleşmesi, çürümelerin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Tüm bu zararlar meyvenin pazar değerinin düşmesine ve veriminin azalmasına yol açmaktadır. Çoğu larva zamanını galeri içinde geçirirken, ikinci dönem larvalar galeriden dışarı çıkabilmektedir. Bu durum biyolojik mücadele açısından büyük önem taşımaktadır. Bu durum larvaların doğal düşmanlar tarafından avlanmasına veya parazitlenmesine olanak tanımaktadır. Kimyasal mücadelede ise, bu dönemde doğru uygulama zamanının belirlenmesi kritik öneme sahiptir (Fernandez ve Montagne 1990). Larvaların galeriden dışarı çıkmasının nedeninin, galeri içindeki besin tüketimi, sıcaklık veya dışkı maddelerinin birikmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Torres vd. 2001).

T. absoluta'nın yumurtadan çıkan larvaları, domates bitkisinin yapraklarında, sap iç bölgelerinde, uç tomurcuklarda ve hem yeşil hem de ergin meyvelerde galeriler oluşturarak bitkinin kök harici tüm organlarında ciddi bir hasar meydana getirebilmektedir. Eğer zararlı kontrolüne yönelik herhangi bir önlem alınmazsa, ürün kayıpları %80 ile 100 arasında ciddi ekonomik kayıpları beraberinde getirmektedir (Lopez 1991; Apablaza 1992; Kılıç 2011).

Tuta absoluta domatesin önemli bir zararlısı haline gelmesiyle farklı çalışma alanlarında üzerinde durulmuştur. Çalışılan konulardan biri de endosimbiyotik bakterilerin zararlı üzerine olan etkisidir. Endosimbiyotik bakterilerden *Wolbachia* en geniş grubu kapsayan *Rickettsiaceae* familyasına ait gram negatif bir bakteridir (Breitschwerdt 2007).

Wolbachia, böcekler, akar, örümcek, nematodlar ve kabuklular gibi omurgasızlar da olmak üzere geniş bir konukçu ağını enfekte etmektedir. Anneden yavruya aktarılabilen endosimbiyont bir proteobakteridir. Arthropodların yaklaşık %80'inde bulunan *Wolbachia*; konukçusunda erkek bireylerin ölümü, sitoplazmik uyuşmazlık, partenogenik bireylerde telytokinin artışı ve dişileşme (feminizasyon) gibi çeşitli üreme değişimlerine yol açmaktadır (Breeuwer vd.,1992; Stouthamer vd., 1999). Bunun yanı sıra, simbiyotik bakterilerin konukçu fizyolojisi üzerindeki etkisiyle ilgili birçok çalışma yapıp, bu durumun üzerinde durularak ehemmiyeti vurgulanmıştır. Bu bakterilerin önemi; savunma reaksiyonları, konukçu beslenmesi, üreme değişimleri ve direnç mekanizmaları gibi geniş bir yelpazeyi kapsamaktadır. Bitki-böcek-simbiyont ilişkisinin daha iyi anlaşılması, moleküler biyoloji ve fonksiyonel genom bilim alanlarındaki hızlı gelişmeler sayesinde mümkün hale gelmektedir. Böcek endosimbiyontlarının konukçularında oluşturduğu değişikliklerin detaylandırılması, bu mikroorganizmaların zararlı kontrolünde kullanım potansiyelini artırarak, gelecekteki araştırmalara yön verecektir.

Bu çalışmada, Antalya merkez ve ilçelerinden toplanan *Tuta absoluta* popülasyonlarında *Wolbachia* sp.'nin durumunun (varlığı veya yokluğu) tespit edilmesi ele alınmıştır.

Zararlının dördüncü dönem larvalarında bulunan *Wolbachia* sp. miktarları arasındaki farklılıklarda ve incelenmiştir. Bunun yanı sıra, seçilen bir lokasyondaki *T. absoluta*'nın farklı biyolojik dönemleri arasında *Wolbachia* sp. miktarları açısından bir fark olup olmadığını belirlenmiştir. Ayrıca, zararlının larva ve ergin dönemlerindeki vücut dokularında *Wolbachia* sp. yoğunluğunda bir fark olup olmadığının tespit edilmesi hedeflenmiştir.



2. KAYNAK TARAMASI

Heddi vd. (1999), *Wolbachia*'nın pirinç biti (*Sitophilus oryzae*)'nin vücut dokularına (foliküler hücreler, oositler, testis, bağırsak, lenfositler vb.) yayıldığını tespit etmiştir. Ayrıca, *Wolbachia* yoğunluğunun dokular arasında farklılık gösterdiğini; germ hücrelerinde yüksek yoğunlukta bulunurken, diğer dokularda daha düşük seviyelerde olduğunu bildirmişlerdir. Bu bulgulara paralel olarak, germ hücreleri ile karşılaştırıldığında dokularda gözlenen zayıf floresan sinyalleri, *Wolbachia*'nın ana hücre üzerinde etkili olduğunu ve gelişim sürecindeki testislerde spermleri aktif bir şekilde değiştirerek farklılaştırdığını ortaya koymuşlardır.

Vavre vd. (1999), *Wolbachia*'nın yatay geçişini incelemek amacıyla konukçu-parazitoit ilişkilerini araştırmış ve bu kapsamda *Drosophila* türlerini kullanmışlardır. Araştırma kapsamında, *D. hydei*, *D. immigrans*, *D. melanogaster*, *D. simulans* ve *D. subobscura* türleri ile beş farklı parazitoit türü [*Leptopilina bouvardi* (Figitidae), *Leptopilina heterotoma* (Figitidae), *Asobara tabida* (Braconidae), *Pachycrepoideus dubius* (Pteromalidae), *Trichopria* sp. (Diapriidae)] değerlendirilmiş olup, bu parazitoit türlerinden dört tanesinde *Wolbachia* enfeksiyonu tespit edilmiştir. *Drosophila* türleri arasında sadece *D. melanogaster* ve *D. simulans*'ın *Wolbachia* ile enfekte olduğu belirlenirken, parazitoit türleri içerisinde yalnızca *Leptopilina bouvardi*'nin *Wolbachia* taşımadığı rapor edilmiştir. Sonuçlar, parazitoitlerin *Drosophila* türlerine kıyasla daha yüksek *Wolbachia* enfeksiyonu oranına sahip olduğunu ortaya koymuştur.

Heddi vd. (2001), *Wolbachia*'nın *S. oryzae*'de hem horizontal hem de vertikal olarak vücut hücreleri boyunca aktarıldığını tespit etmiştir. Araştırmada, *Wolbachia*'nın konukçunun fizyolojisi üzerinde herhangi bir etki göstermediği, ancak üreme süreçlerinde değişikliklere neden olduğu ifade edilmiştir.

Kikuchi ve Fukatsu (2003), Japonya'da karasal Heteroptera türlerinde *Wolbachia* enfeksiyonunu belirlemek amacıyla 19 farklı familyayı kapsamlı bir şekilde taramıştır. Pentatomidae familyasında %13,3, Pyrrhocoridae'de %16,6, Miridae'de %20, Alydidae'de %33,3, Acanthosomatidae'de %45,5, Coreidae'de %52,9, Lygaeidae'de %54,5, Tingidae, Rhopalidae ve Cydidae familyalarında %60, Plataspidae familyasında %80, Nabidae ve Berytidae familyalarında ise yüzde yüz oranında *Wolbachia* enfeksiyonunu rapor etmiştir. Enfeksiyona rastlanmayan familyalar ise; Scutelleridae, Reduviidae, Aradidae, Malcidae, Largidae ve Urostylidae olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, incelenen 134 türün 47'sinde *Wolbachia* enfeksiyonu tespit edilmiştir. Yapılan moleküler filogenetik analizler, *Wolbachia* filogenetiği ile konukçu sistematigi arasında sınırlı bir genetik uyumsuzluk olduğunu göstermiş; bu bulgunun, Heteroptera türlerinde *Wolbachia*'nın sıklıkla horizontal olarak transfer edilmesiyle ilişkili olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Škaljac vd. (2012), *T. absoluta*'nın larva örnekleri 2010-2011 yılları arasında Hırvatistan ve Karadağ olmak üzere toplam üç lokasyonundan, her birinden 20 birey toplamıştır. *Rickettsia*, *Hamiltonella*, *Arsenophonus*, *Wolbachia*, *Cardinium* ve *Fritschea* taraması, cinse özgü primerler (16S veya 23S rDNA) kullanılarak klasik PCR ile test edilmiştir. Çalışmada *Wolbachia* dışında hiçbir endosimbiont tespit edilmemiştir.

Chiel vd. (2014), *Wolbachia*'nın yatay transferini ve *Bemisia tabaci* ile parazitoiti *Eretmocerus emiratus*'un fenotiplerini incelemeyi hedeflemiştir. Multilokus sekans ve filogenetik analizler yoluyla, *B. tabaci* ve *E. emiratus*'ta farklılık gösteren 14 *Wolbachia* suşu tespit etmişler ve her iki türün de süper grup B'ye ait olduğu saptanmıştır. Yatay transferle ilgili herhangi bir bulguya rastlanmamış olup, çalışma *Wolbachia*'nın *E. emiratus* 'ta sitoplazmik uyumsuzlığa neden olduğunu ilk kez ortaya koyulmuştur.

Li vd. (2015), depolanmış ürün zararlısı böcek türlerinde *Wolbachia* enfeksiyonunu *wsp* primerleri kullanarak taramışlardır. Çalışma kapsamında, Coleoptera takımına ait *Lasioderma serricorne* türü Kanada, Almanya, Yunanistan, İspanya ve Amerika'dan; *Stegobium paniceum*, *S. oryzae*, *Attagenus unicolor*, *Dermestes lardarius*, ve *Oryzaephilus mercator* türleri Kanada ve Amerika'dan; *Sitophilus zeamais* türü Tayland'dan; *Oryzaephilus surinamensis* türü Kanada, Yunanistan, İspanya ve Amerika'dan; *Tribolium confusum* türü ise Kanada, Çin, Danimarka, İngiltere, Fransa, Almanya, Yunanistan, İtalya, Portekiz, İspanya ve Amerika'dan toplanmıştır. Hymenoptera ve Lepidoptera takımlarından *Trichogramma deion* ve *Ephestia kuehniella* türleri Kanada'dan elde edilmiştir. Filogenetik analizler, *Wolbachia* enfeksiyonlarının süpergrup-A ve süpergrup-B üyelerini içerdiğini ve bu enfeksiyonların böceklerin üreme sistemleri üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, *Wolbachia*'nın zararlı türlerin kontrolü açısından önemli bir potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir.

Wang vd. (2015), tarafından yapılan çalışmada, Çin'deki *Nilaparvata lugens* (Hemiptera) popülasyonlarında *Wolbachia* ve *Arsenophonus* enfeksiyonları incelenmiştir. Altı farklı popülasyondan (TN1-1995, TN1-2009, TN1-VN, TN1-PP, ASD7 ve MUDGO) toplam 850 birey üzerinde *Wolbachia* enfeksiyonu taranmıştır. TN1-VN popülasyonunda 96 bireyde %10,4 oranında, TN1-PP popülasyonunda 96 bireyde %5,2 oranında ve TN1-2009 popülasyonunda 100 bireyde %3 oranında *Wolbachia* enfeksiyonu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, TN1-1995, ASD7 ve MUDGO popülasyonlarında toplam 558 bireyde *Wolbachia* enfeksiyonuna rastlanılmamıştır.

Güz vd. (2012), tarafından yapılan çalışmada, süne (*E. integriceps*, Heteroptera: Scutellaridae) türünün önemli yumurta parazitoitlerinden *Trissolcus* spp. türlerinde *Wolbachia* enfeksiyonunu tespit etmişler. Bakteri enfeksiyonları, *Wolbachia* yüzey proteini (*wsp*) kodlayan genin DNA dizileri kullanılarak doğrulanmıştır. Filogenetik analizler sonucunda, *Trissolcus* spp. türlerinde saptanan *Wolbachia* ırklarının genetik olarak birbirine yakın olduğu ve B süper grubuna ait olduğu belirlenmiştir. Farklı *Trissolcus* spp. popülasyonlarındaki enfeksiyon durumunun ve *Wolbachia*'nın neden olduğu uyumsuzluğun tespiti, süne ile mücadelede parazitoitlerin etkinliği açısından büyük önem taşıdığını bildirmişlerdir.

Yıldırım vd. (2013), Kayseri ilinden toplanan *Culex pipiens* örneklerinde *Wolbachia* enfeksiyonunu tespit etmek amacıyla yürüttükleri çalışmada, her biri 6-15 adet *C. pipiens* bireyini içeren 10 genomik DNA havuzu oluşturmuşlardır. Bu havuzlar, *Wolbachia*'nın yüzey proteinini (*wsp*) kodlayan gen bölgesinin amplifikasyonu açısından analiz edilmiştir. Yüksek seviyede polimorfizm gösteren *wsp* gen bölgesi, farklı *Wolbachia* ırkları arasındaki filogenetik ilişkilerin aydınlatılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Genomik DNA ekstraksiyonunun ardından, *wsp* gen bölgesinin 590-632 bp'lik kısmını hedefleyen *Wolbachia*'ya özgü primerler ile PCR analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizler sonucunda, 10 DNA havuzunun 6'sında %60 olarak

pozitif sonuç elde edilmiştir. Araştırmada ayrıca, *Wolbachia* spp. için minimum enfeksiyon oranı %5,08 olarak tespit edilmiştir.

Şaki ve Şimşek (2014), tarafından Elâzığ ilinde yürütülen çalışmada, *Wolbachia*'nın *wsp* gen bölgesini amplifiye eden spesifik primerler kullanılarak farklı sinek türlerinin dişi ve erkek bireylerinde *Wolbachia* enfeksiyonunun varlığı araştırılmıştır. Bu çalışma kapsamında, 33 dişi ve 15 erkek *Musca* spp., 30 dişi ve 7 erkek *Lucilia sericata*, 16 dişi ve 4 erkek *Calliphora vicina*, 1 dişi ve 4 erkek *Sarcophaga haemorrhoidalis* ile 27 dişi ve 10 erkek *Chrysomia albiceps* bireyi analiz edilmiştir. Pozitif kontrol örneğinde 630 bp'lik bir bant gözlemlenirken, incelenen toplam 147 örnek arasında *Wolbachia* enfeksiyonuna rastlanmadığı bildirilmiştir.

Karut ve Tok (2014), *Bemisia tabaci* popülasyonlarındaki sekonder endosimbiontları PCR tabanlı DNA analizi ile belirtmiştir. Çalışma, 2007-2012 yılları arasında farklı konukçu bitkilerden toplanan *B. tabaci* bireyleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. *Rickettsia*, *Hamiltonella*, *Arsenophonus* ve *Wolbachia* olarak adlandırılan sekonder endosimbiontlar, iki farklı *B. tabaci* biyotipinde (B ve Q) tespit edilmiştir. *Arsenophonus* ve *Wolbachia* yalnızca Q biyotipinde bulunurken, *Hamiltonella* sadece B biyotipinde gözlemlenmiştir. *Rickettsia*, hem B hem de Q biyotipinde saptanmıştır. Bireylerin %40'ı *Arsenophonus* ile enfekte olup, bunu *Hamiltonella* (%32,4) ve *Wolbachia* (%8) izlemektedir. *Rickettsia*'nın bulaşma oranı, B ırkında (%29,7) Q ırkından (%21,6) biraz daha yüksek olarak tespit edilmiştir.

Tunçbilek vd. (2015), Antalya ilinden toplanan *S. granarius*, *S. zeamais* ve parazitoit *Lariophagus distinguendus* örneklerinde simbiyotik olarak bulunan *Wolbachia* enfeksiyonunu, *wsp* primeriyle ile *Arsenophonus* enfeksiyonunu, *Ars* primeriyle *Spiroplasma* enfeksiyonunu ise 63F-TK55 primeri ile PCR taramıştır. *S. granarius*'ün tüm bireylerinde *Wolbachia* ve *Arsenophonus* enfeksiyonları tespit edilmişken, parazitoit *L. distinguendus*'ta hem *Wolbachia* hem de *Spiroplasma* enfeksiyonları belirlenmiştir. Bu bulgular doğrultusunda, *S. granarius* ile parazitoit *L. distinguendus* arasındaki ilişkinin derinlemesine araştırılması gerektiği vurgulanmıştır. *S. zeamais* örneğinde ise herhangi bir enfeksiyon tespit edilmediği bildirilmiştir.

Tunçbilek ve Bakır (2016), *Rhagoletis cerasi*'nin kiraz üzerindeki zararlı etkilerini vurgulayarak, etkili ve geniş spektrumlu ilaçların piyasadan kaldırılmasıyla birlikte bu zararlılarla mücadelenin giderek zorlaştığını belirtmişlerdir. İnsan ve çevre sağlığı açısından, mikrobiyal simbiyotik canlılarla mücadelenin daha sağlıklı bir alternatif olduğu ifade edilmiştir. *R. cerasi*'nin ergin bireylerinde bağırsak ve üreme bakterileri için 16S ribozomal RNA geni ile PCR taraması gerçekleştirilmiş ve *Wolbachia* enfeksiyonunun popülasyonda bulunduğu buna karşın *Cardinium*, *Hamiltonella*, *Rickettsia* ve *Arsenophonus* tespit edilmediğini bildirmişlerdir.

Türkmen ve Koçak (2019), Ege (İzmir ve Manisa), Güneydoğu Anadolu (Diyarbakır ve Şanlıurfa), İç Anadolu (Ankara ve Konya), Karadeniz (Samsun) ve Akdeniz (Adana) bölgelerinden 12 farklı lokasyondan *Sitophilus oryzae* L. (Pirinç biti) popülasyonları elde etmişler ve moleküler yöntemlerle *Wolbachia*'nın varlığı araştırmışlardır. Sonuç olarak, 120 örneğin 118'inde; %98,33 oranında *Wolbachia* enfeksiyonu var olduğunu rapor etmişlerdir. *Wolbachia* varlığı Şanlıurfa ve Adana

(Çukur köprü)'da %90, diğer lokasyonlarda ise genellikle %100 oranında tespit edilmiştir.

Koçak ve Ertürk (2019), Türkiye'de bulunan 10 farklı hububat deposundan *Oryzaephilus surinamensis* L. (Testereli Böcek) popülasyonlarının toplamışlar her bir popülasyondan rastgele seçilen altı ergin birey üzerinde toplamda 60 bireyde uygulama gerçekleştirilmiştir. Söz konusu böcek türünde, Türkiye'de *Wolbachia* sp.'nin ilk kez, dünyada ise *Rickettsia* sp. ve *Spiroplasma* sp.'nin ilk kez tespit edildiği endosimbiont bakterileri, sentetik primerler ve PCR yöntemi kullanılarak yoğunlukları belirlenmiştir. Elde eden sonuçlarına göre, Türkiye genelinde bulaşma yoğunluğunun %49 olduğu; bu oranın %28'inin *Wolbachia* sp.'ye, %14'ünün *Rickettsia* sp.'ye ve %7'sinin *Spiroplasma* sp.'ye ait olduğu belirlenmiştir.

Lu vd. (2019), Çin'deki depolanmış ürün zararlılarının farklı coğrafi popülasyonlarındaki on *Tenebrionidae* familyası depolanmış ürün böceğinde PCR tespit yöntemini kullanarak *Wolbachia*'nın yaygınlığını araştırmışlardır. Sadece *T. confusum* türünün iki ırkında *Wolbachia* enfeksiyonu tespit edilmiştir. Tüm *T. confusum* dişi ve erkeklerinin *Wolbachia* ile enfekte olduğunu bildirilmiştir. Ayrıca, iki *Tenebrio* türü, üç *Alphitobius* türü ve üç *Palorus* türünde *Wolbachia* enfeksiyonuna rastlanılmamıştır. TaqMan® prob kantitatif PCR analizi, *Wolbachia* popülasyonunun konukçu gelişimiyle arttığını ortaya koymuştur. En yüksek enfeksiyon genç erginlerde gözlemlenirken, dişilerin pupa evresinde erkeklerden daha yüksek *Wolbachia* yoğunluğuna sahip olduğu belirlenmiştir. Enfeksiyon miktarları, üreme ve yağ dokusunda, orta bağırsak ve malpighian tübüllere göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Tetrasiklin uygulamaları, *Wolbachia* yoğunluğunda azalmaya neden olmuş ve özellikle kırma biti böceğinde etkili bulunmuştur. Bu uygulamaların popülasyon gelişimi üzerindeki etkisi incelendiğinde, önemli bir farklılık bulunmamıştır ($P>0.05$). Cinsiyet oranında sapma gözlenmemiş olup, sitoplazmik uyumsuzluk durumunda az sayıda canlı yavru üretilmiş ya da hiç üretilmemiştir.

Ge vd. (2020), Çin'in Henan eyaleti Nanyang' da toplanan 33 ergin böcekte 18 dişi ve 15 erkek olmak üzere *Paederus fuscipes*'in laboratuvar kültürü oluşturmuşlardır. Elde edilen kültürün F1 neslinden yumurta, larva, pupa, ergin dönemlerinden DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Aynı zamanda 9 erkek, 9 dişi böceğin belli vücut yapılarından; baş, toraks, abdomen ve üreme dokularından DNA izolasyonu yapılmıştır. 16S rRNA gene spesifik primer ile bakılmıştır. Erginlerdeki enfeksiyon yoğunluğu, diğer herhangi bir biyolojik dönemden daha yüksekti ve erginlerdeki üreme dokuları, cinsiyetler arasında benzer yoğunluklarda, en yüksek enfeksiyon yoğunluğuna sahip çıkmıştır.

Carvalho vd. (2020), Brezilya'da *Tuta absoluta* popülasyonları, *Tuta absoluta*'daki genetik çeşitliliği değerlendirmek ve böcek haplotipi ile *Wolbachia* türünün en temsili kombinasyonu ile ilişkili partenogenezin oluşup oluşmadığını belirlemek için çalışma yürütmüşlerdir. 10 böcek popülasyonu, enfeksiyon oranları %70-%100 arasında değişen iki *Wolbachia* suşu (ST41 ve ST354) ile enfekte edilmiştir. Böcek genetik çeşitliliği hem mitokondriyal hem de nükleer DNA belirteçleri için mevcut tek bir haplotip grubu ile düşük bulunmuştur. Bu nedenle, *Wolbachia* enfeksiyonu, *Tuta absoluta*'nın Brezilya popülasyonları arasında partenogeneze veya feromon bazlı kontrol

başarısızlığına yol açmayacağız, ancak muhtemelen bir zararlı yönetim aracı olarak ve potansiyel olarak yararlı olan sitoplazmik uyumsuzluğu destekleyeceği belirtilmiştir.

Koçak (2020), Doğu Akdeniz, Marmara, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinden her ilden 10 örneği olmak üzere toplam 15 ilden (Adıyaman, Bingöl, Çanakkale, Bursa, İçel, Edirne, Ağrı, Kahramanmaraş, Kırklareli, Sakarya, Diyarbakır, Siirt, Tunceli ve Şırnak) 150 erkek süne toplamış. *Wolbachia* enfeksiyonu oranları Akdeniz Bölgesinde (İçel ve Kahramanmaraş) ortalama %85, Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde (Adıyaman, Diyarbakır, Siirt ve Şırnak) ortalama %95, Doğu Anadolu Bölgesi'nde (Ağrı, Bingöl, Elâzığ ve Tunceli) ortalama %95, (Bursa, Çanakkale, Edirne, Kırklareli ve Sakarya) ortalama %98, oranında olduğunu ortaya koymuştur. Sonuç olarak, *E. integriceps* türünde *Wolbachia* enfeksiyonunun Türkiye genelinde %94,6 oranında yaygın olduğunu vurgulamıştır.

Mehrkhov vd. (2021), *T. absoluta* örnekleri 2019 ve 2020 yıllarında Batı Azerbaycan, İran ve Türkiye'de domates yetiştirilen 15 farklı lokasyondan toplanmıştır. Araştırma için 19 ergin ve 146 larva dâhil olmak üzere 164 örnek elde edilmiştir. *Hamiltonella*, *Arsenophonus*, *Wolbachia*, *Cardinium*, *Pantoea* ve *Spiroplasma*'nın *T. absoluta* popülasyonlarında enfeksiyon varlığına ve yoğunluğuna yaptıkları çalışmada bakılmıştır. *Wolbachia* enfeksiyonunun varlığı ve yayılımı, *T. absoluta*'nın wsp genini kullanarak üretilen yaklaşık 600 bp'lik bir amplikon aracılığıyla belirlenmiştir. Klasik PCR analizi sonucunda *Wolbachia* endosimbiontu enfeksiyonu %100 olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada, *T. absoluta* popülasyonlarında *Wolbachia* endosimbiontu enfeksiyonu %100 tespit edilmiştir. Bununla birlikte popülasyonlarda *Arsenophonus*, *Cardinium*, *Hamiltonella* ve *Spiroplasma* enfeksiyonlarını içeren hiçbir endosimbiontik bakteriye rastlanılmamıştır.

Erasmus vd. (2022), Güney Afrika'nın Mpumalanga eyaletinde Piet Retief (PR), Gauteng eyaletinde Tarlton (TT), Kuzey-Batı eyaletinde Ventersdorp (VD) ve Limpopo eyaletinde Mooketsi (MK) olmak üzere beş farklı bölgeden 2021 yılında toplanan popülasyonlardan elde edilen örneklerden her biri için 20 adet *T. absoluta* ergini yetiştirmişlerdir. Tek bir *Wolbachia* suşu ile popülasyonlarda yüksek düzeyde ($\geq$ %95) enfeksiyon tespit etmişlerdir. Güney Afrika'daki *T. absoluta* popülasyonları üzerinde yapılan bu incelemede, *Wolbachia* enfeksiyonunun yaygın olduğu, ancak partenogenezinse neden olmadığı belirlenmiştir.

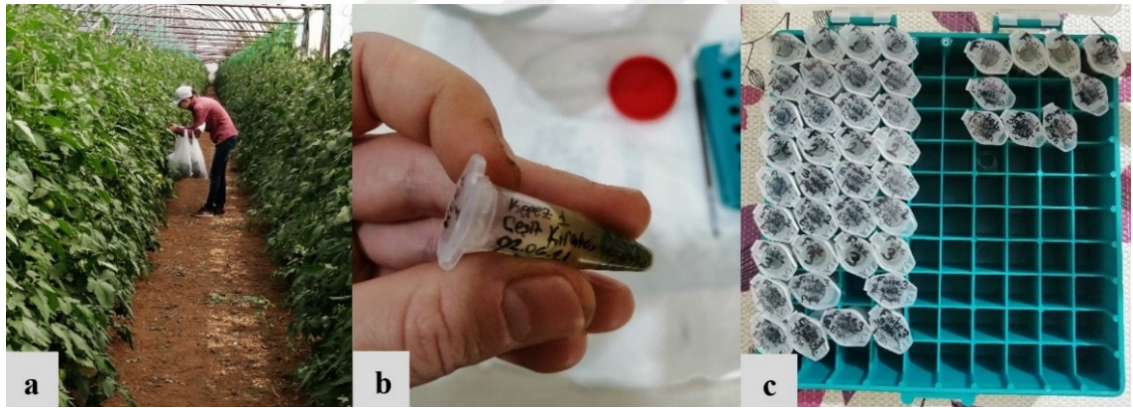
Kavak ve Koçak (2023), Batı Akdeniz Bölgesi (Antalya, Muğla, Isparta ve Burdur) illerinden 11 lokasyondan toplam 55 adet *T. absoluta* larva bireyi üzerinde *Wolbachia*, *Rickettsia* ve *Spiroplasma* varlığını incelenmişlerdir. Dünyada ve Türkiye genelinde *Rickettsia* ve *Spiroplasma*'nın *T. absoluta* için ilk kaydolduğu belirlenmiştir. Batı Akdeniz Bölgesi'nde *T. absoluta*'da *Spiroplasma*, *Rickettsia* ve *Wolbachia* bulunma oranları sırasıyla %90,9, %78,1 ve %76,3 olarak belirlenmiştir. Bireylerde görülen ikili ve üçlü enfeksiyonlar dikkat çektiği belirtilmiştir. Elde edilen farklı lokasyonlardaki domates güvesi popülasyonların da endosimbiontlarla çok ciddi bir oranda bulaşık olduğunu ortaya koyulmuştur.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Örnekleme zamanı ve alanları

Çalışmada ana materyal olarak 2021-2023 yıllarında Antalya merkezi ve yakın çevresindeki ilçelerden toplanan *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) bireyleri kullanılmıştır. 2021-2023 yılları arasında gerçekleştirilen arazi çalışmaları sırasında, Antalya'nın Aksu, Elmalı, Finike, Kepez, Korkuteli, Kumluca, Muratpaşa, Serik gibi tarımsal faaliyetlerin yoğun olduğu ilçelerden örnekler toplanmıştır. Bu bölgeleri en iyi şekilde temsil eden en az bir veya iki farklı lokasyondan olmak üzere toplamda 29 noktadan, larva ile bulaşık yaprak örnekleri alınmıştır (Şekil 3.1.). Arazi çalışmaları sırasında toplanan örnekler, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde yer alan Moleküler Entomoloji Laboratuvarı'na getirilmiştir. Etiket üzerine; örneklerin GPS koordinatları, lokasyon adı, domates çeşit ismi ve toplandığı tarih gibi gerekli bilgiler kaydedilmiştir (Ek 1). Çalışmanın arazi kısmından sonraki aşamalar, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde bulunan Moleküler Entomoloji Laboratuvarı'ndaki cihazlar ve ekipmanlar kullanılarak yürütülmüştür.



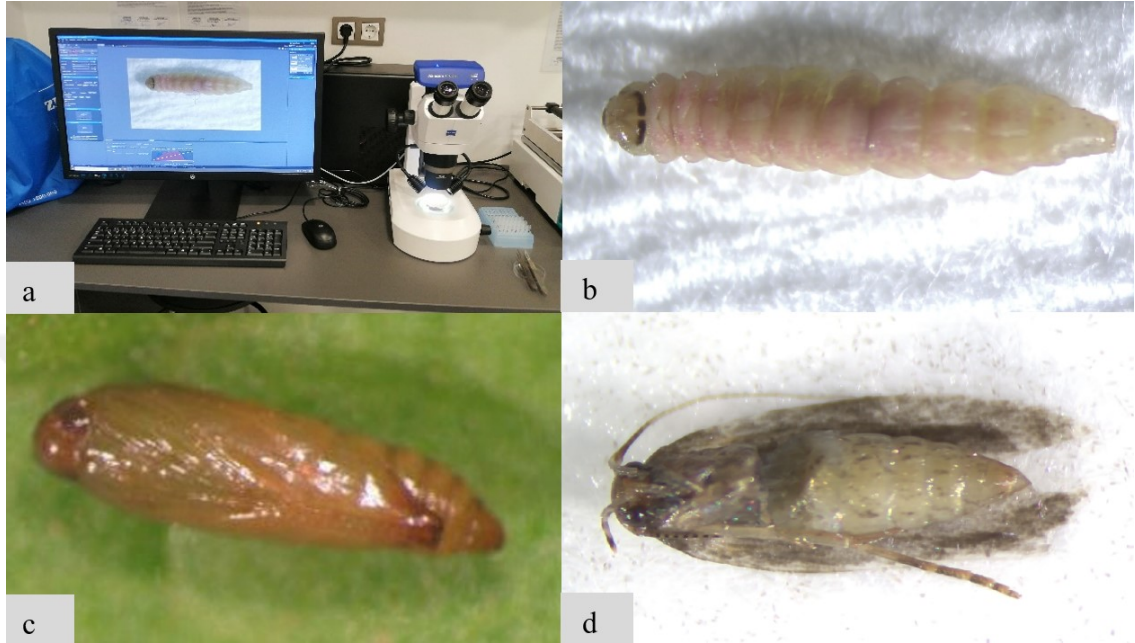
Şekil 3.1. Araziden *Tuta absoluta* örneklerinin toplanması, **a)** *Tuta absoluta* ile bulaşık domates yaprak örneklerinin toplanması; **b)** Örneklerin saf etanol ortamında eppendorf tüpe alınması; **c)** Örneklerin konumlandırılarak sıralanması

3.2. Metot

3.2.1. Zararlının Biyolojik Dönemlerine Göre Elde Edilmesi

Arazi çalışmalarında elde edilen zararlıların biyolojik dönemlerinden eksik olan pupa dönemleri için, domates yaprağı içeren kovalara, toplandıkları lokasyon adı belirtilerek belirli sayıda dördüncü dönem larvalar aktarılmıştır. Her gün aynı saatte düzenli olarak kontrol edilen kovalar içerisindeki *T. absoluta* örnekleri pupa evresine ulaştığında, 1 günlük, 3 günlük, 6 günlük ve 9 günlük pupalar %99'luk alkole alınarak -20°C'deki buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Aynı zamanda, arazi çalışmalarında elde edilen zararlıların biyolojik dönemlerinden eksik olan ergin yaş dönemleri için, 1 litrelik boş cam kavanozlara belirli sayıda son dönem pupalar yerleştirilmiş ve *T. absoluta* örnekleri 1 günlük, 3 günlük, 6 günlük ve 9 günlük ergin olarak %99'luk alkole alınarak -20°C'de muhafaza edilmiştir (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Mikroskop altında *T. absoluta*'nın biyolojik dönemlerine göre ayrılması, **a)** ışık mikroskop altında görüntüleme; **b)** dördüncü dönem larva; **c)** pupa dönemi; **d)** ergin dönemi

3.3. Toplam Nükleik Asit İzolasyonu

DNA izolasyonu için, Doyle ve Doyle (1987)'nin geliştirdiği CTAB protokolü kullanılarak, tek birey olarak ayrılmış 20 bireyden oluşan tüm örnekler işlem uygulanmıştır. Bu protokolde: DNA izolasyonu için; *Tuta absoluta* örnekleri tek birey olmak üzere strip tüplere yerleştirilmiştir.

1) Örnekler 150 µl CTAB + Mecoethanol karışımı ve paslanmaz çelik bilye eklenerek TissueLyser-II QIAGEN® cihazında ezme işlemi yapılmıştır. Plakalar santrifüj cihazında 5 dakika en yüksek devirde (4000 rpm) santrifüjlendikten sonra üzerine 300 µl (150+150) daha CTAB + Mecoethanol karışımı eklenmiştir. Tüp içindeki son hacim 500 µl olmuştur.

2) Plakalar 65 °C'de 2 saat su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır.

3) Inkübasyon sonunda örnekler kloroform (24): izoamil alkol (1) karışımından 500 µl eklenmiştir. Örneklerin bu karışımla iyice karışması için çalkalanmıştır.

4) Örneklerin bulunduğu plaka 20 dakika boyunca 4000 rpm devirde santrifüjlenmiştir.

5) Santrifüj sonrasında örnekler kimyasal karışımında faz ayrımı (2 faz) olarak ayrılmıştır. Tüplerin içerisindeki üst faz (süpernatant) alınarak ($150+150 = 300 \mu\text{l}$) temiz tüplere aktarılmıştır.

6) Aktarılan üst fazın üzerine $300 \mu\text{l}$ ($150+150$) izopropanol eklenmiş ve hafifçe alt-üst yapılarak DNA'nın yoğunlaşması sağlanmıştır. Plakalar bir gece boyunca -20°C 'de inkübasyona bırakılmıştır.

7) Bir sonraki gün, -20°C 'den alınan plaka 20 dakika boyunca 4000 rpm devirde santrifüjlenmiş ve sonrasında tüpün dibinde oluşan pelet, düşürülmeden sıvı kısım dökülmüştür.

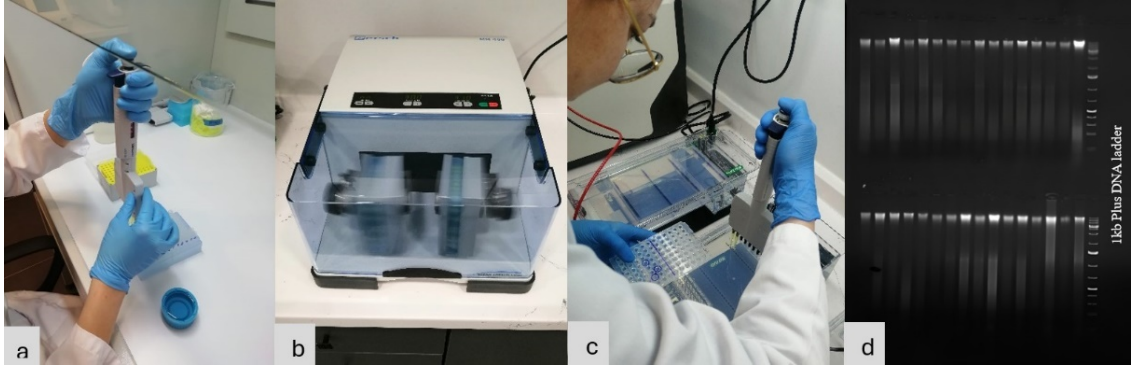
8) Tüpün dibindeki peletlerin üzerine $300 (150+150) \mu\text{l}$ soğuk $\%70$ etanol eklenerek 5 dakika boyunca 4000 rpm devirde santrifüjlenmiştir ve sonrasında tüpün dibinde oluşan pelet düşürülmeden sıvı kısmı dökülmüştür. Bu işlem 2 defa tekrar edilmiştir.

9) Örneklerde bulunan etanolün uçması amacı ile plakalar 45-60 dakika boyunca çeker ocak içeride bekletilmiştir.

10) Kuruyan örneklerin üzerine $100 \mu\text{l}$ otoklavlanmış steril saf su eklenmiştir.

11) Tüp içerisindeki DNA'nın sıvıya geçebilmesi için örnekler $+4^{\circ}\text{C}$ 'de bir gece bekletilmiş, ardından, DNA'nın degrade olmaması için ve bir sonraki çalışmalara kullanılmak üzere -20°C 'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Tez çalışmasında, zararlının farklı gelişim dönemlerine ait evrelerinin (larva, pupa ve ergin) *Wolbachia* yükü açısından taraması yapılmıştır. Ayrıca, farklı bölgelerden toplanan 4. dönem larvalarının *Wolbachia* yükü de karşılaştırılmıştır. Bunun yanı sıra, farklı vücut bölgelerindeki (baş, toraks, abdomen, bacak vb.) *Wolbachia* yükünün incelenmesi hedeflenmiştir. Bu kapsamda, tek bir bireyin dördüncü dönem larva vücut bölümlerinden (baş, abdomen, toraks vb.) elde edilen DNA izolasyonunda yeterli başarı sağlanamamıştır. Bu sorunu çözmek amacıyla, DNA izolasyonu için hazırlanan $\%50$ 'lik Linear Polyacrylamide (LPA) solüsyonu $\%7,5$ oranında seyreltilmiş ve DNA izolasyonunun 5. aşamasında, yeni tüpe alınan ikinci üst fazın üzerine eşit miktarda eklenerek dikkatlice karıştırılmıştır. Bu aşamada, LPA'nın 1:1 oranında eklenmesi ve yavaşça karıştırılması, DNA izolasyonunun başarısı açısından kritik öneme sahiptir. Son olarak, oluşan son hacme eşit miktarda soğuk izopropanol eklenip, yavaşça karıştırılmış ve izolasyonun diğer aşamaları olduğu gibi devam ettirilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Toplam nükleik asit izolasyonu, **a)** CTAB+Merceptoetanol eklenmesi; **b)** Tissue Lyser ile örneklerin ezilmesi; **c)** DNA örneklerinin agaroz jele yüklenmesi; **d)** agaroz jel görüntüsü

3.4. Primerlerin ve Probların Tasarlanması

Etkili bir primer ve prob dizaynı için, literatürden ve GenBank erişimlerinden elde edilen tüm mevcut *Wolbachia* sekans bilgileri elde edilmiş ve prob ve primer dizaynı için değişime uğramamış bölgeler seçilmiştir. *T. absoluta*'ya ait tek gen bölgesi ve *Wolbachia* primer dizaynı yapılmıştır. GenBank'taki *T. absoluta* örneklerinden elde edilen SRA (stores raw sequencing data and alignment information) okumaları alınmış ve internal kontrol geni (housekeeping gene) olarak seçilen *Aktin* geni dizileri için taranmıştır. Seçilen okumalar birleştirilmiş ve oluşturulan *Aktin* dizisinden değişime uğramamış bölge housekeeping (ifade düzey kontrol geni; *Aktin*) prob ve primer tasarımı için kullanılmıştır. Kullanılan primer ve problemlerin listesi çizelgede verilmiştir (Çizelge 3.1). Nihai olarak, *Wolbachia* varlığının ve miktarının ölçülmesi için ise “*ftsZ*” geninin 97 bp'lik bölümü, *Tuta absoluta*'ya özgü internal kontrol olarak ise “*Aktin*” geninin 98 bp'lik kısmı hedef olarak seçilmiş. Real-Time PCR için etkin bir şekilde kullanılabilecek hale getirilmiştir.

Çizelge 3.1. Korunmuş bölgeleri çoğaltmak için tasarlanan primerler ve dizilimleri

Primerin Adı	Organizma	Primer Dizisi (5'→3')	Amplifikasyon Büyüklüğü (bp)
<i>ftsZ</i> Fwd.	<i>Wolbachia</i>	CATTTGCTGACGCATTTCAACT	97
<i>ftsZ</i> Rev.		TCAAGATTAATCAGTCCTGGCAT	
<i>ftsZ</i> Prob		FAM-CTGCATATTGGCATAAGAGGAGT-BHQ1	
<i>Aktin</i> Fwd.	<i>Tuta absoluta</i>	GCCATGTACGTCGCCATCC	98
<i>Aktin</i> Rev.		ACAGTGTGGGAGACACCATCC	
<i>Aktin</i> Prob		HEX-TGTACGCCTCCGGTCGTACCAC-BHQ1	

3.5. Real-Time PCR Optimizasyonu

Optimizasyon aşamasında, öncelikle hedef bölgelere ait PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmiştir. Domates güvesi DNA'sı *Aktin* geni için ve *Wolbachia* DNA'sının *ftsZ* geni için PCR amplifikasyon ürünleri seyreltme serileri kullanılarak bireysel standart eğriler oluşturulmuştur. PCR etkinliğini test etmek için ayrıca bu ürünlerin birleştirilmiş farklı konsantrasyonları kullanılarak testlenmiştir; (1/10, 1/50, 1/100, 1/500, 1/1.000, 1/5.000, 1/10.000, 1/50.000, 1/100.000).

Optimizasyon çalışmaları sonucunda Çizelge 3.1' de verilen primer ve probler için PCR reaksiyonun son hacim 15µl olacak şekilde Çizelge 3.2 de verilen konsantrasyon değerlerinde kullanılmasına karar verilmiştir. Ayrıca, qRT-PCR için optimum termal döngü şartlarının Çizelge 3.3 belirtildiği şekilde uygulanmasına karar verilmiştir. Bunların yanı sıra her qRT-PCR çalışmasında standart seyreltme eğrilerine ait kalıp DNA'lar (*Aktin* ve *ftsZ* için ayrı-ayrı), pozitif ve negatif kontroller mutlaka mevcut bağımsız PCR koşturmasında tekrarlanarak farklı koşturmalar arası olası küçük farklılıklar normalize edilmiştir. Analizler aşamasında, her PCR uygulamasında her örneğin yer aldığı PCR kuyucuğundan elde edilen Ct. değerleri kullanılmıştır. Elde edilen Ct. değerleri standart eğriler ve internal kontrol olan *Aktin* geninin Ct. değerleri ile karşılaştırılarak *Wolbachia* yüküne ait kantitatif veriler elde edilmiştir. Tüm bu analizlerin hesaplanmasında CFX Maestro yazılımı (Bio-Rad Laboratories, Inc., Irvine, CA, ABD) kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. *Aktin* ve *ftsZ* gen bölgesinin çoğaltılması için gerekli RT-PCR bileşenler ve miktarları

Bileşenler	Hacim (µl)
MgCl ₂ (25mM)	1.25
Taq Buffer (10x)	1.5
dNTP (8 mM)	1.25
H ₂ O	11.45
Taq DNA polimeraz (5'u/µl)	0.2
<i>ftsZ</i> Fwd. (10 pmol)	0.3
<i>ftsZ</i> Rev. (10 pmol)	0.3
<i>ftsZ</i> Prob (10 pmol)	0.01
<i>Aktin</i> Fwd. (10 pmol)	0.2
<i>Aktin</i> Rev. (10 pmol)	0.2
<i>Aktin</i> Prob (10 pmol)	0.2
Örnek (Template DNA)	3

Çizelge 3.3. *Aktin* ve *ftsZ* genini çoğaltmak için kullanılan RT-qPCR programı

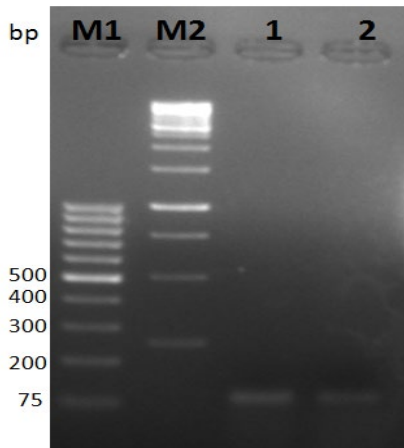
PCR		Sıcaklık (°C)	Süre (Saniye)	Döngü Sayısı
	Step 1	95 °C	20 s	40 döngü
	Step 2	57 °C	45 s	1 döngü

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Optimize edilmiş qRT-PCR şartlarında yapılan PCR testine ait agaroz jel görüntüsü (Şekil 4.1) her iki hedefin de beklenen büyüklükte ürün oluşturduğunu göstermiştir. Ayrıca jel görüntüsü incelendiğinde beklenen ürünler dışında başka herhangi bir amplifikasyona (“artifact”, “smear” vs.) ait bulguya rastlanılmamıştır. Bu durum, kantitatif analizlerin hassasiyeti açısından önemli olup, *Tuta* üzerinde *Wolbachia* yükünü doğru olarak belirlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır. Antalya’nın Aksu, Elmalı, Finike, Kepez, Korkuteli, Kumluca, Muratpaşa ve Serik ilçelerinden toplanan *T. absoluta*’nın 4. dönem larva örneklerinden rastgele seçilen 20 bireyin qRT-PCR testine ait sonuçlar Çizelge 4.1 de verilmiştir. Kalitatif sonuçlar açısından, test edilen tüm popülasyonlarda bütün örneklerin pozitif olduğunu ve dolayısıyla tüm örneklerin *Wolbachia* endosimbiontunu taşıdığına işaret etmiştir. Genel olarak *Wolbachia* ile yüksek bulaşıklık oranı *Tuta absoluta* zararlısı için bilinen ve beklenen bir durumdur.

Çizelge 4.1. Antalya ilinin 8 farklı lokasyonundan toplanan *Tuta absoluta* bireylerinin endosimbiontlarla bulaşıklık durumları

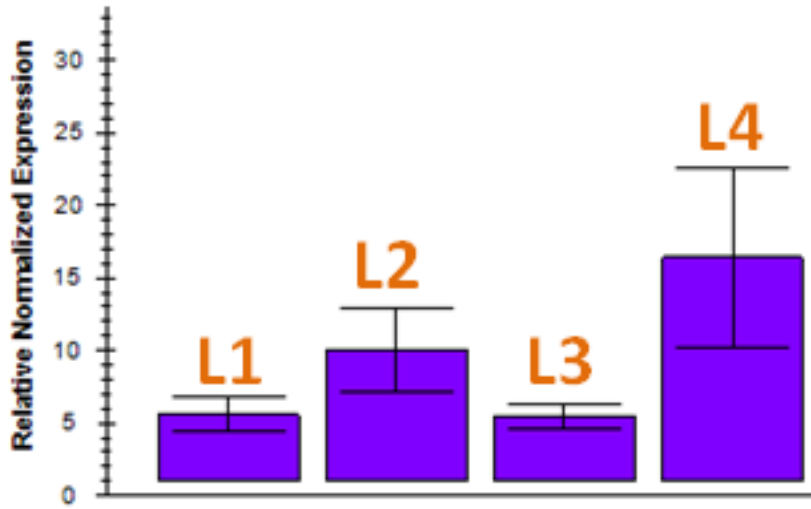
Lokasyon	Kod Adı	Test Edilen Birey Sayısı	<i>Wolbachia</i> Pozitif Çıkan Birey Sayısı
Aksu-Yurtpınar	Aksu 4	20	20
Elmalı-Salur	Elmalı 2	20	20
Finike-Turunçova	Finike 4	20	20
Kepez-Aşağıkaraman	Kepez 3	20	20
Korkuteli-Çıvgalar	Korkuteli 1	20	20
Kumluca-Karşıyaka	Kumluca 2	20	20
Muratpaşa-Topçular	Merkez 1	20	20
Serik-Töngüşlü	Serik 3	20	20



Şekil 4.1. Agaroz jelde *Aktin* ve *ftsZ* genlerin görüntüsü, M1; 1kb plus DNA markör (Thermo Fisher Scientific), M2; 1kb DNA markör (Thermo Fisher Scientific), 1; *Aktin* PCR ürünü, 2; *ftsZ* PCR ürünü

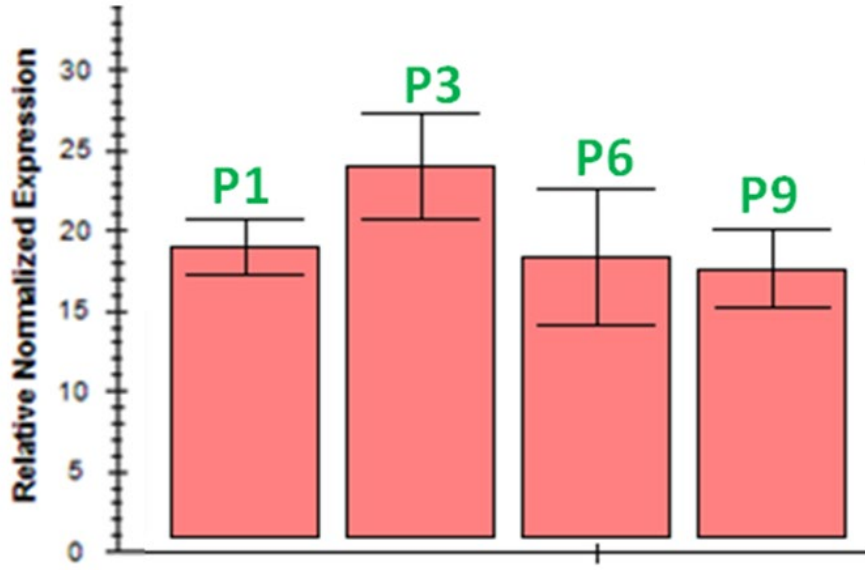
Önceki yıllarda yapılan *T. absoluta* popülasyonlarındaki *Wolbachia* enfeksiyon oranı çalışmalarında Güney Afrika'daki %95 ile %100 arasında (Erasmus vd., 2022), Hırvatistan ve Karadağ'da %95 ile %100 arasında (Škaljac vd., 2012) ve Brezilya'daki %70 ile %100 arasında (Carvalho vd., 2018) elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Bu çalışmada, kantitatif olarak bazı farklılıklar gözlemlenmekle birlikte, test edilen tüm domates güvesi örneklerinde %100 *Wolbachia* enfeksiyonu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1.).

Tez çalışması kapsamında, tek bir lokasyondan (Kepez) toplanan domates güvesi örneklerinin her döneme ve yaşa özgü (1, 2, 3 ve 4. dönem larvalar; 1, 3, 6 ve 9 günlük pupalar; 1, 3, 6, 9 günlük erginler) qRT-PCR analizi gerçekleştirilmiştir. *Tuta absoluta* larva evreleri arasındaki *Wolbachia* yoğunlukları Şekil 4.2.'de verilmiştir. Zararlının larva dönemleri arasında *Wolbachia* yoğunluğunun en fazla olduğu dönem, dördüncü dönem larva iken; en düşük *Wolbachia* yoğunluğu birinci ve üçüncü dönem larvalarda tespit edilmiştir. En düşük *Wolbachia* yoğunluğunun, en yüksek yoğunluğun yaklaşık dörtte biri kadar olduğu belirlenmiştir.



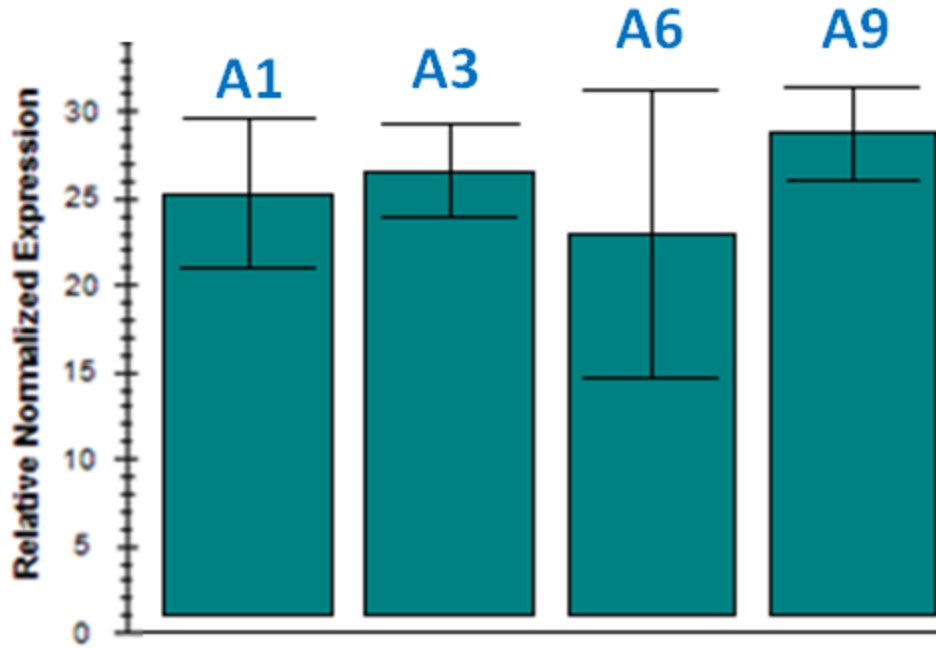
Şekil 4.2. *Wolbachia* yoğunluğunun zararlının larva dönemleri arasındaki stabilitesi L1: 1. dönem larva, L2: 2. dönem larva, L3: 3. dönem larva, L4: 4. dönem larva

Yaşa özel pupa evreleri arasındaki *Wolbachia* yoğunlukları RT-PCR çalışmaları Şekil 4.3.'te verilmiştir. Pupa dönemleri arasında, 1 günlük, 6 günlük ve 9 günlük pupalar arasında *Wolbachia* yoğunlukları açısından belirgin bir fark gözlemlenmemiştir. En yüksek *Wolbachia* yükü 3 günlük pupada tespit edilirken, en düşük *Wolbachia* yükü ise 9 günlük pupada tespit edilmiştir.



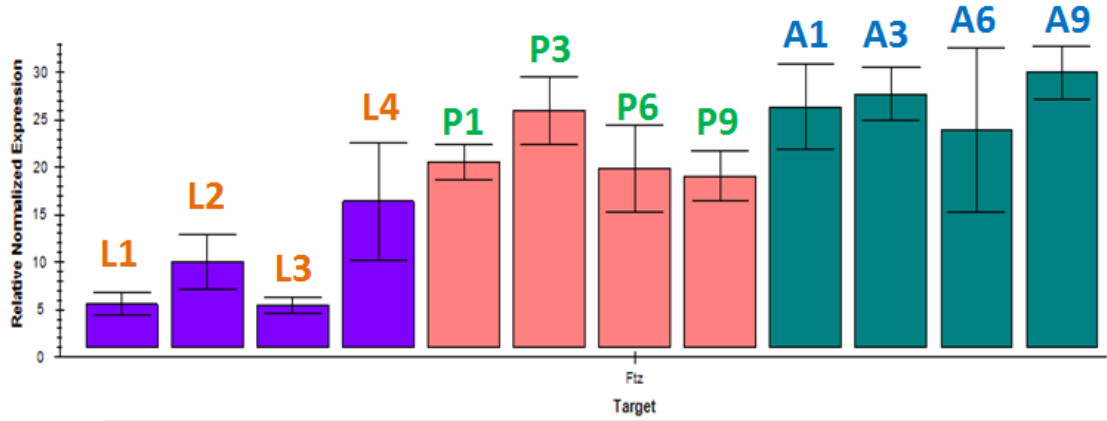
Şekil 4.3. *Wolbachia* yoğunluğunun pupa dönemlerindeki stabilitesi P1: 1 günlük pupa, P3: 3 günlük pupa, P6: 6 günlük pupa, P9: 9 günlük pupa

Yaşa özel ergin evreleri arasındaki göreceli *Wolbachia* yoğunlukları RT-PCR çalışmaları Şekil 4.4.'te verilmiştir. *T. absoluta*'nın en yüksek *Wolbachia* yoğunluğu 9 günlük ergin bireyde, en düşük yoğunluğu ise 6 günlük ergin bireyde tespit edilmiştir. *Wolbachia* yük miktarındaki farkın, zararlının 1 günlük ergin ile 3 günlük ergin evreleri arasında en düşük seviyede olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.4. *Wolbachia* yükünün ergin dönemlerindeki stabilitesi A1: 1 günlük ergin, A3: 3 günlük ergin, A6: 6 günlük ergin, A9: 9 günlük ergin

Real-Time PCR sonuçlarının tamamı bir arada genel olarak değerlendirildiğinde; aynı lokasyondan toplanan örneklerde *Wolbachia* yük miktarının en çok larva dönemleri arasında değişkenlik gösterdiğini, larvalar arasında en fazla *Wolbachia* yoğunluğunun ise dördüncü dönem larvada görüldüğü belirlenmiştir (Şekil 4.5.). Pupa ve ergin dönemlerinde ise neredeyse *Wolbachia* yük miktarının sabit kaldığı, ancak larva dönemlerinden bariz şekilde yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca, böceğin biyolojik evreleri incelendiğinde, böceğin gelişimi ilerledikçe *Wolbachia* yoğunluğunun da arttığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.5. *Wolbachia* yükünün *T. absolute*'nin biyolojik dönemindeki değişkenliği L1: 1. dönem larva, L2: 2. dönem larva, L3: 3. dönem larva, L4: 4. dönem larva, P1: 1 günlük pupa, P3: 3 günlük pupa, P6: 6 günlük pupa, P9: 9 günlük pupa, A1: 1 günlük ergin, A3: 3 günlük ergin, A6: 6 günlük ergin, A9: 9 günlük ergin

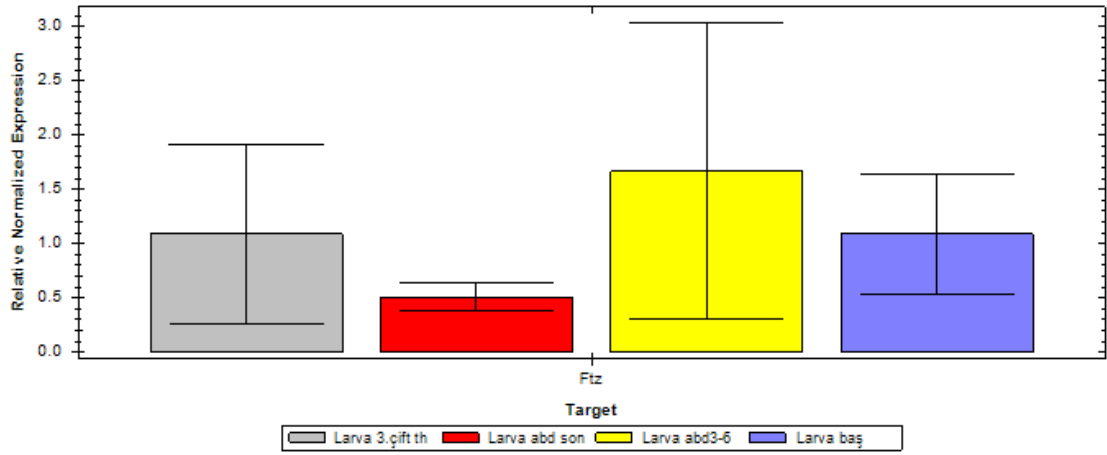
Lu vd. (2019), *Tribolium confusum* üzerindeki çalışması ile bu çalışma kapsamındaki *T. absolute* üzerindeki araştırma arasında bazı önemli benzerlikler ve farklılıklar bulunmaktadır. Her iki çalışma da *Wolbachia* enfeksiyon yoğunluğunu incelemekte ve bu yoğunluğun gelişim evrelerine göre değişimini gözlemlemektedir. *Tribolium confusum* üzerinde yapılan çalışmada, böceğin farklı gelişim evrelerindeki *Wolbachia* yoğunluğu, böcek başına düşen wsp kopya sayısı kullanılarak incelenmiş ve sonuçlar, *Wolbachia* popülasyonunun konukçunun gelişimi ile paralel olarak sürekli bir artış gösterdiğini ortaya koymuştur. Özellikle ergin böceklerde, çıkıştan 5 gün sonra, *Wolbachia* yoğunluğunun en yüksek seviyeye ulaştığı belirlenmiştir. Bu çalışma, cinsiyetin *Wolbachia* yoğunluğuna etkisini de göstermektedir; dişilerin pupa evresinde erkeklere göre daha yüksek *Wolbachia* yoğunluğuna sahip olduğu tespit edilmiştir. Bir diğer yandan, *T. absolute* üzerinde yapılan çalışmada da TaqMan prob kantitatif PCR tekniği kullanılarak yapılan analizler sonucunda, *Wolbachia* yük miktarının en çok larva dönemleri arasında değişkenlik gösterdiği ve en yüksek yoğunluğun dördüncü dönem larvada bulunduğu saptanmıştır. Pupa ve ergin dönemlerinde ise *Wolbachia* yük miktarının neredeyse stabil bir artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Ancak, bu çalışmada *T. absolute*, gelişim evreleri arasındaki cinsiyet farkı gözlemlenmemiştir. Bu durum, *Wolbachia* enfeksiyon dinamiklerinin cinsiyetle ilişkili olabileceğini gösteren Lu vd. (2019) bulgularıyla farklılık göstermektedir. Sonuç olarak, her iki çalışma da *Wolbachia* enfeksiyon dinamiklerinin konukçu gelişim evreleri ile ilişkilendirilmesine katkıda bulunmuştur. Ancak, *T. absolute* üzerindeki araştırmanın cinsiyet faktörünü göz önüne

alınmamış, olması *Wolbachia* yoğunluğu üzerinde daha kapsamlı ve doğru sonuçlara ulaşma potansiyelini sınırlamaktadır. Bu nedenle, gelecekteki araştırmaların cinsiyet farkını gözlemleyerek *Wolbachia* enfeksiyon dinamiklerini daha derinlemesine incelemesi, daha bütüncül bir anlayış elde edilmesine katkıda bulunacaktır.

Ali vd. (2018), *Brontispa longissima*'nın her gelişimsel evresi için yumurta, larva, pupa, ergin dişi ve ergin erkek de enfeksiyon yoğunluğunun kantitatif olarak belirlemek amacıyla en az üç biyolojik tekrarlı testleme yapılmıştır. qRT-PCR analiz sonuçları, *Wolbachia* enfeksiyon yoğunluklarının farklı gelişim evreleri arasında önemli ölçüde değişiklik gösterdiğini ortaya koymuştur. Enfeksiyon yoğunluğu yumurtalarda ve erginlerde larva ve pupalara kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada ise *T. absoluta* üzerine yapılan çalışmada, TaqMan prob kantitatif PCR tekniği ile *Wolbachia* yük miktarının biyolojik dönemler arasında değişiklik gösterdiği saptanmıştır. Analizler, *Wolbachia* yoğunluğunun özellikle larva dönemlerinde farklılık gösterdiğini ve en yüksek yoğunluğun dördüncü larva döneminde bulunduğunu ortaya koymuştur. Pupa ve ergin dönemlerinde ise *Wolbachia* yükünün nispeten sabit bir artış eğilimi sergilediği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, her iki zararlının biyolojik dönemleri boyunca *Wolbachia* enfeksiyon dinamiklerinin değişkenlik gösterdiğini göstermektedir.

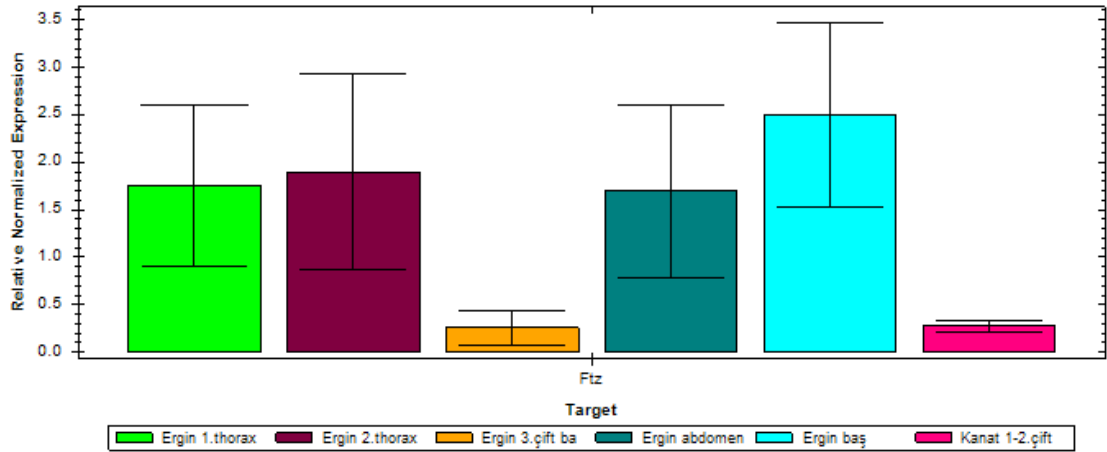
Tez çerçevesinde yapılan diğer bir çalışmada, *T. absoluta*'nın dördüncü dönem larvası, 5 tekerrürlü olacak şekilde vücut kısımlarına ayrılmış ve kategorize edilmiştir. Örnekler, qRT-PCR analizi yapılmıştır. Analiz sonuçları Şekil 4.6. incelendiğinde, *T. absoluta*'nın dördüncü dönem larvasının vücut kısımlarındaki *Wolbachia* yoğunluğu, en yüksek larva abdomenin 3-6. segmentlerinde olup, *Wolbachia* yoğunluğu en düşük larva abdomenin son segmentinde bulunmuştur.

Yapılan çalışmada dördüncü dönem larvanın vücut kısımları arasında 3 çift toraks segmenti ile baş kısmındaki *Wolbachia* yoğunluğu birbirine yakın olup aralarında belirgin bir fark gözlemlenmemiştir. Bununla birlikte, larvanın abdomeninin 3-6. segmentinin *Wolbachia* yoğunluğu, larva abdomen son segmentinin *Wolbachia* yoğunluğundan üç kata kadar fazladır ve analiz sonuçlarında *Wolbachia* yoğunluğu arasında büyük bir farklılık tespit edilmiştir. *T. absoluta*'nın larva baş ve larva 3 çift toraks bacağının *Wolbachia* yoğunluğunun miktarı birbirine yakın olmakla beraber larva abdomenin son segmentinin iki katı kadardır. *T. absoluta*'nın larva başı ile larvanın 3 çift toraks bacaklarındaki *Wolbachia* yoğunlukları birbirine yakın olup, larvanın abdomeninin son segmentindeki yoğunluğun yaklaşık iki katı olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.6. *T. absoluta*'nın 4. dönem larva döneminin vücut segmentlerindeki *Wolbachia* yükünün değişkenliği

Tuta absoluta'nın ergin dönemi, üç tekerrürlü olacak şekilde vücut dokularına ayrılmış, kategorize edilmiş ve qRT-PCR ile analizleri yapılmıştır. Analiz sonuçları Şekil 4.7. incelendiğinde *T. absoluta*'nın ergin dönemindeki vücut kısımlarındaki *Wolbachia* yoğunluğu, en yüksek ergin baş kısmında bulunmuştur. En düşük *Wolbachia* yoğunluğu ise 1-2. çift kanat, erginin 3 çift bacağına bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar *Wolbachia* yoğunluklarının hemen hemen aynı değerler olduğunu göstermiştir. Ergin baş *Wolbachia* yoğunluğu ergin 3 çift bacak ve 1-2. çift kanatın miktarından 8 kat fazla bulunmuştur. Bununla birlikte ergin 1. toraks segmenti, ergin 2. toraks segmenti ve ergin abdomen segmentinin *Wolbachia* yoğunluğu ergin 3 çift bacak ile 1-2. çift kanatın yoğunluğundan 6 kat fazla olduğu tespit edilmiştir. Ergin 1. toraks segmenti, ergin 2. toraks segmenti ve ergin abdomen segmentinde *Wolbachia* yoğunlukları ise birbirine yakın değerler göstermiştir.

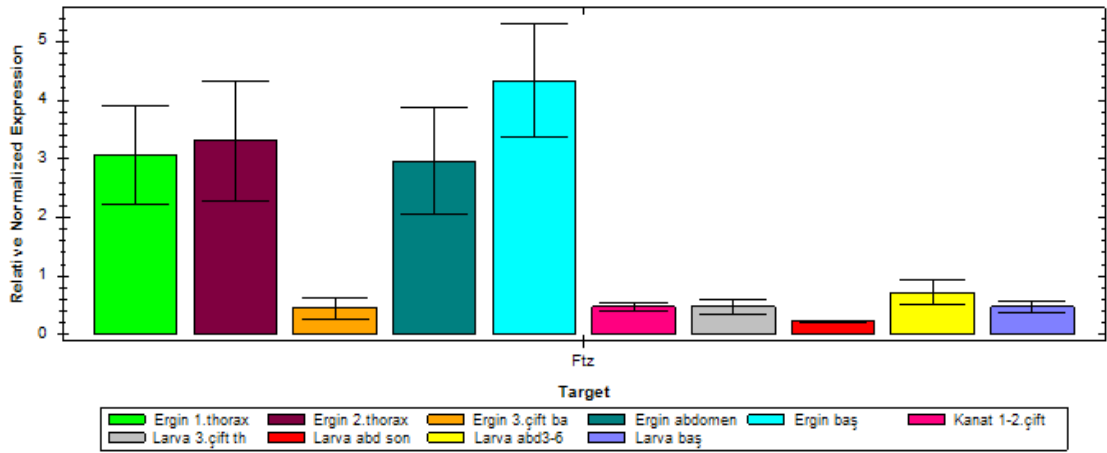


Şekil 4.7. *T. absoluta*'nın ergin döneminin vücut segmentlerindeki *Wolbachia* yükünün değişkenliği

Ali vd. (2018), çalışmasında *B. longissima* ergin döneminde enfeksiyon yoğunluğunun en yüksek abdomen bölgesinde, *T. absoluta* çalışmasında ise ergin baş

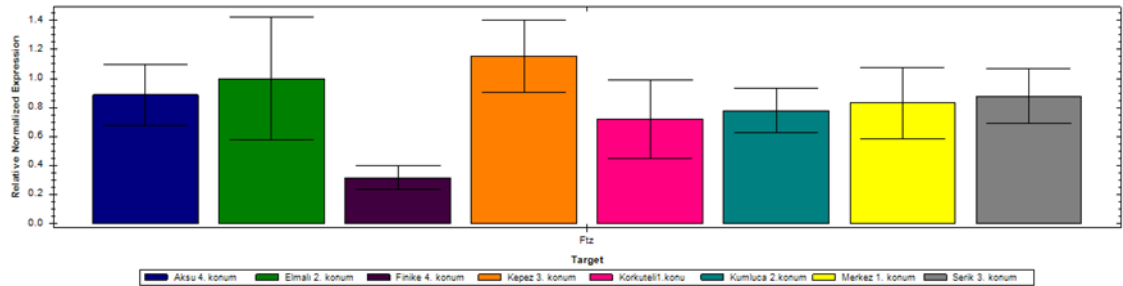
kısımında bulunması, *Wolbachia*'nın farklı konak türlerinde spesifik dağılım stratejileri geliştirmiş olabileceğini göstermektedir. Her iki çalışma, *Wolbachia* enfeksiyon yoğunluğunun zararlı organizmanın farklı vücut bölgeleri ve dokularında belirgin değişiklikler gösterdiğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, her iki çalışmada da enfeksiyon yoğunluğunun belirli bölgelerde yoğunlaşarak kademeli bir azalma seyri izlediği görülmektedir; Ali vd. (2018), çalışmasında enfeksiyon yoğunluğu sırasıyla abdomen bölgesinde en yüksek, ardından üreme dokuları, baş, göğüs ve bağırsak şeklinde raporlanırken, *T. absoluta* çalışmasında bu sıralama baş bölgesinde en yüksek, ardından toraks segmentleri, abdomen, bacak ve kanatlar olarak bildirilmiştir. Ali vd. (2018), *B. longissima*'nın erkek ve dişi bireyler arasında enfeksiyon yoğunluğu açısından anlamlı bir fark olmadığını belirtmiş; *T. absoluta* çalışmasında ise bu konu doğrudan ele alınmasa da benzer yoğunluk değişimleri gözlemlenmiştir. Çalışmalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde, Ali vd. (2018), üreme dokularını yüksek enfeksiyon yoğunluğu ile ilişkilendirmesi dikkat çekerken, *T. absoluta* çalışması üreme dokularını değerlendirmemiş, yoğunluğu baş ve ekstremiteler gibi diğer vücut bölgelerine odaklanmıştır. Ayrıca, *T. absoluta* çalışmasında, baş bölgesindeki *Wolbachia* yoğunluğunun bacak ve kanatlara göre 8 kat fazla bulunması gibi daha belirgin yoğunluk farklarının raporlanması, enfeksiyonun belirli bölgelere yönelik baskın dağılım stratejilerinin detaylı analizini gerektirmektedir. Bu bağlamda, her iki çalışma *Wolbachia*'nın konak türüne ve fizyolojisine bağlı olarak farklılık gösteren adaptasyon stratejilerini vurgulamaktadır.

Vücut bölümleri ile yapılan qRT-PCR analiz sonuçları bir arada Şekil 4.8.'de sunulmuştur. *T. absoluta*'nın ergin ve larva dönemindeki vücut kısımlarındaki *Wolbachia* yoğunluğunun en yüksek miktarı ergin baş kısmında bulunmuştur. Zararlının ergin ve larva dönemindeki *Wolbachia* yük miktarına bakıldığında en az larva abdomenin son segmentin de olduğu görülmüştür. *T. absoluta*'nın ergin ve larva vücut kısımlarındaki *Wolbachia* yük miktarlarına ilişkin analiz sonuçlarına göre, erginin 3 çift bacağı, 1-2. çift kanadı, larvanın 3 çift toraks segmenti ve baş kısmındaki *Wolbachia* yoğunlukları birbirine yakın bulunmuştur. Ancak, larvanın abdomeninin 3-6. segmentlerindeki yoğunluk bu değerlere kıyasla daha yüksek tespit edilmiştir. Bununla birlikte, erginin 1. toraks segmenti, 2. toraks segmenti ve abdomen segmentlerindeki *Wolbachia* yük miktarları, önceki değerlere kıyasla yaklaşık 10 kat daha fazla bulunmuştur.



Şekil 4.8. *T. absoluta*'nın ergin ve larva döneminin vücut segmentlerindeki *Wolbachia* yükünün değişkenliği

Antalya'nın 8 farklı ilçesinden temin edilen *T. absoluta*'nın 4. dönem larva örnekleriyle yapılan qRT-PCR analiz sonuçları Şekil 4.9'de görülmektedir. *Wolbachia* yük miktarları kıyaslandığında, en fazla yük miktarının Kepez lokasyonundan toplanan bireylerde, en az yük miktarının ise Finike lokasyonundan toplanan bireylerde tespit edildiği, en fazla yük miktarının, en düşük yük miktarına sahip lokasyondan yaklaşık 3 kat fazla olduğu görülmüştür. Korkuteli, Kumluca, Merkez ve Serik lokasyonlarındaki *Wolbachia* yoğunlukları birbirlerine yakın olup, bu popülasyonların *Wolbachia* yük miktarları Finike popülasyonu ile karşılaştırıldığında yaklaşık 2,5 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.9. *T. absoluta*'nın farklı lokasyonlardaki *Wolbachia* yükünün değişkenliği

Endosimbiyontların detoksifikasyon yetenekleri ve hızlı evrim süreçleri göz önüne alındığında, konukçularında oluşan pestisit direncine katkı sağladıkları düşünülmektedir (Su vd., 2013). *Wolbachia* ve *Rickettsia*, yaygın böcek fakültatif simbiyontlarıdır (Anderson ve Karr, 2001). Bu iki simbiyont türü, böceklerin yalnızca partenogeneziyle ilişkili olmayıp, aynı zamanda insektisit direnci ile de ilişkilidir (Kontsedalov vd., 2008; Li vd., 2018). Simbiyotik aracılı insektisit direnci ve duyarlılığı, böcek türlerine, simbiyont türlerine ve kimyasal bileşiğe göre değişiklik göstermektedir (Liu ve Guo, 2019). Domates güvesinde insektisit direncinin ülkemizde (Yalçın vd., 2015) ve dünya genelinde (Roditakis vd., 2013) çok yaygın olması ve mevcut çalışmadaki *Wolbachia* simbiyontunun yoğunluklarının bu durumla paralellik göstermesi, bu görüşleri desteklemektedir.

Batı Akdeniz Bölgesi'nden Antalya, Isparta, Muğla ve Burdur illerinde 11 lokasyondan toplanan 55 adet *T. absoluta* bireylerinde *Wolbachia*'nın, denize yakın yer alan Antalya ve Muğla illerinde Isparta ve Burdur illerine göre daha yüksek enfeksiyon oranlarında olduğunu tespit edilmiştir (Kavak ve Koçak, 2023). *T. absoluta*'da endosimbiyontlardan *Spiroplasma* ve *Rickettsia* ilk olarak saptanmış ve domates güvesi popülasyonlarında *Wolbachia*, *Rickettsia* ve *Spiroplasma* bulunma oranları sırasıyla %76,3, %78,1 ve %90,9 oranlarında yüksek ölçüde enfeksiyon olduğu belirlenmiştir (Kavak ve Koçak, 2023). Bu yüksekisans tez çalışmada, Antalya ilinin farklı lokasyonlarından toplanan örneklerde *Wolbachia* endosimbiontu belirlenmesi yönüyle benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte enfeksiyon oranının yüksekliği *Wolbachia* için %100 belirlenmesiyle farklılık göstermiştir.

5. SONUÇLAR

Yapılan çalışmalarda da görüldüğü üzere Türkiye’de ve dünyanın farklı bölgelerinde *Tuta absoluta* popülasyonlarında *Wolbachia* sp.’nin varlığı veya yokluğuna yönelik çok sayıda rapor bulunmaktadır. Fakat, *T. absoluta* popülasyonların ya da farklı dönemlerinin ne kadar *Wolbachia* sp. miktarı taşıdığı yönünde literatürde herhangi bir metodoloji veya sonuca rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, Antalya’nın farklı lokasyonlarından toplanan domates güvesinin farklı biyolojik dönemlerinin hepsinde *Wolbachia* endosimbiontu ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir. *Tuta absoluta*’da kantitatif *Wolbachia* tespit tekniğini geliştirilmiş ve optimize edilmiştir. RT-qPCR, konukçu-endosimbiont yoğunluklarının kantitatif ölçümünü elde etmek için büyük bir öneme sahiptir. RT-qPCR’nin diğer klasik metotlara yüksek tekrarlanabilirli ve test örnekleri arasında kontaminasyon riskinin azalması önemli fayda sağlanmıştır. *Tuta absoluta*’da farklı biyolojik dönemlerinde yaşa özgü *Wolbachia* yoğunlukları ilk kez tespit edilmiştir. *T. absoluta* gelişim aşamalarından larva ve erginde dokuya özgü *Wolbachia* yoğunluğu ilk kez tespit edilmiştir.

Çalışmada, *T. absoluta*’nın hem larva hem de ergin dönemlerindeki *Wolbachia* yoğunluğunun vücut bölümlerine göre farklılık gösterdiğini, özellikle segmentleri arasında belirgin farklar olduğunu ortaya koyulmuştur.

Domates yaprak güvesine karşı mikroorganizmaların kullanımı, alternatif bir biyolojik mücadele stratejisi olarak öne çıkmaktadır. *Wolbachia* yoğunluğunun ergin domates yaprak güvesinin üreme sistemi, bağırsak dokuları ve yumurta bakteriyel topluluklarının önemli ve geniş bir çeşitliliğe sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bu çeşitlilik, simbiyotik mikroorganizmalar perspektifinden, domates yaprak güvesinin istilacı potansiyelini analiz etme ve mikrobiyal temelli biyolojik mücadele tekniklerinin geliştirmesine yönelik yeni yaklaşımlar ve yöntemler sağlayabilir.

Tuta absoluta’nın biyolojik dönemler arasındaki farklılığını ve vücut dokularındaki *Wolbachia* yoğunluğunu dünya literatürüne sunan ilk çalışma olarak sonraki çalışmalara katkıda bulunacaktır.

Domates güvesinin geniş popülasyonlarında mevsimsel *Wolbachia* yoğunluklarının araştırılmasına, *Wolbachia*’nın *T. absoluta*’dan olası eliminasyonu ve bunun zararlının biyolojisi ve ekolojisi üzerindeki sonuçlarının daha fazla araştırılmasına ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

- Alaca, B., Egesel, B., Figen, E. F. İ. L., Dönmez, T., ve Ergin, F. 2018. Çanakkale’de domates güvesi [*Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)]’ne karşı biyoteknik mücadele çalışması. *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 6, 97-105.
- Ali, H., Muhammad, A. and Hou, Y. 2018. Infection density dynamics and phylogeny of *Wolbachia* associated with coconut hispine beetle, *Brontispa longissima* (Gestro) (Coleoptera: Chrysomelidae), by multilocus sequence type (MLST) genotyping. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(5), 796–808.
- Anderson, C.L., and Karr, T.L. 2001. *Wolbachia*: evolutionary novelty in a rickettsial bacteria. *BMC Evolutionary Biology*. Epub 2001 Nov 9. PMID: 11734058; PMCID: PMC60491.
- Anonim. 2021. “Domates Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele”, Ankara: Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı.
- Apablaza, J. 1992. La polilla del tomate y su manejo. *Tattersal*, 79, 12-13.
- Bai, Y. and Lindhout, P. 2007. Domestication and Breeding of Tomatoes: What have We Gained and What Can We Gain in the Future. *Annals of Botany*, 100(5), 1085.
- Başpınar, H., Yıldırım, E. M. ve Şenel, M. 2016. Domates güvesi, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae)’nın mücadelesinde zararlı ile bulaşık yaprakların ortamdan uzaklaştırılması ve azadirachtin uygulamasının birlikte etkisinin araştırılması. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 5(2), 111-120.
- Breeuwer, J.A.J., Stouthamer, R., Barns, S.M., Pelletier, D.A., Weisburg, W.G. and Werren, J.H. 1992. Phylogeny of cytoplasmic incompatibility microorganisms in the parasitoid wasp genus *Nasonia* (Hymenoptera: Pteromalidae) based on 16S ribosomal DNA sequences. *Insect Molecular Biology*, 1(1), 25-36.
- Breitschwerdt, E.B. 2007. Canine and feline anaplasmosis: emerging infection diseases. 2nd Companion Vector-Borne Diseases Symposium, 6-14.
- Bulut, E. ve Göçmen, H. 2000. Pests and their natural enemies on greenhouse vegetables in Antalya. Pests and their natural enemies on greenhouse vegetables in Antalya, 23(1), 33-37.
- Canbay, A., Bozbek, Ö., Alıcı, H. ve Çakırbey, İ.F. 2011. Erzincan ili örtüaltında yetiştirilen domates ve hıyarlarda görülen zararlı türlerin tespiti ve popülasyon gelişimi. *Bitki Koruma Bülteni*, 51(2): 119-146.
- Carvalho, G. A., S. Corrêa, A., de Oliveria, L. O., Chediak, M., Siqueira, H. Á. A. and Guedes, R. N. C. 2018. *Wolbachia* strains, and lack of genetic diversity and parthenogenesis in Brazilian populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Applied Entomology*, 142: 905-910.
- Chiel, E., Kelly, S. E., Harris, A. M., Gebiola, M., Li, X., Zchori-Fein, E., and Hunter, M.S. 2014. Characteristics, Phenotype, and Transmission of *Wolbachia* in the Sweet Potato Whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae), and Its Parasitoid *Eretmocerus* sp. nr. *Emiratus* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Environmental Entomology*, 43(2), 353-362.

- Cocco, A., Deliperi, S., Lentini, A., Mannu, R. and Delrio, G. 2015. Seasonal phenology of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in protected and open-field crops under Mediterranean climatic conditions. *Phytoparasitica*, 43(5): 713-724.
- Coelho, M.C.F. and França, F.H. 1987. Biologia e quemotaxia da larva e descrição da pupae adulto da traça-do-tomateiro. *Pesqui Agropecu Brasil*, 22:129-135.
- Cuthbertson, A.G.S., Mathers, J.J., Blackburn, L.F., Korycinska, A., Luo, W., Jacobson, R.J. and Northing, P. 2013. Population development of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) under simulated UK glasshouse conditions. *Insects*, 4(2):185-197.
- Desneux, N., Wajnberg, E., Kris, A.G., Wyckhuys Burgio, G., Arpaia, G., Vasques, C., Cabrera, J., Ruescas, D., Tabone, E., Fransom, J., Pizzol, J., Cabello, T. and Urbaneja, A. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of Pest Science*, 83: 197-215.
- Doyle, J. J. and Doyle, J. L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue.
- EPPO Global Databases, “*Tuta absoluta* [online]. <https://gd.eppo.int/taxon/GNORAB> [Son erişim tarihi: 05.10.2024].
- Erasmus, R., van den Berg, J., and du Plessis, H. 2022. *Wolbachia* strains associated with *Tuta absoluta* in South Africa: lack of genetic diversity and parthenogenesis. *Entomologia Generalis*, 42(5).
- Erlor, F., Can, M., Erdoğan, M., Ateş, A.Ö. and Pradier, T. 2010. New Record of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) on Greenhouse-Grown Tomato in Southwestern Turkey (Antalya). *Journal of Entomological Science*. 45(4): 392-393.
- Estay, P. 2000. Polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick) [en línea]. Santiago: Informativo INIA La Platina. no. 9. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.14001/4505> [Son erişim tarihi: 05.10.2024].
- Fernandez, S. and Montagne, A.1990. Biologica del Minador del Tomate, *Scrobipalpula absoluta* (Meyick). *Boletín de entomología venezolana*, 5 (12): 89-99.
- Garzia, G. T. 2009. *Physalis peruviana* L. (Solanaceae), A Host Plant of *Tuta absoluta* in Italy. *IOBC/WPRS Bulletins*, 49: 231-232.
- Ge, C., Hu, J., Zhao, Z., Hoffmann, A. A., Ma, S., Shen, L., Fang, J., Zhu, J., Yu, W. and Jiang, W. 2020. Phylogeny and Density Dynamics of *Wolbachia* Infection of the Health Pest *Paederus fuscipes* Curtis (Coleoptera: Staphylinidae). *Insects*, 11(9), 625.
- Guimapi, R.Y.A., Mohamed, S.A., Okeyo, G.O., Ndjomatchoua, F.T., Ekesi, S. and Tonnang, H.E.Z. 2016. Modeling the risk of invasion and spread of *Tuta absoluta* in Africa. *Ecological Complexity*, 28: 77-93.
- Güz, N., Koçak, E., Akpınar, E., Gürkan, M. O. and Kılınçer, A. N. 2012. *Wolbachia* infection in *Trissolcus* species (Hemiptera: Scelionidae). *European Journal of Entomology*, 109, 167-174.

- Heddi, A., Charles, H. and Khatchadourian, C. 2001. Intracellular bacterial symbiosis in the genus *Sitophilus*: the ‘biological individual’s concept revisited. *Research Microbiology*, 152, 431–437.
- Heddi, A., Grenier, A. M., Khatchadourian, C., Charles, H. and Nardon, P. 1999. Four intracellular genomes direct weevil biology: Nuclear, mitochondrial, principal endosymbiont, and Wolbachia. *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA* Volum 96, 6814–6819.
- Karut, K. and Tok, B. 2014. Secondary endosymbionts of Turkish *Bemisia tabaci* (Gennadius) populations. *Phytoparasitica*, 42, 413–419.
- Kavak, M. ve Koçak, E. 2023. Batı Akdeniz Bölgesi Domates Güvesi *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) Popülasyonlarında Endosimbiont Bakteri Türlerinin Belirlenmesi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(1), 1-4.
- Kaya, Y., Al-Remi, F., Arvas, Y. E. ve Durmuş, M. 2018. Domates Bitkisi ve in Vitro Mikro Çoğaltımı (Tomato Plant and Its In Vitro Micropropagation). *Journal of Engineering Technology and Applied Sciences*, 3(1), 57–73.
- Kılıç, T. 2010. First record of *Tuta absoluta* in Turkey. *Phytoparasitica*, 38(3), pp.243-244.
- Kılıç, T. 2011. Domates Güvesi *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Bornova Ziraî Mücadele Araştırma Enstitüsü, Bornova İzmir.
- Kikuchi, Y. and Fukatsu, T. 2003. Diversity of *Wolbachia* Endosymbionts in Heteropteran Bugs. *Applied Environmental Microbiology*, 69, 6082–6090.
- Koçak, E. 2020. Süne (*Eurygaster integriceps*)’de *Wolbachia* Varlığı. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 180-185.
- Koçak, E. ve Ertürk, Ş. 2019. Türkiye’de Testere Böcek (*Oryzaephilus surinamensis* L. Coleoptera, Silvanidae) Popülasyonlarında Endosimbiont Bakterilerin Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14(1), 126-133.
- Korycinska, A. and Moran, H. 2009. Plant Pest Notice: South American Tomato Moth, *Tuta absoluta* (No. 56). pp. 1-4. Department for Environment, Food and Rural Affairs, *Food and Environment Research Agency* (Fera).
- Krechmer, F.D.S. and Foerster, L.A. 2015. *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae): Thermal requirements and effect of temperature on development, survival, reproduction and longevity. *European Journal of Entomology*, 112(4), 658-663.
- Kontsedalov, S., Fein, E. Z., Chiel, E., Gottlieb, Y., Inbar, M. and Ghanim, M. 2008. The presence of *Rickettsia* is associated with increased susceptibility of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides. *Pest Management Science*, 64(8), 789-792.
- Li, Y. Y., Fields, P. G., Pang, B. P., Coghlin, P. C. and Floate, K. D. 2015. Prevalence and diversity of *Wolbachia* bacteria infecting insect pests of stored products. *Journal of Stored Products Research*, 62, 93-100.

- Li, Q., Fan, J., Sun, J. X., Wang, M. Q., and Chen J. L. 2018. Effect of the secondary symbiont *Hamiltonella* defensa on fitness and relative abundance of *Buchnera aphidicola* of wheat aphid, *Sitobion miscanthi*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 582.
- Liu, X. D. and Guo, H. F. 2019. Importance of endosymbionts *Wolbachia* and *Rickettsia* in insect resistance development. *Current Opinion in Insect Science*, 33, 84-90.
- Lopez, E. 1991. "Polilla del tomate: Problema critico para la rentabil-idad del cultivo de verano", *Empresa y Avance Agri cola*, 1, 6-7.
- Lu, Y., Miao, S., Wang, Z. and Wang, S. 2019. Prevalence of *Wolbachia* in 10 Tenebrionidae stored-product insects and spatiotemporal infection dynamics in *Tribolium confusum* (Jaquelin Du Val) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Grain & Oil Science and Technology*, 2(4), 85-90.
- Mehrkhrou, F., Güz, N., Korkmaz, E. M. and Çağatay, N. S. 2021. "Analysis of genetic variation in an important pest, *Tuta absoluta*, and its microbiota with a new bacterial endosymbiont," *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*: Vol. 45: No. 1, Article 10.
- Nawrocka, B. 1999. The bionomics harmfulness and control of the Western Thrips *F. occidentalis* (Pergande) occurring on vegetables grown under glass in Poland. Instytut Warzywnictwa (Research Institute of Vegetable Crops RIVC), 102 p.
- Öngören, K., Kaya, N. ve Türkmen, Ş. 1977. Ege bölgesinde domateslerde zarar yapan Yeşilkurt (*Heliothis armigera* Hübn.) 'un morfolojisi, biyoekolojisi ve mücadelesi üzerinde araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 17(1), 3.
- Öztemiz, S. 2012. Domates Güvesi [*Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae)] ve biyolojik mücadelesi. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 15(4): 47-57.
- Peralta, I. E. and Spooner, D. M. 2019. Peralta and Spooner vol.2.pdf (C. 2, ss. 1-25).
- Pires, L. M., Marques, E. J., Wanderley-Teixeira, V., Teixeira, Á. A. C., Alves, L. C. and Alves, E. S. B. 2009. Ultrastructure of *Tuta absoluta* parasitized eggs and the reproductive potential of females after parasitism by *Metarhizium anisopliae*. *Micron*, 40(2), 255-261.
- Roditakis, E., Skarmoutsou, C., Staurakaki, M., del Rosario Martínez-Aguirre, M., García-Vidal, L., Bielza, P., Haddi, K., Rapisarda, C., Rison, J. L., Bassi, A. and Teixeira, L. A. 2013. Determination of baseline susceptibility of European populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) to indoxacarb and chlorantraniliprole using a novel dip bioassay method. *Pest Management Science*, 69(2), 217-227.
- Stouthamer, R., Breeuwer, J.A. and Hurst, G.D. 1999. *Wolbachia* pipientis: microbial manipulator of arthropod reproduction. *Annual Reviews in Microbiology*, 53(1), 71-102.
- Škaljac, M., Kostanjšek, R. and Žanić, K. 2012. "The Presence of *Wolbachia* in *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) Populations from Coastal Croatia and Montenegro," *African Entomology* 20(1), 191-194.
- Şaki, C. E. ve Şimşek, S. 2014. Bazı sinek (Dizi: Diptera) Türlerinde *Wolbachia* spp'nin PCR ile araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi dergisi*, 20(2): 417 419.

- Su, J., Chow, B., Boulianne, G. L. and Wilde, A. 2013. The BAR domain of amphiphysin is required for cleavage furrow tip-tubule formation during cellularization in *Drosophila* embryos. *Molecular Biology of the Cell*, 24(9): 1444–1453.
- Torres, J.B., Faria, C.A., Evangelista, W.S. and Pratisoli, D. 2001. Within Plant Distribution of Leaf Miner *Tuta absoluta* (Meyrick) Immatures in Processing Tomatoes, with Notes on Plant Phenology. *International Journal of Pest Management*, 47 (3) :173-178.
- Tunçbilek, A. S. and Bakir, S. 2016. Bacteria associated with *Rhagoletis cerasi* (Diptera: Tephritidae). International Conference on Zoology and Zoonoses, October 26-28, Hissar, Bulgaria, 47-49.
- Tunçbilek, A.S., Bakir, S., Derin, I. and Bilbil, H. 2015. Screening of reproductive symbionts of *Sitophilus granarius*, *Sitophilus zeamais* and their parasitoid *Lariophagus distinguendus*. Integrated Protection of Stored Products. *IOBCWPRS Bulletin*, Vol. 111, 511-517.
- TÜİK. 2022. “Türkiye İstatistik Kurumu”, [online]. [https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1\(2022\)](https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1(2022)) [Son erişim tarihi: 05.10.2024].
- TÜİK. 2023. Ürün raporu domates. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı. 32s. [Son erişim tarihi: 14.09.2023].
- Türkmen, K. ve Koçak, E. 2019. Pirinç Biti *Sitophilus oryzae* Popülasyonlarında *Wolbachia*’nın Belirlenmesi. *Yalvaç Akademi Dergisi*, 4(1), 23-31.
- USDA, 2011. Federal Import Quarantine Order for Host Materials of Tomato Leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick). SPRO# DA-2011-12. United States Department of Agriculture, Plant Protection and Quarantine. <http://www.aphis.usda.gov>, [Son erişim tarihi: 05.10.2024].
- Vargas, H. 1970. Observaciones sobre la biología y enemigos naturales de la polilla del tomate, *Gnorimoschema absoluta* (Meyrick) (Lep. Gelechiidae). *Idesia*, 1:75-110.
- Vavre, F., Fleury, F., Lepetit, D., Fouillet, P. and Boule'treau, M. 1999. Phylogenetic Evidence for Horizontal Transmission of *Wolbachia* in Host-Parasitoid Associations. *Molecular Biology and Evolution*, 16(12), 1711–1723.
- Wang, W. X., Zhu, T.-H., Lai, F.-X. and Fu, Q. 2015. Diversity and Infection Frequency of Symbiotic Bacteria in Different Populations of the Rice Brown Planthopper in China. *Journal of Entomological Science*. 50(1), 47-66.
- Yaşarakıncı, N. ve Hıncal, P. 1997. İzmir’de örtü altında yetiştirilen domates, hıyar, biber ve marul da bulunan zararlı ve yararlı türler ile bunların popülasyon yoğunlukları üzerinde araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 37(1–2): 79-89.
- Yıldırım, A., İnci, A., Düzlü, Ö., Önder, Z. and Çiloğlu, A. 2013. Detection and molecular characterization of the *Wolbachia* Endobacteria in the *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) specimens collected from Kayseri province of Turkey. *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 60(3); 189-194.

7. EKLER

Ek.1. Örnekleme yapılan yerlerin lokasyon bilgileri

İlçe	Lokasyon	Kod Adı	GPS Enlem	GPS Boylam	Örneklerin Alındığı Tarih
AKSU	Hacialiler	Aksu 1	36.9455720	30.8342080	19.05.2021
	Hacialiler	Aksu 2	36.936172	30.833738	19.05.2021
	Güzelyurt	Aksu 3	36.941187	30.827504	19.05.2021
	Yurtpınar	Aksu 4	36.998328	30.855648	24.05.2021
ELMALI	Yalnızdam	Elmalı 1	36.7718250	29.8184870	29.08.2021
	Salur	Elmalı 2	36.769936	29.793723	29.08.2021
	Tavullar	Elmalı 3	36.666795	29.844057	29.08.2021
FİNİKE	Sahilkent	Finike 1	36.3367580	30.2065610	12.06.2021
	Sahilkent	Finike 2	36.3446220	30.2065390	12.06.2021
	Sahilkent	Finike 3	36.338034	30.207054	12.06.2021
	Turunçova	Finike 4	36.3351590	30.1414870	12.06.2021
KEPEZ	Yenigöl	Kepez 1	36.96966	30.772350	2.06.2021
	Altıayak	Kepez 2	36.988151	30.744086	3.06.2021
	Aşağıkaraman	Kepez 3	36.907522	30.576514	10.06.2021
	Aşağıkaraman	Kepez 4	36.904294	30.586775	4.06.2022
KORKUTELİ	Çıvgalar	Korkuteli 1	36.958343	29.798176	29.08.2021
	Kayabaş	Korkuteli 2	36.965454	29.810853	29.08.2021
KUMLUCA	Temel Eğitim	Kumluca 1	36.388148	30.294751	12.06.2021
	Karşıyaka	Kumluca 2	36.356755	30.286080	12.06.2021
	Kum	Kumluca 3	36.337813	30.279382	12.06.2021
	Kum	Kumluca 4	36.3266500	30.2890950	12.06.2021
MURATPAŞA	Topçular	Merkez 1	36.887334	30.766879	21.05.2021
SERİK	Kozağacı	Serik 1	36.932595	30.954898	20.05.2021
	Aşağıkocayatak	Serik 2	36.9151050	30.9720880	20.05.2021
	Töngüslü	Serik 3	37.0645980	30.9660590	20.05.2021
	Tekke	Serik 4	37.03134500	30.9614220	20.05.2021
	Abdurrahmanlar	Serik 5	36.9669270	30.9296090	20.05.2021
	Üründü	Serik 6	36.9551620	31.0863010	4.06.2021

ÖZGEÇMİŞ

Dilşan BOYLU

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2020-2024	Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Antalya
Lisans	Ondokuz Mayıs Üniversitesi
2014-2017	Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Samsun

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Ziraat Mühendisi	HEKTAŞ/AREO TOHUM
2021-2023	Tohum Teknoloji Merkezi, Moleküler Biyoteknoloji Laboratuvarı, Antalya
Ziraat Mühendisi	ENZA ZADEN Tarım AR&GE LTD. ŞTİ.
2024- devam ediyor	Biyoteknoloji Departmanı, Doku Kültürü Laboratuvarı, Antalya

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

- Boylu, D., and Onder, H. (2020). Biological Control of Gastrointestinal Helminthes of Livestock. *Black Sea Journal of Engineering and Science*, 3(1), pp.31-37.
- Boylu, D., and Onder, H. (2019). "Honeybee Breeding for *Varroa* Resistance." *Black Sea Journal of Agriculture* 2, no. 1: 63-65.
- Boylu, D. (2020). Physical Methods for Stored Products Pest Management. *Black Sea Journal of Agriculture*, 3(2), 173-177.