



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**TOKAT İLİ TAHİL DEPOLARINDAKİ ZARARLI BÖCEK
TÜRLERİNDE BAZI ENDOSİMBİYOTİK BAKTERİLERİN
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yeşim EROL

Danışman: Doç. Dr. Necibe Canan USTA

TOKAT- 2022

**Bu tez çalışması Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.**

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Doç. Dr. Necibe Canan USTA danışmanlığında hazırlamış olduğum “Tokat İli Tahıl Depolarındaki Zararlı Böcek Türlerinde Bazı Endosimbiyotik Bakterilerin Belirlenmesi” adlı Yüksek Lisans tezinin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

.../.../...

Yeşim EROL

İmza

JÜRİ KABUL VE ONAY

Yeşim Erol tarafından hazırlanan “**Tokat İli Tahıl Depolarındaki Zararlı Böcek Türlerinde Bazı Endosimbiyotik Bakterilerin Belirlenmesi**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 26.08.2022 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

İmzası

Üye (Başkan) : Prof. Dr. Köksal PABUÇCU

.....

Üye : Doç. Dr. Turgut ATAY

.....

Üye : Doç. Dr. Necibe Canan USTA

.....

ONAY

...../...../.....

ÖNSÖZ

Danışmanım Doç. Dr. Necibe Canan USTA'ya, Dr. Kahraman İPEKDAL'a, morfolojik analizler için yardımcı olan Ankara Zirai Dr. Abdullah YILMAZ ve Dr. Yasin Nazım ALPKENT'e, laboratuvar çalışmalarındaki destekleri için Dr. İsmail DEMİR ve Kübra ZENGİN'e teşekkür ederim.

Bu süreci destekleri sayesinde tamamladığım sevgili ailem ve arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

YEŞİM EROL

2022

ÖZET

TOKAT İLİ TAHİL DEPOLARINDA BULUNAN ZARARLI BÖCEKLER TÜRLERİNDE BAZI ENDOSİMBİYOTİK BAKTERİLERİN TARANMASI

Erol, Yeşim

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Danışman: Doç. Dr. Necibe Canan USTA

Ağustos 2022, xii + 42 sayfa

Kimyasal insektisitlerin baskın olduğu güncel zararlı mücadele yöntemlerinin yetersiz kalması ve çevre sağlığına zararlı sonuçları nedeniyle ek yöntemlere ve bütüncül mücadele programlarına ihtiyaç artmaktadır. Zararlı böceklerin fenotiplerinde önemli etkiler oluşturduğu bilinen endosimbiyotik bakterileriyle olan etkileşimleri, mücadele programları için ilgi çekici bir araştırma konusudur. Özellikle mikrobiyota kompozisyonunun bütünsel ve kültüre alınmadan incelemenin mümkün kılındığı moleküler biyoloji yöntemlerinin gelişmesi ve abiyotik faktörlerin kontrol edilebildiği modern depo sistemlerinin kurulması, endosimbiyotik bakterilerin mücadele programlarına dahil edilme potansiyelini artırmaktadır.

Bu çalışmada, depo böceklerinin endosimbiyont bakteri kompozisyonunun anlaşılmasına yardımcı olmak amacıyla, Tokat İli'nin çeşitli ilçelerindeki toplam 13 istasyondan böcek ve tahıl örneği alınmıştır. Böcek örneklerinin morfolojik analizle türlerine ayrılması sonucu toplamda 9 türden oluşan 26 popülasyon elde edilmiştir. Teşhis edilen zararlı böcek türleri; *Cryptolestes ferrugineus* Steph. (Coleoptera: Cucujidae), *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coleoptera: Cucujidae), *Rhizopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrychidae), *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae), *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) , *Sitotroga cerealella* (Oliv.) (Lepidoptera: Gelechiidae) , *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae) ve *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae) 'dur. Elde edilen popülasyonlarda yaygın endosimbiyont bakterileri cinslerinden olan *Wolbachia* ve *Rickettsia* varlığını belirlemek için *Wolbachia* 16S rRNA (wspec) *Rickettsia* 23S rRNA (rb) primerleriyle kurulan PCR sonuçları jelde yürütülmüştür. Jeldeki bant sonuçlarına göre, 26 popülasyonun 25'inde *Wolbachia*, 12'sinde *Rickettsia* cinsi endosimbiyont bakteri varlığı tespit edilmiştir. 13 istasyonun 12'sinde ve 9 böcek türünün hepsinde *Wolbachia* vardır. *Rickettsia* ise yalnızca 7 istasyonda ve 4 türde belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Endosimbiyont bakteri, Depo böcekleri, Tahıl, *Wolbachia*, *Rickettsia*

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF SOME ENDOSYMBIOTIC BACTERIA IN PEST INSECT SPECIES OF STORED GRAINS IN TOKAT CITY

Erol, Yeşim

Master thesis, Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Necibe Canan USTA

August 2022, xii + 42 pages

Due to the inadequacy of current pest control methods dominated by chemical insecticides and their harmful effects on environmental health, the need for additional methods and holistic control programs is increasing. The interaction with endosymbiotic bacteria, which has been determined to have important effects on the phenotypes of pest insects, is an interesting research topic for control programs. In particular, the development of molecular biology methods that enable examination of whole microbiota composition without being cultured and the establishment of modern storage systems in which abiotic factors can be controlled increase the potential to include endosymbiotic bacteria in control programs.

In this study, insect and grain samples were taken from a total of 13 stations from various districts of Tokat Province in order to provide data on the endosymbiont bacterial composition of insects of stored grains. After identification of the species by morphological analysis of these samples, a total of 26 populations consisting of 9 species were obtained. Identified species of pest insects are; *Cryptolestes ferrugineus* Steph. (Coleoptera: Cucujidae), *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coleoptera: Cucujidae), *Rhizopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrychidae), *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae), *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) , *Sitotroga cerealella* (Oliv.) (Lepidoptera: Gelechiidae) , *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae). To determine the presence of *Wolbachia* and *Rickettsia* in the obtained populations, PCR was performed with *Wolbachia* 16S rRNA (wspec) *Rickettsia* 23S rRNA (rb) primers. According to gel results, endosymbiont bacteria of *Wolbachia* genus in 25 and *Rickettsia* genus in 12 of 26 populations were detected. *Wolbachia* was identified in 12 of the 13 stations and in all 9 insect species and *Rickettsia* was observed in only 7 stations and 4 species.

Keywords: Endosymbiont bacteria, Storage pests, Grain, *Wolbachia*, *Rickettsia*

İÇİNDEKİLER

<u>ETİK SÖZLEŞME</u>	iii
<u>JÜRİ KABUL ve ONAY</u>	iii
<u>ÖNSÖZ</u>	iii
<u>ÖZET</u>	iv
<u>ABSTRACT</u>	v
<u>İÇİNDEKİLER</u>	vi
<u>ŞEKİL LİSTESİ</u>	vii
<u>ÇİZELGE LİSTESİ</u>	viii
<u>SİMGELER VE KISALTMALAR</u>	xii
<u>1 GİRİŞ</u>	1
<u>2 KAYNAK ÖZETLERİ</u>	10
<u>3 MATERYAL ve YÖNTEM</u>	14
<u>3.1. Arazi Çalışmaları</u>	14
<u>3.2. Morfolojik Analiz</u>	16
<u>3.3. Laboratuvar Çalışmaları</u>	18
<u>4 BULGULAR ve TARTIŞMA</u>	20
<u>4.1. Bulgular</u>	20
<u>4.2. Tartışma</u>	26
<u>5 SONUÇ ve ÖNERİLER</u>	30
<u>6 KAYNAKÇA</u>	32
<u>7 ÖZGEÇMİŞ</u>	41

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No	Sayfa
Şekil 1.1. Bazı depo böcekleri.....	3
Şekil 1.2. <i>Wolbachia</i> 'nın bölünerek çoğalma esnasındaki görüntüsü	7
Şekil 1.3. <i>Rickettsia conorii conorii</i> 'nin konağının sitoplazmasındaki görüntüsü	7
Şekil 3.1. Numune alınan açık ve kapalı depo alanları.....	14
Şekil 3.2. Teşhis edilen böceklerden mikroskop görüntüsü örnekleri.....	16
Şekil 3.3. Ankara Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Depo Böcekleri Laboratuvarı.....	17
Şekil 4.1. <i>Wolbachia</i> taraması PCR görüntüleri.....	24
Şekil 4.2. <i>Rickettsia</i> taraması PCR görüntüleri.....	25

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1: Yaygın görülen depo zararlıları.....	2
Çizelge 3.1. Numune alınan istasyon bilgileri.....	15
Çizelge 3.2. <i>Wolbachia</i> ve <i>Rickettsia</i> için kurulan PCR içeriği ve cihaz ayarları.....	19
Çizelge 3.3. PCR reaksiyonları için kullanılan primer bilgileri.....	19
Çizelge 4.1. DNA izolasyon sonuçları.....	21
Çizelge 4.2. Böceklerdeki bakteri pozitiflik durumu (Türlere göre).....	22
Çizelge 4.3. Böceklerdeki bakteri pozitiflik durumu (İstasyona göre).....	23

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°	Santigrad derece
%	Yüzde
µl	Mikrolitre

Açıklama

Kısaltmalar

bp	base pair
DNA	Deoksiribonükleik Asit
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
dNTP	Deoksinükleotid trifosfat
ddh ₂ O	Deiyonize su
MgCl ₂	Magnezyum klorür
wsp	<i>Wolbachia</i> yüzey proteini geni

1 GİRİŞ

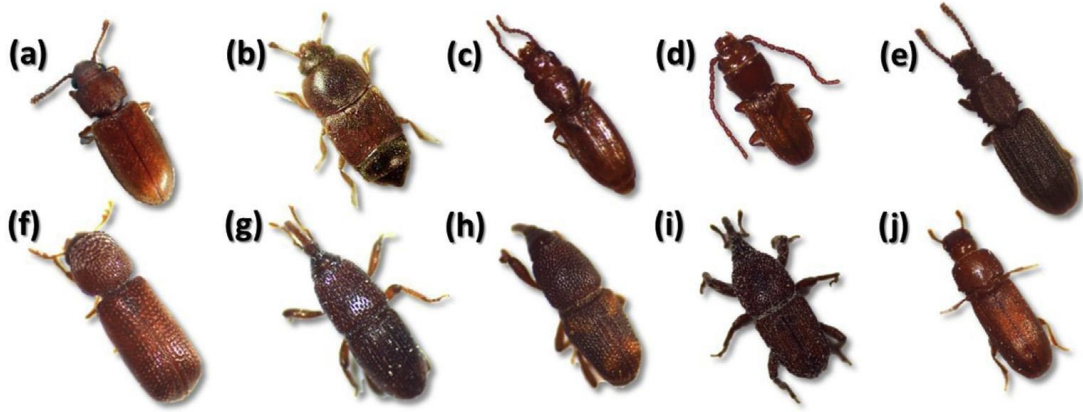
Tarım devrimi sonucu tahıl depolarının kurulmasıyla, bazı böcekler önceki habitatlarını değiştirerek bu depo alanlarında yaşamak üzere adaptasyona uğramışlardır (Obata ve ark., 2011). Böylece, insanların önemli beslenme kaynaklarından biri olan tahılların üzerinde yarıştırmalı bir süreç oluşarak insanların bu depo böcekleriyle mücadele dönemi başlamıştır. Tahıl tarımının başladığı ilk yerlerden biri olan Türkiye’de bugüne dek çoğu Coleoptera takımına ait olan 63 tür depo böceği tespit edilmiştir (Ünal & Koçak, 2019; İpekdağ & Kaya, 2020).

Tahıl depolarında yaygın olarak görülen ve mücadele kapsamına alınan türleri Çizelge 1.1.’de ve bazı türlerinin görselleri Şekil 1.1.’de görülen böcekler, primer ve sekonder zararlı olarak ikiye ayrılırlar. Primer zararlı olarak adlandırılan türleri bütün tahılı besin olarak kullanabilirken, sekonder olanları yalnızca parçalanmış tahıl ve öğüntülerini tüketebilirler (Derin, 2017). Buğday biti, Pirinç biti, kapra böceği, arpa güvesi ve ekin kambur biti primer zararlı grubuna girerken, kırma bitleri, un kurdu, testereli böcek, küçük kırma biti, ekin kara böceği ikinci gruba girerek varlıkları birinci derecedeki zararlılara bağlıdır (Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü).

Çizelge 1.1. Yaygın görülen depo zararlıları (Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü)

Yaygın İsmi	Bilimsel İsmi	Takım/ Familya
Küçük kırma biti	<i>Cryptolestes ferrugineus</i> Steph.	Coleoptera: Laemophloeidae
Değirmen güvesi	<i>Ephestia kuehniella</i> (Zell.)	Lepidoptera: Pyralidae
Boynuzlu böcek	<i>Gnathocerus cornutus</i> Fabr.	Coleoptera: Tenebrionidae
Pirinç kırma biti	<i>Latheticus oryzae</i> Waterh	Coleoptera: Tenebrionidae
Kuru meyve güvesi	<i>Plodia interpunctella</i> (Hubn.)	Lepidoptera: Pyralidae
Ekin kambur biti	<i>Rhyzopertha dominica</i> F.	Coleoptera: Bostrichidae
Testereli böcek	<i>Oryzaephilus surinamensis</i> L.	Coleoptera: Silvanidae
Un güvesi	<i>Pyralis farinalis</i> (L.)	Lepidoptera: Pyralidae
Buğday biti	<i>Sitophilus granarius</i> (L.)	Coleoptera: Curculionidae
Pirinç biti	<i>Sitophilus oryzae</i> (L.)	Coleoptera: Curculionidae
Arpa güvesi	<i>Sitotroga cerealella</i> (Oliv.)	Lepidoptera: Gelechiidae
Un kurdu	<i>Tenebrio molitor</i> (L.)	Coleoptera: Tenebrionidae
Ekin kara ambar böceği	<i>Tenebroides mauritanicus</i> L.	Coleoptera: Trogossitidae
Un biti	<i>Tribolium castaneum</i> (Herbst.)	Coleoptera: Tenebrionidae
Kırma biti	<i>Tribolium confusum</i> (Duval)	Coleoptera: Tenebrionidae
Kapra böceği	<i>Trogoderma granarium</i> Everts	Coleoptera: Dermestidae

Tahıl depo böcekleri, depolanmış tahıl ve tahıl ürünlerine tahıl ağırlığını düşürerek miktar açısından ve besin değerlerini etkileyerek de kalite açısından büyük oranlarda zarar verebilirler ve ekonomik olarak kayıp oluşturabilirler (Lucas & Riudavets, 2000; Park ve ark., 2003). Ayrıca, deponun sıcaklık ve nem miktarını artırarak fungal patojenlerin gelişmesine ve tahılların küflenmesine neden olabilirler (Hardman, 1977; Hill, 2002; Jian ve ark., 2012). Dünya genelinde yalnızca böcekler nedeniyle tahıl depolarında %5 ile %30 arasında kayıp rapor edilmektedir (Prusky ve ark. , 2011; Rajashekar ve ark. 2012).



Şekil 1.1. Bazı depo böcekleri a) *Ahasverus advena*, (b) *Carpophilus obsoletus*, (c) *Cryptolestes ferrugineus*, (d) *C. pusillus*, (e) *Oryzaephilus surinamensis*, (f) *Rhyzopertha dominica*, (g) *Sitophilus granarius*, (h) *S. oryzae*, (i) *S. zeamais*, and (j) *Tribolium castaneum* (İpekdağ ve Kaya, 2022).

Günümüzde iklim krizi nedeniyle zararlı böceklerin aktivitesindeki ve yoğunluğundaki değişimler tarımsal verimi etkilemektedir. İnsan kaynaklı aktivitelerle oluşan bu krizin zararlı böceklerin coğrafik dağılımında, popülasyon dinamiğinde, hayatta kalabilme kapasitelerinde, konak ve doğal düşmanlarıyla olan ilişkilerinde, mücadele tekniklerindeki etkileri gün geçtikçe artmaktadır (Devi, 2019). Bu etkiler sonucunda zararlı böceklerin oluşturdukları zararlar ve bitki koruma masrafları artıp ek ekonomik yük oluşmaktadır (Devi, 2019).

Dünya genelinde tahıl depo ürünlerinin pestisitlerle korunması, depo böceklerinin, kemirgenlerin ve mikroorganizmaların oluşturabileceği yüksek ihtimalli zararlar nedeniyle zorunlu olarak gerçekleştirilmektedir (Padı'na ve ark., 2012). Yoğun insektisit gerekliliği, uygunsuz ve takipsiz kullanımları da beraberinde getirmektedir (Çakır & Yamaner, 2005). Bu kullanımlar nedeniyle böceklerde insektisit direncinin gün geçtikçe arttığı raporlanmaktadır (Emery ve ark., 2003; Kljajić & Perić, 2007; Nguyen ve ark., 2016; Attia ve ark., 2020). Türkiye'nin çeşitli illerinden alınan popülasyonlarla yapılan çalışmalarda da depo tahıl böceklerinin yaygın türlerinde insektisit direncin varlığı gösterilmiştir (Koçak ve ark., 2015; Yılmaz & Kocak,

2016; Yesir & Koçak, 2017; Koçak ve ark., 2018a ; Koçak ve ark., 2018b; Mutlu, 2019). Kullanılan insektisitler predatör, polinatör ve parazitoid gibi hedef dışı canlıları da olumsuz olarak etkilemektedir (Stapel ve ark., 2000, Xu ve ark., 2004) ve kullanılan insektisitlerin bitki tohumunda sitogenetik ve potansiyel mutajenik etkiler yarattığı belirtilen çalışmalar da mevcuttur (Adam ve ark., 2016; Kuchy ve ark.2016). Ayrıca kullanılan kimyasalların evre kirliliği ve toksisite yarattığı raporlanmaktadır (Lu ve ark., 2019; Fu & Zhang, 2020). Dolayısıyla kaçınılmaz olan mücadelenin yalnızca kimyasal yöntemle yapılmasının canlıların komünite yapısını ekolojik ve evrimsel açıdan olumsuz etkilediği görölmektedir (Thangaraj ve ark., 2019; Dângelo ve ark., 2021) ve kimyasal insektisit kullanımı gibi tek yönlü bir mücadele sistemi yerine birçok sistemi kombine eden entegre mücadele sisteminin devreye sokulması gerekmektedir (Dângelo ve ark., 2021). Bu entegre mücadele sistemi için yeni yöntemler geliştirilirken biyolojik mücadele kapsamında böceklerin doğal düşmanları, konakları ve endosimbiyotik bakterileriyle olan etkileşimleriyle ilgili çalışmalar devam etmektedir.

Böcek- Endosimbiyotik Bakteri Etkileşimi

Böceklerde bulunan endosimbiyont bakteriler, konaklarıyla evrimsel süreç içerisinde çeşitli etkileşim içine girerler. Bu etkileşimin geçmişine göre bu endosimbiyotik bakteriler primer ve sekonder olarak ikiye ayrılmaktadır. Primer endosimbiyontların etkileşimi sekonder endosimbiyontlara göre daha önceye dayanmaktadır ve artık konakla ortak türleşme geçirip mutual ve zorunlu bir ilişki içine girmiştir (Wernegreen, 2002). Sekonder olanlar ise fakültatif endosimbiyontlardır ve konağa faydası ve zararı değişkenlik göstermektedir (Baumann, 2000; Güz ve ark., 2015; Liu & Guo, 2019). Bir endosimbiyotik bakterinin faydalı halden zararlı hale geçmesi zaman içerisinde konağın çevresi ve çeşitli ihtiyaçları ya da bakteriden konağa gönderilen çeşitli sinyaller sonucunda hızlı ve göze çarpmayan bir şekilde gerçekleşebilir (Karut ve ark., 2020; McCutcheon ve ark., 2021).

Sekonder endosimbiyontlar çoğunlukla dikey aktarımla aktarılırlar ancak bazı durumlarda yatay aktarım da gerçekleştirdikleri belirlenmiştir (Ahmed ve ark., 2015). Dikey aktarımın gerçekleşebilmesi için sekonder simbiyontlar tipik olarak dişi böceğin üreme organlarının içinde yer alırlar (Semiatizki, 2020). Ayrıca etkileşimlerine göre de çeşitli organın ya da salgının içinde görüldükleri belirlenmiştir (Shi ve ark., 2018).

Sekonder endosimbiyontların konak böcekleri ile etkileşimlerini aydınlatmak üzere devam eden çalışmalarda, konak böceklerin üzerinde beslenme, fizyolojik değişim, virüs taşıma, konak tercihi, biyotip belirlenmesi, sıcaklık toleransı , üreme fizyolojisi, konak- bitki özelleşmesi, konak bitki seçim değeri, insektisit direnci, sindirim fizyolojisi, metabolik etki, vitamin sağlama, predasyon oranı gibi fenotipik özelliklerinde etki sahibi oldukları belirlenmiştir (Güz ve ark., 2015; Ramírez-Cáceres ve ark., 2019; Karut ve ark., 2020; Mohammed ve ark., 2020; Dângelo ve ark., 2021).

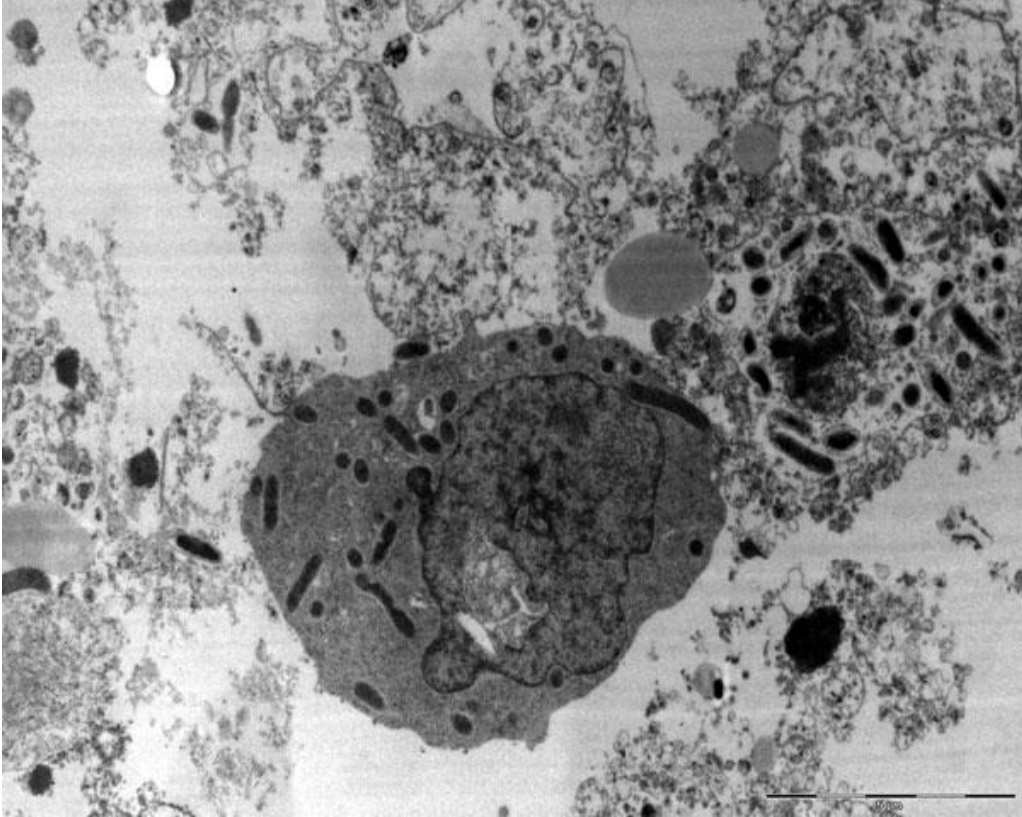
Wolbachia ve *Rickettsia* cinsi endosimbiyont bakteriler, Rickettsiales takımından gelirler ve böceklerde yaygın görülen fakültatif sekonder endosimbiyontların başındadırlar (Jeyaprakash ve ark., 2000; Perlman ve ark., 2006). *Rickettsia*'nın karasal artropod türlerinin %25'nde, *Wolbachia*'nın ise %50 oranında bulunduğu tahmin edilmektedir. (Weinert ve ark., 2015).

Wolbachia alfa-proteobakteri sınıfındandır ve sekiz kladı bulunmaktadır. Gram negatif bir bakteri olan *Wolbachia*'nın boyu 0,8-1,5 µm uzunluğunda değişebilmektedir (Merçot & Poinot, 2009; Derin, 2017). Ana konakları karasal artropodlardır ancak filaryal nematodlarda da bulunurlar (Taylor ve ark., 2005). *Wolbachia*'nın konağının seçim değerine pozitif ya da negatif olarak bir çok etkisi bulunmaktadır (McMeniman ve ark., 2009; Zhang ve ark., 2010; Mazzetto ve ark., 2015).

Rickettsia hareketsiz, spor oluşturmeyan, gram negatif bir bakteri cinsidir (Perlman ve ark., 2006). Yaygın böcek endosimbiyont türlerinin yanında, böcek vektörü aracılığıyla vertebralılarda hastalık yapan patojen türleri de bulunmaktadır (Azad ve Beard, 1998; Perlman ve ark., 2006). *Rickettsia*, başlıca Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Collembola, Psocoptera olmak üzere birçok böcek takımında görülmektedir (Lei ve ark., 2021).



Şekil 1.2. *Wolbachia*'nın bölünerek çoğalma esnasındaki görüntüsü (Turkmen, 2018)



Şekil 1.3. *Rickettsia conorii conorii*'nin konağının sitoplazmasındaki görüntüsü (Rovero ve ark., 2008)

Rickettsia ve *Wolbachia*'nın konak böceklerinin üreme ve insektisit direnci fenotipleri üzerinde önemli manipölasyonları olabildiğı keşfedildiğinden beri biyolojik mücadelede kullanım potansiyelleri araştırılmaya devam etmektedir (Wijegunawardana ve ark., 2018; Baton ve ark., 2021). Tephritidae (Diptera) familyası ve *Drosophila* cinsi tarımsal zararlı popölasyonlarını kontrol etmek için *Wolbachia* aracılığıyla uyumsuz böcek tekniğı denenmektedir (Nikolouli, K. ve ark., 2018; Mateos ve ark., 2020). Ayrıca, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) türüyle geçen ve küresel halk sağığını tehdit eden vektör kaynaklı hastalıkların yayılmasını engellemek için yine *Wolbachia* kullanılarak uyumsuz böcek tekniğinin geliştirilme çalışmaları devam etmektedir (Soh ve ark., 2022).

Wolbachia ve *Rickettsia*'nın insektisit direncine olan etkileri üzerinde yapılan çalışmalarda bu endosimbiyontların etkisinin genelde kimyasal insektisitlere karşı konağın hassasiyetini artırma yönünde olduğunu bazen de tersinin de gerçekleşebildiğı görölmüşür (Liu ve ark., 2019). Endosimbiyontun değıştirdiğı insektisit direnci fenotipi, konak böceğın ve endosimbiyontun türü, insektisit kimyasal bileşimi ile değışebilmektedir (Yaman, 2019). Ayrıca endosimbiyontun yoğunluğuyla da böceğın direnç gücü değışebilmektedir ve endosimbiyontun konağın üzerinde metabolizma, bağışıklık sistemi ve gen ekspresyonuna yaptığı etkiler, insektisit direncini nasıl etkileyeceğini de belirleyebilmektir (Liu ve ark., 2019).

Wolbachia ve *Rickettsia*'nın konak böceklerin üreme sistemine etki ederken her ikisinin de erkek öldürme ve partogenezis mekanizmalarını indükledikleri bilinmektedir (Arakaki ve ark., 2000; Jiggins ve ark., 2000; Lawson, 2001; Hagimori ve ark., 2006; Cass ve ark., 2015). Partenogeneziste diploid dişiler meydana getirilerek, erkek öldürme de ise yalnızca enfekte olan dişı yumurtaların gelişimine izin verilerek *Wolbachia* ile enfekteli dişı böceklerin çoğalması sağılanır (Doran & Moore, 2001; Merçot & Poinso 2009).

Wolbachia'nın böceğin üreme sistemini etkilerken kullandığı diğer mekanizmalar, sitoplazmik uyumsuzluk ve feminizasyondur. *Wolbachia* enfekteli erkek bireyle enfekte olmamış dişi birey çiftleştğinde sitoplazmik uyumsuzluk sonucu embriyonik gelişme normal bir şekilde ilerleyemez ve embriyo ölümü gerçekleşir. Böylece enfekte olmayan döllerin artmasının önüne geçilir ((Merçot & Poinot, 2009). Feminizasyon mekanizmasında ise dişilerin erkekleştirilmesinde etkin olan androjen bez gelişimi gibi aşamalar baskılanarak bireylerin dişileştirilmesi sağlanır (Rajagopal ve ark., 2009; Güz ve ark., 2015).

Endosimbiyont bakteri ve depo tahılı böcekleri arasındaki etkileşimin boyutlarını anlamak ve mücadele programlarındaki potansiyelini araştırmak üzere bu bakterilerin farklı coğrafi bölgelerdeki varlığının belirlenmesi ve dağılımının anlaşılması önem taşımaktadır. Bu nedenle bu tez çalışmasında Tokat ili sınırları içerisinde bulunan çeşitli tahıl depolarından böcek ve tahıl numuneleri alınarak bu böceklerin morfolojik tür teşhisi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında bu böcek popülasyonlarının DNA'ları ekstrakte edilerek *Wolbachia* ve *Rickettsia* cinsindeki endosimbiyont bakterilerin varlığı ilgili primerler yardımıyla tespit edilmiştir.

2 KAYNAK ÖZETLERİ

Literatürde Türkiye’de ve dünyada gerçekleştirilen depo tahılı böceklerindeki endosimbiyotik tarama çalışmaları aşağıdaki gibi özetlenmiştir.

İpekdal ve Kaya (2020), Kırşehir bölgesinde tahıl depolarında görülen böceklerde reproduktif parazitik endosimbiyontlar olarak da adlandırılan ve böceklerin üreme sistemine etkisi olduğu bilinen *Arsenophonus*, *Cardinium*, *Fritschea*, *Hamiltonella*, *Rickettsia*, *Spiroplasma* ve *Wolbachia* cinsi endosimbiyontların taramasını gerçekleştirmişlerdir. *Arsenophonus*, *Cardinium*, *Fritschea* ve *Hamiltonella* hiç bir böcek türünde tespit edilmemişken, *Rickettsia* yalnızca *Sitophilus granarius*’ta görülmüş, *Spiroplasma* ve *Wolbachia* ise en çok bulaş oranını göstermiştir.

Tunçbilek ve ark., (2015), *Sitophilus granarius* ve *Sitophilus zeamais* ve parazitoidleri *Lariophagus distinguendus*’te *Arsenophonus*, *Cardinium*, *Spiroplasma* ve *Wolbachia* bakterilerinin varlığını taramışlardır. *Sitophilus zeamais*’te hiç bir endosimbiyont görülmemişken, *Sitophilus granarius*’te *Arsenophonus* ve *Wolbachia*, *Lariophagus distinguendus*’te ise *Spiroplasma* ve *Wolbachia* endosimbiyontları tespit edilmiştir. *Wolbachia*’nın hem depo böceği hem de böceğin parazitoidinde görülmesi, yatay aktarım tercihleri açısından böcek ve parazitoid etkileşimlerine dair bir data sağlamıştır.

McCulloch ve ark., (2020), çalışmalarının bir bölümünde *Rhyzoperta dominica*’nın mitokondriyal çeşitliliğinde *Wolbachia*’nın etkisini araştırmak üzere Ankara, Tekirdağ, İzmir, Kütahya, Konya, Karaman, Mersin, Hatay ve Şanlıurfa’dan aldıkları böcek örneklerinde *Wolbachia* taraması gerçekleştirmişlerdir. Çıkan sonuçlarda yalnızca İzmir istasyonunda *Wolbachia* enfeksiyonu görülmüştür ve Türkiye’de mitokondriyal genetik çeşitlilikte *Wolbachia*’nın etkisinin bağlayıcı olmadığı belirtilmiştir.

Koçak ve Ünal (2019), depo zararlılarından *Cryptolestes ferrugineus*'ta yaygın görülen endosimbiyontlar *Rickettsia*, *Spiroplasma* ve *Wolbachia*'nın varlığını Adana, İstanbul, İzmir, Konya ve Samsun illerinden alınan 10 popülasyonda primerler aracılığıyla araştırmışlardır. Adana ve İzmir'de herhangi bir endosimbiyont rastlanmazken, Samsun popülasyonlarında üç endosimbiyont bakterinin tümü, Konya popülasyonlarında *Wolbachia* ve *Rickettsia*, İstanbul popülasyonunda ise yalnızca *Rickettsia* endosimbiyontu görülmüştür. Toplam 10 popülasyonun 7'sinde en az bir endosimbiyont varlığı tespit edilmiştir.

Yaman (2019), tez çalışmasında Adana, Diyarbakır, İzmir, Konya ve Manisa illerinden alınan ve kimyasal insektisit olan fosfine karşı 3'ü dirençli 3'ü hassas olan popülasyonun toplam 36 *Sitophilus oryzae* bireyinde *Rickettsia*, *Spiroplasma* ve *Wolbachia* varlığı incelemiştir. *Rickettsia* Manisa popülasyonu dışında tüm popülasyonlarda ve en yüksek bulaş oranında, *Wolbachia* Adana ve Manisa popülasyonları haricindeki popülasyonlarda, *Spiroplasma* ise Konya, Manisa ve İzmir popülasyonu olmak üzere toplamda üç popülasyonda görülmüştür. Direnç durumuna göre bakıldığında ise, dirençli 3 popülasyonda hassas popülasyondan %44 daha fazla endosimbiyont bakteri bulaşı olduğu belirlenmiştir.

Ertürk (2018), Adana, Ankara, Burdur, Bursa, İstanbul, İzmir, Konya ve Manisa illerinden alınan 10 *Oryzaephilus surinamensis* popülasyonunda toplam 60 bireyde *Spiroplasma*, *Rickettsia* ve *Wolbachia* taraması yapmıştır. *Wolbachia*, İstanbul ve Manisa illeri dışındaki her popülasyonda, *Rickettsia* Burdur, İstanbul, Konya ve Manisa'da, *Spiroplasma* ise Burdur'da ve Konya'da görülmüştür. Popülasyonlar arasında ciddi bulaş farkları olduğu görülmüştür ve Burdur ve Konya bölgesindeki iki popülasyon en yüksek bulaş oranına sahip olduğu belirtilmiştir.

Türkmen (2018), tez çalışmasında Ankara, Diyarbakır, İzmir, Konya, Manisa, Samsun, Şanlıurfa olmak üzere yedi ilden ve 12 istasyondan *Sitophilus oryzae* popülasyonlarında *Wolbachia* taraması yapmıştır. Toplam 120 bireyden 118'nde *Wolbachia* tespit edilmiştir.

Kageyama ve ark., (2010), çalışmalarında Japonya'da depolanmış ürünlerin laboratuvar stoklarından Coleoptera, Psocoptera, Lepidoptera ve Hymenoptera takımlarına ait 38 depo böceği ve parazitoid türünün 59 ırkında *Wolbachia* yüzey primerleri kullanılarak (wsp) *Wolbachia* bulaşını araştırmışlardır. Sonucunda 13 türün 18 ırkında *Wolbachia* tespit edilmiştir. *Sitotroga cerealella*'da iki *Wolbachia* suşunun koenfeksiyonu görülmüştür. Tahıl depo böcekleri olarak araştırılan *Oryzaephilus surinamensis*, *Tribolium confusum*, *Sitotroga cerealella*'da *Wolbachia* görülürken, *Rhyzopertha dominica*, *Tenebrio molitor*, *Sitophilus zeamais*, *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus granarius* ve *Trogoderma granarium*'da *Wolbachia* belirlenmemiştir.

Fields ve ark., (2015), *Wolbachia* bulaşını 16 ülkeden edindikleri 38 depo böceği türünde (88 popülasyon) taramışlardır. Toplamda 11 türde *Wolbachia* belirlenmiştir. Tahıl depo böceklerinden pozitif olarak belirlenen popülasyonlar ise, *Ephestia kuehniella*'nin Kanada, *Oryzaephilus surinamensis*'in Kanada(4), Yunanistan, İspanya ve ABD, *Sitophilus oryzae*'nin Kanada, *Sitophilus zeamais*'in Tayland, *Tribolium confusum*'un Kanada (5), Çin, Danimarka, İngiltere, Fransa, Almanya, Yunanistan, İtalya, Portekiz, İspanya ve ABD popülasyonlarıdır.

Goodacre ve ark., (2015), model organizma olarak da sık kullanılan depo tahıl böceklerinden *Tribolium confusum* ve *Tribolium castaneum*'un da dahil olduğu laboratuvar stoklarında *Rickettsia*, *Spiroplasma* ve *Wolbachia* taraması yapmışlardır. *Tribolium confusum* ve *Tribolium castaneum*'un çeşitli ülkelerden alınan stok popülasyonlarında *Spiroplasma*, *Rickettsia* ve *Wolbachia* tespit edilmiştir.

Carvalho ve ark., (2014), birincil endosimbiont ve ikincil endosimbiontların depo böcekleri ve parazitoidleri arasında yatay aktarım ilişkisini araştırmak üzere çalışmalarının bir kısmında *Sitophilus oryzae* ve *Sitophilus zeamais*'in ve parazitoidleri *Theocolax elegans*'ın çeşitli ülkelerden alınan popülasyonlarda *Wolbachia* taraması yapmışlardır. *Sitophilus oryzae*'de 16 popülasyonun 7'sinde, *Sitophilus zeamais*'te 11 popülasyonun 9'nda *Wolbachia* tespit edilmiştir. Sekanslamada belirlenen *Wolbachia*'ların iki haplotipe ait olduklarını belirtmişlerdir. Ayrıca, yatay aktarımın *Sitophilus zeamais* ve *Theocolax elegans* 'ın arasında gerçekleştiğine dair moleküler kanıt bulmuşlardır.

Vignesh ve ark., (2018), insektisitlere dirençte endosimbiontların etkisini test etmek üzere bakterilerinin varlığını Hindistan'ın Tamil Nadu eyaletinden alınan *Tribolium castaneum*, *Sitophilus oryzae* ve *Rhyzopertha dominica*'nın fosfine dirençli ve hassas popülasyonlarında *Arsenophonus*, *Cardinium*, *Fritschea*, *Hamiltonella*, *Rickettsia* ve *Wolbachia* bakterilerinin varlığını 16s rRNA primerlerle araştırmışlardır. Diğer endosimbiont bakterilerin varlığı türe ve direnç durumlarına göre değişkenlik göstermişken, *Wolbachia* ve *Rickettsia* üç böcek türünün hassas ve dirençli bireylerinin hepsinde görülmüştür.

Rasool ve ark., (2019), *Tribolium castenium*'un popülasyon dinamiğini araştırdıkları çalışmalarının bir bölümünde genel wsp primerlerle Pakistan'ın farklı bölgelerinden aldıkları popülasyonlarda *Wolbachia* varlığını araştırmışlardır. 5 popülasyonun hepsinde %10 ile %25 arasında değişen *Wolbachia* bulaşı tespit etmişlerdir.

Lu ve ark., (2019), çalışmalarının bir parçası olarak Tenebrionidae takımına ait 10 depo böceğinin Çin'deki doğal habitatlarından ve laboratuvar stoklarından alınan 18 popülasyonunda *Wolbachia* bulaşını wsp (*Wolbachia* yüzey proteini geni) primerine bakarak taramışlardır ve yalnızca *Tribolium confusum* popülasyonunun tüm dişi ve erkek bireylerinde *Wolbachia* varlığı tespit edilmiştir.

3 MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Arazi Çalışmaları

Tokat ilinde tahıl depo böceği bulunabilecek potansiyel yerler olarak tahıl siloları, un ve yem fabrikaları ve buğday pazarları belirlenip Ağustos - Ekim 2021 tarihleri arasında ziyaret edilmiştir. Her istasyonun farklı bölgelerinden tahıl numunesi alınıp aynı zamanda duvar köşeleri ve kenarları gibi yerlerden tespit edilen böcek örnekleri direkt olarak spatula yardımıyla steril poşetlere alınmıştır ve laboratuvar ortamına getirilmiştir. Ziyaret edilen istasyonların bilgileri Çizelge 3.1. de verilmiştir.



Şekil 3.1. Numune alınan açık ve kapalı depo alanları

Çizelge 3.1. Numune alınan istasyon bilgileri

İstasyon	Koordinat	İlçe	İşletme
1	40.37724854221019, 36.0828677983079	Turhal	Sabit İlçe Buğday Pazarı
2	40.29421812926861, 35.9045616613757	Zile	Özel Yem Fabrikası
3	40.29969281819822, 35.88946588296201	Zile	Sabit İlçe Buğday Pazarı
4	40.548949758792524, 36.91398145514349	Niksar	Un ve Yem Fabrikası
5	40.46918540972586, 36.75083899831023	Merkez	Un ve Yem Fabrikası
6	40,4679210, 36,7514250	Merkez	Depo ve Ticaret İşletmesi
7	40.68258374774558, 36.530850013659595	Erbaa	Un ve Yem Fabrikası
8	40.68181243805892, 36.56262225598753	Erbaa	Sabit İlçe Buğday Pazarı
9	40,317774, 35,990172	Turhal	Özel Değirmen İşletmesi
10	40.333114720641866, 36.53241148156737	Merkez	Sabit İl Buğday Pazarı
11	40.37642230494922, 36.90361163528934	Almus	Un ve Yem Fabrikası
12	40,377687, 36, 896613	Almus	Un ve Yem Fabrikası
13	40.28090867668091, 36.2873580117976	Pazar	Un ve Yem Fabrikası

3.2. Morfolojik Analiz

İstasyonlardan toplanan böcek örneklerinin morfolojik tür analizi için numuneler canlı bir şekilde ve uygun koşullarda taşınarak Ankara Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne getirilmiştir. Teşhise hazır edilmek üzere, her istasyonun popülasyonu her defasında ısıtma işlemiyle steril edilen eleklerle önce çıplak gözle ayrılmıştır ve binoküler mikroskopta Dr. Abdullah Yılmaz'ın yönetiminde Dr. Yasin Nazım Alpkent tarafından morfolojik anahtarlar eşliğinde tür teşhisi gerçekleştirilmiştir.

Şekil 3.2. Teşhis edilen böceklerin mikroskop görüntüsü örnekleri





Şekil 3.3. Ankara Zırai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü depo böcekleri laboratuvarı

3.3. Laboratuvar Çalışmaları

3.3.1. DNA izolasyonu

Tokat ilinde 16 farklı istasyondan alınan numuneler, morfolojik analiz sonrasında böcek türlerine göre ayrılarak toplamda 26 popülasyon elde edilmiştir. +4 derecede %96'lık alkol içerisinde 6 ay süreyle saklanan numuneler, alkolden distile su ile temizlendikten sonra ticari kitteki (Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit) belirtilen memeli hücrelerden izolasyon prosedürü takip edilerek 13 istasyondan elde edilen türlerine göre ayrılmış 26 böcek popülasyonunun total genomik DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Her popülasyona böceklerin bulunma durumuna göre 5 - 8 birey dahil edilmiştir ve her bir DNA ekstraksiyonu, 5 - 8 böcek bireyin DNA'sını içermektedir. İşlem sonucunda DNA ekstraksiyonu yapılan son örneklerin DNA miktarı ve A260/ 280 oranları nanodrop cihazında ölçülmüştür. Böcek örneklerinin boyutu nedeniyle DNA miktarları ve saflık oranlarında kısıtlılık oluşmuştur ve bu nedenle PCR ve jel çalışmaları tekrar edilerek sonuçların güvenilirliği arttırılmaya çalışılmıştır.

3.3.2. Polimeraz zincir reaksiyonu

Varlığı taranacak olan bakteri cinsi *Wolbachia* ve *Rickettsia* için literatür araştırması yapılmıştır ve uygun primerler hizmet alımı ile sentezlettirilmiştir. HPLC saflıkta kurutulmuş olarak gelen primerler 100µM'lik stok haline getirilip daha sonra kullanılmak üzere -20°C'de saklanmıştır.

Primer bağlanma derecelerinin farklı olması nedeniyle *Wolbachia* ve *Rickettsia* taramaları için ayrı ayrı PCR kurulmuştur ve PCR ürünleri agaroz jelde pozitif ve negatif kontroller ile birlikte yürütülmüştür. Pozitif kontrol olarak denenen ve beklenen yerde bant veren örnekler, negatif örnek olarak da distile su ile kurulmuş PCR ürünü kullanılmıştır. Primer bilgileri ve kurulan reaksiyonların ayrıntıları Çizelge 3.2. ve Çizelge 3.3 'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. *Wolbachia* ve *Rickettsia* için kurulan PCR içeriği ve cihaz ayarları

<i>Wolbachia</i>		<i>Rickettsia</i>	
İçerik (50 ul)	Cihaz Ayarı	İçerik (50 ul)	Cihaz Ayarı
5 ul 10x Buffer	3:00 dk/ 95° ilk denatürasyon	5 ul 10x Buffer	3:00 dk/ 95° ilk denatürasyon
5 ul 10 mM dNTP	0:30 dk/ 95° denatürasyon	5 ul 10 mM dNTP	0:30 dk/ 95° denatürasyon
30 ul MgCl ₂	0:30 dk/ 54° bağlanma	25 ul MgCl ₂	0:30 dk/ 60° bağlanma
3 ul DNA	0:45 dk/ 72° uzama	3 ul DNA	1: 00 dk/ 72° uzama
1,25 ul DNA polimeraz	34 döngü	1,25 ul DNA polimeraz	34 döngü
1 ul Forward primer	5 dk/ 72° son uzama	1 ul Forward primer	5 dk/ 72° son uzama
1 ul Reverse primer		1 ul Reverse primer	
30,75 ddh ₂ O		31,25 ul ddh ₂ O	

Çizelge 3.3. PCR reaksiyonları için kullanılan primer bilgileri

Primer Adı	Hedef	Sekans	Tm	Uzunluk	Kaynak
Wspec -F	<i>Wolbachia</i> 16S rRNA	YATACCTATTCTGAAGGGATAG	52.8	430bp	Werren and Windsor (2000)
Wspec - R	<i>Wolbachia</i> 16S rRNA	AGCTTCGAGTGAAACCAATTC	57.3		
Rb-F	<i>Rickettsia</i> 23S rRNA	GCTCAGAACGAACGCTATC	57.1	900bp	Gottlieb et al. (2006)
Rb-R	<i>Rickettsia</i> 23S rRNA	GAAGGAAAGCATCTCTGC	55.2		

4 BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Bulgular

Tokat ilinin çeşitli ilçelerinde bulunan 13 istasyondan alınan örneklerin morfolojik analiz sonucunda biri Lepidoptera, 8'i Coleoptera takımına ait olmak üzere 9 depo böceği türü tespit edilmiştir. Bunlar; *Cryptolestes ferrugineus* Steph. (Coleoptera: Cucujidae), *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coleoptera: Cucujidae), *Rhizopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrychidae), *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae), *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae), *Sitotroga cerealella* (Oliv.) (Lepidoptera: Gelechiidae), *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae) ve *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae)'dur. Ayrıca zararlı böcek olarak adlandırılan türlerin doğal düşmanı olan predatör *Xylocorris* cinsi böceklerin varlığı tespit edilmiştir. çeşitli istasyonlarda en sık görülen böcek türleri, 13 istasyonun 7'sinde görülen *Sitophilus oryzae* ve 6'sında görülen *Sitophilus granarius*'tur.

13 istasyonun 12'sinde bulunan 9 böcek türünün hepsinde *Wolbachia* görülmüştür. *Rickettsia* ise yalnızca 7 istasyonda ve 4 türde belirlenmiştir. Bu türler, *Cryptolestes ferrugineus*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Sitophilus granarius* ve *Sitophilus oryzae*'dir. Yine *Cryptolestes ferrugineus*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Sitophilus granarius* ve *Sitophilus oryzae* türlerinin 11 popülasyonunda hem *Wolbachia* hem de *Rickettsia* tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. DNA izolasyon sonuçları

Tür	İstasyon	DNA miktarı	260 / 280
<i>Cryptolestes ferrugineus</i>	5	1,2	1,71
	11	7,5	2,62
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	11	1,1	0,42
	6	3,6	2,65
	8	6,8	1,88
<i>Sitophilus granarius</i>	3	4,1	3,01
	10	14,2	1,85
	11	2,0	1,87
	1	8,3	2,73
	9	5,2	5,78
	2	12,6	1,73
<i>Tribolium castaneum</i>	13	22,2	1,80
	7	33,5	1,67
	4	23,5	1,79
<i>Rhizopertha dominica</i>	13	14,0	2,19
	4	19,1	2,05
<i>Sitophilus oryzae</i>	7	16,3	1,86
	1	6,8	2,19
	4	9	1,61
	5	5,7	1,8
	10	1,3	1,8
	11	54,7	1,59
	13	30,2	1,49
<i>Tenebrio molitor</i>	11	30,2	1, 66
<i>Trogoderma granarium</i>	12	1,3	0,45

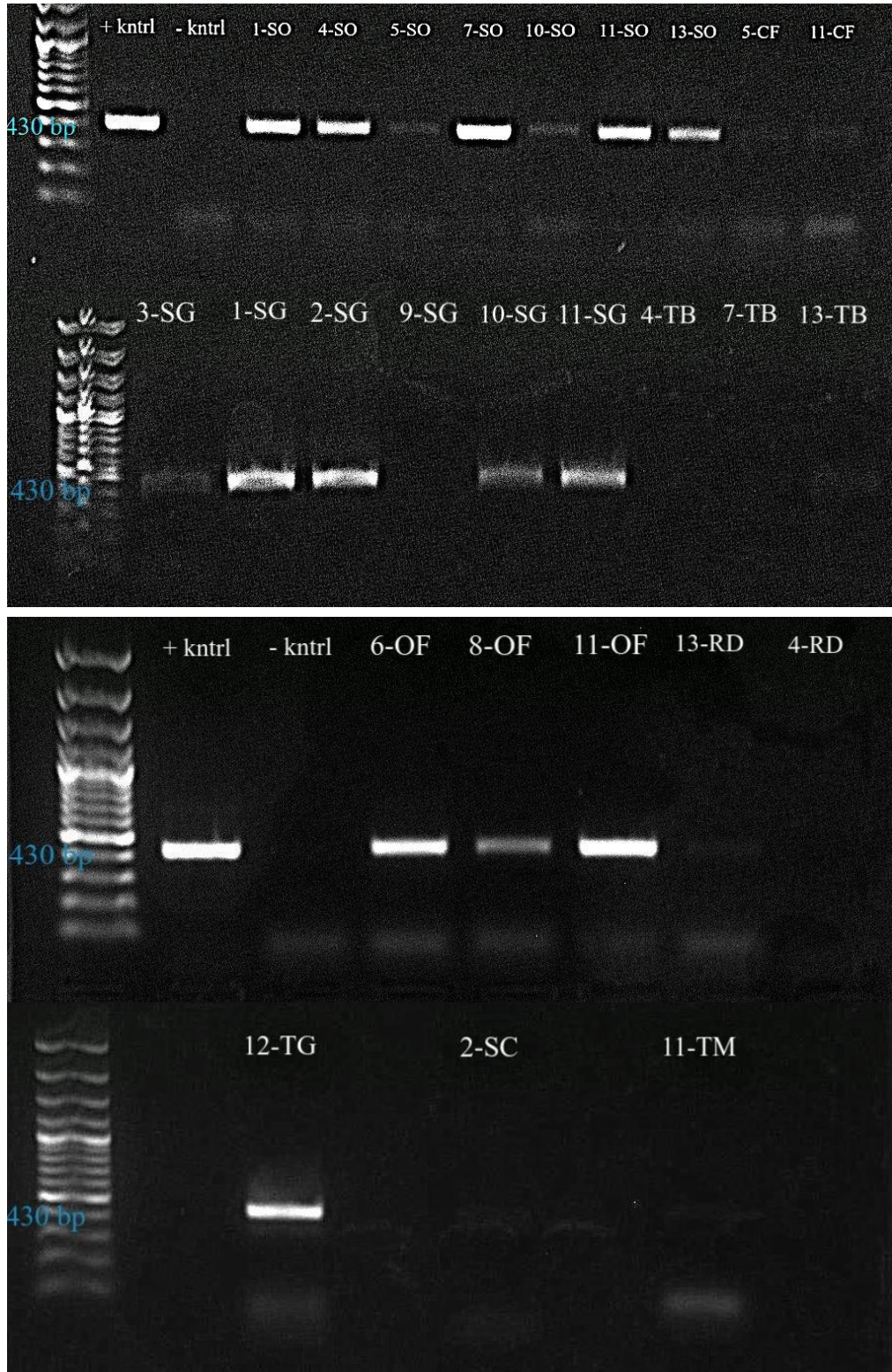
<i>Sitotroga cerealella</i>	2	23,2	1,85
-----------------------------	---	------	------

Çizelge 4.2. Böceklerdeki bakteri pozitiflik durumu (Türlere göre)

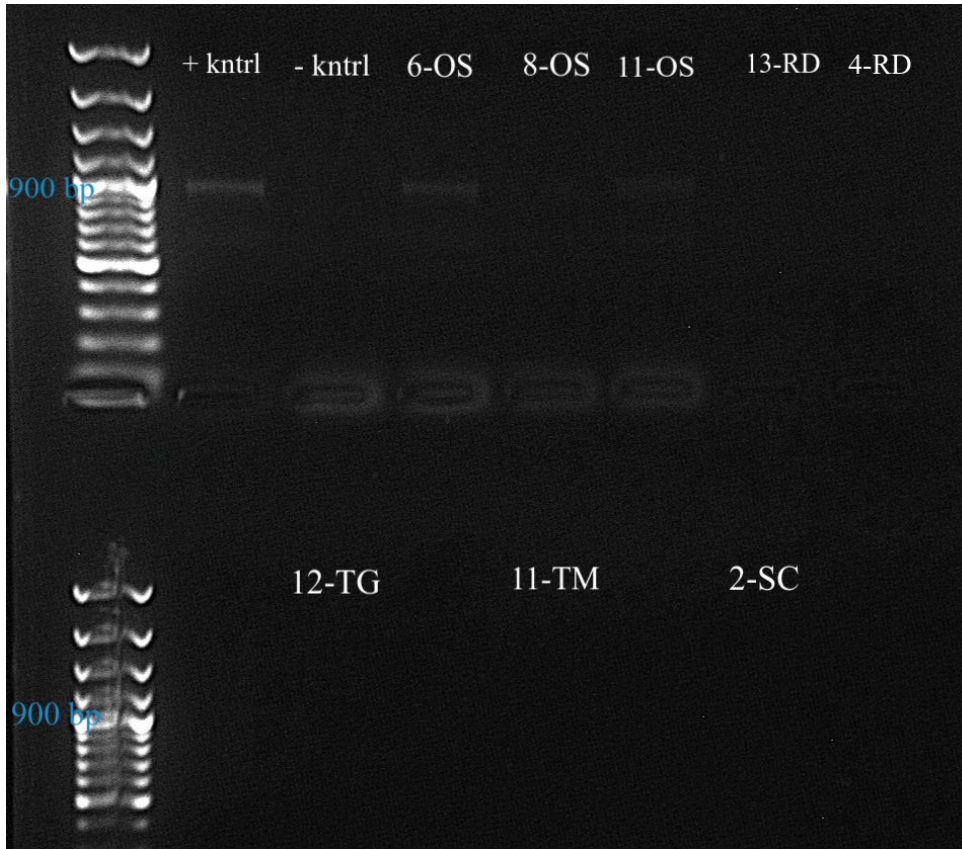
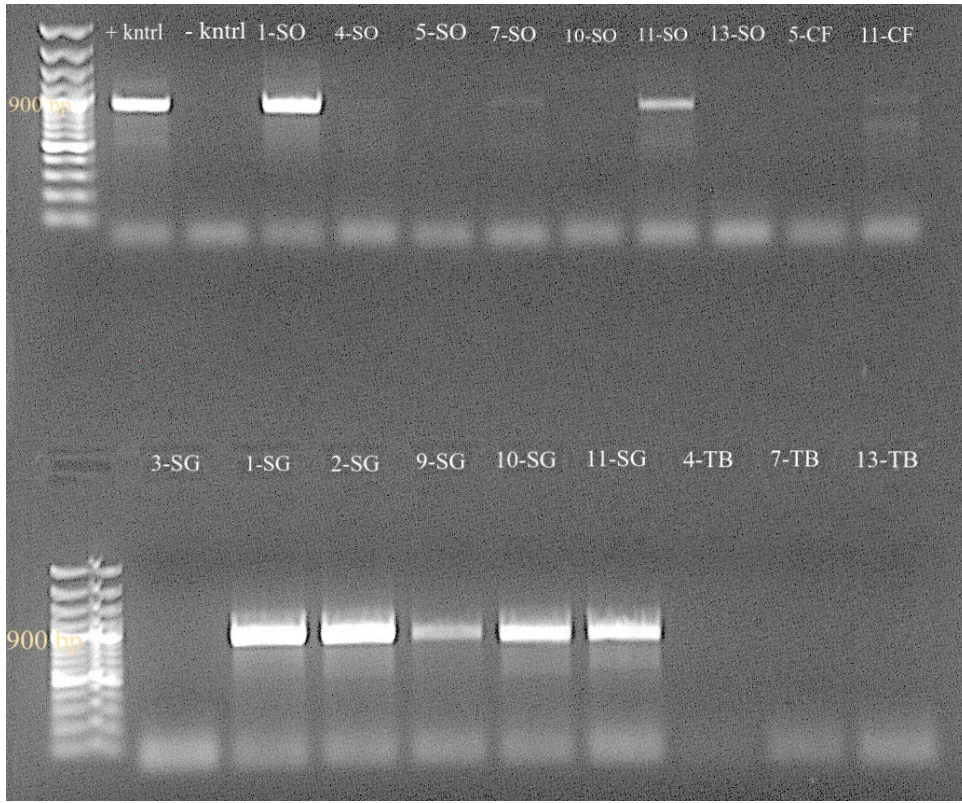
Tür	Etiket	İzole Edilen İstasyonlar	<i>Wolbachia spp.</i> Pozitif	<i>Rickettsia spp.</i> Pozitif
<i>Sitophilus oryzae</i>	SO	1,4,5,7,10, 11,13	1,4,5,7,10,11,13	1,4,7,11
<i>Sitophilus granarius</i>	SG	1,2,3,9,10,11	1,2,3,10,11	1,2,9,10,11
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	OS	6,8,11	6,8,11	6,11
<i>Tribolium castaneum</i>	TC	4,7,13	13	-
<i>Rhizopertha dominica</i>	RD	4,13	13	-
<i>Cryptolestes ferrugineus</i>	CF	5,11	5,11	11
<i>Tenebrio molitor</i>	TM	11	11	-
<i>Trogoderma granarium</i>	TG	12	12	-
<i>Sitotroga cerealella</i>	SC	2	2	-

Çizelge 4.3. Böceklerdeki bakteri pozitiflik durumu (İstasyona göre)

İstasyon	Tür	<i>Wolbachia spp.</i>	<i>Rickettsia spp.</i>
1 (Turhal)	<i>Sitophilus oryzae</i>	+	+
	<i>Sitophilus granarius</i>	+	+
2 (Zile)	<i>Sitophilus granarius</i>	+	+
	<i>Sitotroga cerealella</i>	+	-
3 (Zile)	<i>Sitophilus granarius</i>	+	-
4 (Niksar)	<i>Rhizopertha dominica</i>	-	-
	<i>Sitophilus oryzae</i>	+	+
	<i>Tribolium castenium</i>	-	-
5 (Merkez)	<i>Cryptolestes ferrugineus</i>	+	-
	<i>Sitophilus oryzae</i>	+	-
6 (Merkez)	<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	+	+
7 (Erbaa)	<i>Tribolium castenium</i>	-	-
	<i>Sitophilus oryzae</i>	+	+
8 (Erbaa)	<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	+	-
9 (Turhal)	<i>Sitophilus granarius</i>	-	+
10 (Merkez)	<i>Sitophilus oryzae</i>	+	-
	<i>Sitophilus granarius</i>	+	+
11 (Almus)	<i>Sitophilus granarius</i>	+	+
	<i>Sitophilus oryzae</i>	+	+
	<i>Cryptolestes ferrugineus</i>	+	+
	<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	+	+
	<i>Tenebrio molitor</i>	+	-
12 (Almus)	<i>Trogoderma granarium</i>	+	-
13 (Pazar)	<i>Rhyzopertha dominica</i>	+	-
	<i>Sitophilus oryzae</i>	+	-
	<i>Tribolium castenium</i>	+	-



Şekil 4.1. *Wolbachia* taraması PCR görüntüleri



Şekil 4.2. *Rickettsia* taraması PCR görüntüleri

Çalışmada bir bant 5-8 bireyden oluşan popülasyonun DNA'sını temsil ettiği için parlaklıkların farklılıkları popülasyondaki toplam enfekte olan böcek sayısı ile değişebilmektedir. Ayrıca dişi böceklerin daha yoğun bakteri taşıma kapasitesi olduğu bilinmektedir, değişkenliğin bir nedeni de bu olabilir.

4.2. Tartışma

Çalışmamızla birlikte ilk defa Tokat ilinde depo böceklerinin ve endosimbiyotik bakteriyel taraması yapılmıştır. 9 tür depo böceği tespit edilmiştir. Çizelge 4.1.2. 'de görüldüğü gibi en çok görülen böcek türleri 13 istasyonun 7'sinde görülen *Sitophilus oryzae* (%54) ve 6'sında görülen *Sitophilus granarius* (%46)'tur. Türkiye'de yapılan çalışmalarda ise en yaygın türlerin başına *Sitophilus granarius* ve *Oryzaephilus surinamensis* gelmektedir (Ergül ve ark., 1972; Kiper ve ark., 1992; Yasan ve ark., 1992; Zengin & Karaca, 2019; İpekdal ve Kaya, 2020).

Çalışmada her istasyonda en az bir türün *Wolbachia* veya *Rickettsia* ile enfekte olduğu görülmüştür ve *Wolbachia* enfeksiyonu daha yoğun gözlenmektedir. İzole edilen 26 popülasyonun 22 tanesinde *Wolbachia*, 12 tanesinde *Rickettsia* tespit edilmiştir. İzolasyonlar popülasyon başına yapıldığı için popülasyonda *Wolbachia* tespit edilmesi demek popülasyondaki 5-8 bireyden en az bir tanesinin *Wolbachia* ile enfekte olması anlamına gelmektedir. Dünya genelinde Coleoptera takımı türleri arasında *Wolbachia* enfeksiyonu oranının %38 olduğu tahmin edilmektedir (Kajtoch & Kotaskova; 2018). İpekdal ve Kaya, (2020), taradıkları çeşitli depo böceği türlerinde tüm bireylerdeki *Wolbachia* bulaşının (%22) *Rickettsia* bulaşından (%7) fazla olduğunu belirtmişlerdir. Coleoptera takımında *Wolbachia*'nın daha yoğun olduğu belirtilirken, Türkiye'de yapılan çalışmalarda da *Wolbachia* ve *Spiroplasma*'nın daha yoğun olduğu ancak *Rickettsia*'nın daha yoğun görüldüğü örneklerin bulunduğu görülmektedir (Koçak & Ünal, 2019; Tunçbilek ve ark. 2015; Yaman, 2019).

Sıcaklık, besin miktarı ve niteliği ya da diğer abiyotik çevresel etmenler, konak böcekteki simbiyont yoğunluğunu ve aktarımını etkilemektedir (Hoffmann ve ark., 1990; Sinkins ve ark., 1995; Turkmen, 2018). Cass ve ark., (2015), *Bemisia tabaci* tütün zararlısının ABD ve İsrail'deki *Rickettsia* yoğunluğunu incelemişlerdir ve çıkan aradaki keskin farkın nedenini coğrafik farklılıklar olarak belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da görülmektedir ki benzer coğrafyadan alınan numunelerde aynı türdeki *Wolbachia* varlığı istasyondan istasyona değişmektedir. Bir diğer deyişle, coğrafi farkı elimine ettiğimizde de diğer abiyotik çevresel etmenler *Wolbachia* ve *Rickettsia* bakterisinin varlığını etkilemektedir. Bu çalışma kapsamında bu çevresel etmenlerden bazıları, istasyonlar arasındaki ilaçlama yöntemi ve sıklığı, tahıl cinsi, tahılın bekleme süresi, tahılların saklanma sıcaklıkları, depolanma şekilleri olabilir. Çalışmamızın kısıtlılığı nedeniyle aldığımız örnek popülasyonun istasyonun gerçek *Wolbachia* bulaş değerlerini temsil etmemesi ihtimaline karşın daha büyük örneklemelerle birlikte abiyotik faktörlerin bilgileri prospektif bir şekilde toplanarak bu çıkarımların denenmesi gereklidir.

İnsektisit direnci ve endosimbiyont varlığı arasındaki ilişkiyi anlamak üzere Liu ve ark., (2019), yaptığı literatür derlemesi çalışması sonucunda böceğin insektisit direnci oluşturmada endosimbiyontların etkisinin olabildiği, *Wolbachia* ve *Rickettsia*'nın genelde insektisit hassasiyetini artırdığını ancak aksi durumların da gerçekleşebildiği raporlanmıştır. Yaman (2019), Türkiye'nin farklı illerinden alınan dirençli üç popülasyonda hassas olanlara kıyasla %44 daha fazla endosimbiyont bakteri bulaşı olduğunu belirlemiştir. Vignesh ve ark., (2018), *Wolbachia* ve *Rickettsia*'nın hem dirençli hem de hassas popülasyonda görüldüğünü kaydetmişlerdir. Bu tez çalışmasında ise numunelerin depolardan alınması sırasında depoların koşulları hakkında çalışanlardan ve bölgede ilaçlamadan sorumlu bir ziraat mühendisinden sözlü mülakat yoluyla bilgi aldığımızda, insektisit ilaçlamasının zorunlu olarak küçük ve büyük işletmelerin tümünde kullanıldığı, ancak sabit buğday pazarları ve benzeri küçük çaplı depolarda genelde fosfin etken maddeli ve böceğin belirmesi üzerine düzensiz bir şekilde uygulandığı, birkaç düzenli insektisit

hizmeti alan bazı fabrikaların ise deltametrin etken maddeli insektisit de ek olarak kullandıkları belirtilmiştir (Anonim, 2022). Bu bilgiler ışığında, 2,4,5,7,13 nolu depolarında 1, 3, 6, 8, 9,10 ve 11 nolu depolara göre daha düzenli insektisit uygulandığı, 12 nolu deponun 3 yıldır faal olmadığı ve herhangi bir insektisit kullanılmadığı belirlenmiştir. *Wolbachia*'nın 13 istasyonun hepsinde ve tür farketmeksizin görülmesi ilaçlama durumunun etkisinin yoğun olmadığı izlenimini vermektedir ancak *Rickettsia*'nın görülme durumunu karşılaştırmak için popülasyon sayımız kısıtlıdır. Her iki endosimbiyont için de insektisit direnci ile ilgili varlıklarını karşılaştırmak için çalışmanın kapsamının geliştirilmesi şarttır.

İpekdal ve Kaya (2020)'nın aktardığı üzere, türler arası endosimbiyont bakterilerin yatay aktarımının depo böceklerinde de gerçekleştiği ve bu geçişin aynı parazitoid ve akarların paylaşılması ya da aynı besin kaynakların kullanılması aracılığıyla gerçekleşebilmektedir (Heath ve ark., 1999; Vavre ve ark., 1999; Jaenike ve ark., 2007; Stahlhut ve ark., 2010; Brown and Llyod, 2015). Dolayısıyla depo ortamlarının aynı kaynakları kullanmaya müsait yapısı nedeniyle bir istasyonda bulunan farklı türlerdeki *Wolbachia* ve *Rickettsia* varlığının yatay transferle açıklanması bir ihtimaldir. Yatay transfer dışında da bu bakterilerin yayılması, böceklerin ekolojik özellikleri ve bir bölgeden bir bölgeye insan aracılığıyla ürünlerin taşınması ile gerçekleşebilir (İpekdal ve Kaya, 2020). Bizim çalışmamızda ise *Wolbachia*'nın aynı istasyonda farklı türlerde görülmesi durumu 6 istasyonda, *Rickettsia*'nın görülme durumu ise 2 istasyondadır. Bu durumda yatay transfer ihtimalini araştırmak için moleküler çalışmaların böcek birey bazında daha büyük örneklemle yapılması gerekir.

Aynı konakta birden çok endosimbiyontun görülmesi yani koenfeksiyon artropodlarda yaygındır (Kikuchi & Fukatsu, 2003). Tunçbilek ve ark., (2015), *Sitophilus granarius*'ta *Arsenophonus* ve *Wolbachia* bakterilerini koenfekte şekilde tespit etmişlerdir. Koçak ve Ünal (2019), *Cryptolestes ferrugineus*'ın bir popülasyonunda *Rickettsia*, *Spiroplasma* ve *Wolbachia* bakterilerinin üçünün birden

varlığını tespit etmişlerdir. İpekdağ ve Kaya (2020) ise, *Oryzaphilus surinamensis*'te ve *Rhyzoperta dominica*'da *Spiroplasma* ve *Wolbachia* koenfeksiyonu, *Sitophilus granarius*'ta ise *Rickettsia*, *Spiroplasma* ve *Wolbachia* koenfeksiyonu tespit etmişlerdir. Koenfeksiyon böceğe ekstra bir canlı yükü getirirken aynı zamanda birden fazla yerden fayda sağlamak anlamına da gelebilir ve böceğin abiyotik etmenlerin değişmesiyle bu koenfeksiyonun yoğunluğunun ve çeşitliliğinin değişmesi de beklenebilir (Vautrin & Vavre, 2009; Ferrari ve Vavre, 2011; Douglas, 2016). Bu çalışmada ise 10 popülasyonda hem *Wolbachia* hem de *Rickettsia* varlığı tespit edilmiştir ancak koenfeksiyon varlığı yorumu yapabilmek için birey başına izolasyon gerçekleştirilip sekanslama ile de aynı bakteri suşuna ait olup olmadığı kontrol edilmelidir.

5 SONUÇ ve ÖNERİLER

Dünya genelinde ve Türkiye’de büyük ve küçük ölçekli tahıl depolarında depo böcekleri ve diğer kemirgenler için kimyasal mücadele yoğun bir şekilde devam etmektedir. Ancak, kullanım sıklığı ve yöntemi kontrolsüz ilerleyebilen bu kimyasalların çevre ve halk sağlığına etkileri giderek artan bir kaygı oluşturmaktadır. Türkiye’de iklim değişikliğine bağlı olarak modern depolama yöntemi kullanmayan işletmelerde depo böceklerinin davranışlarının değişime uğradığı ve tahıllara zarar oranını artırdıkları rapor edilmektedir (Anonim, 2022). Bu nedenlerle mücadele programlarının geliştirilmesi acil bir ihtiyaç haline gelmektedir.

Sekonder endosimbiontların böceklerin popülasyon dinamiğine etki mekanizmaları anlaşıldıkça, mücadele programlarında kullanılma potansiyeline dair çalışmalar artmaktadır. Fakültatif olan sekonder endosimbiontların daha çok konağın seçim değerine göre konağa pozitif, negatif ya da nötr bir etki gösterdikleri, dolayısıyla endosimbiontların böceklere etkisinin konağı çevreleyen diğer biyotik ve abiyotik faktörlere de bağlı olduğu bilinmektedir (Fleury ve ark., 2000; Brownlie ve ark., 2009; Cass ve ark., 2016; Hunter ve ark., 2017). Modern depolama sistemlerinin gelişmesiyle, depo böceklerinin abiyotik ortamı daha kontrol edilebilir hale gelmiştir ve bu durum endosimbiontların mücadele programları için depo böcekleri üzerinde kullanılmasını diğer zararlı böceklere nazaran daha mümkün hale getirmektedir.

Türkiye’nin kıtalararası işlek coğrafi konumu ve buğday tarımının başlangıç yerlerinden biri olması nedeniyle depo böceklerindeki endosimbiont bakterilerinin yüksek çeşitlilikte ve konaklarıyla kompleks etkileşimlere sahip olduğu düşünülmektedir (İpekdal ve Kaya, 2020). Tokat İli’nde ilk kez tahıl depolarında böcek ve endosimbiont bakteri kompozisyonu taraması gerçekleştirilen bu tez çalışmasıyla Türkiye coğrafyasında gerçekleştirilen diğer çalışmalara katkı sağlanarak böcek-endosimbiont bakteri etkileşimine ışık tutacak ve ilgili zararlılarla mücadelede kullanılabilecek önemli veriler elde edilmiştir. Böylece bakteri

kompozisyonunun bütünsel ve eş zamanlı incelemenin mümkün olduğu metabarkodlama gibi güncel moleküler yöntemlerle daha geniş kapsamlı yapılacak çalışmaların önü açılacaktır ve sürdürülebilir tarım faaliyetlerinin bir parçası olarak depo böcek popülasyonlarının daha sağlıklı bir şekilde kontrol edilmesine katkı sağlanacaktır.

6 KAYNAKÇA

Adam, Z. M., Mikhael, E., Ashry, Z. M., Ehsan, N., Ali, R.T., 2016. Potential mutagenic and ultra-structural effects of dusting *Vicia faba* seeds with Malathion 1% powder or fumigating by Phosphine for storage. *African J. Biol. Sci.*, 12 (1), 139-161.

Ahmed, M. Z., Li, S. J., Xue, X., Yin, X. J., Ren, S. X., Jiggins, F. M., ... & Qiu, B. L., 2015. The intracellular bacterium *Wolbachia* uses parasitoid wasps as phoretic vectors for efficient horizontal transmission. *PLoS pathogens*, 11(2), 1004672.

Anonim, Temmuz 2018. Yetkili Telefon Görüşmesi.

Arakaki, N., Noda, H., Yamagishi, K., 2000. *Wolbachia*-induced parthenogenesis in the egg parasitoid *Telenomus nawai*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 96(2), 177-184.

Attia, M. A., Wahba, T. F., Shaarawy, N., Moustafa, F. I., Guedes, R. N. C., Dewar, Y., 2020. Stored grain pest prevalence and insecticide resistance in Egyptian populations of the red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst) and the rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.). *Journal of stored products research*, 87, 101611.

Azad, A. F., Beard, C. B. (1998). Rickettsial pathogens and their arthropod vectors. *Emerging infectious diseases*, 4(2), 179.

Baton, L. A., Zhang, D., Li, Y., Xi, Z., 2021. Combining the incompatible and sterile insect techniques for pest and vector control. In *Area-Wide Integrated Pest Management* 367-404.

Baumann, P., Moran, N. A., Baumann, L., Dworkin, M., 2006. Bacteriocyte-associated endosymbionts of insects. *Prokaryotes*, 1, 403-438.

Boxall, R.A., 2001. Post-harvest losses to insect-a world overview. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 48, 137-152.

Brownlie, J. C., Cass, B. N., Riegler, M., Witsenburg, J. J., Iturbe-Ormaetxe, I., McGraw, E. A., & O'Neill, S. L., 2009. Evidence for metabolic provisioning by a common invertebrate endosymbiont, *Wolbachia pipiensis*, during periods of nutritional stress. *PLoS pathogens*, 5(4), e1000368.

Carvalho, G. A., Corrêa, A. S., de Oliveira, L. O., Guedes, R. N. C., 2014. Evidence

of horizontal transmission of primary and secondary endosymbionts between maize and rice weevils (*Sitophilus zeamais* and *Sitophilus oryzae*) and the parasitoid *Theocolax elegans*. *Journal of Stored Products Research*, 59, 61-65.

Cass, B. N., Yallouz, R., Bondy, E. C., Mozes-Daube, N., Horowitz, A. R., Kelly, S. E., ... & Hunter, M. S., 2015. Dynamics of the endosymbiont *Rickettsia* in an insect pest. *Microbial Ecology*, 70(1), 287-297.

Çakır, Ş. ve Yamaner, Ş., 2005. Böceklerde insektisidlere direnç. *Ahi Evran Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi Dergisi*, 6(1), 21-29.

Dângelo, R. A. C., Michereff-Filho, M., Inoue-Nagata, A. K., da Silva, P. S., Chediak, M., Guedes, R. N. C., 2021. Area-wide insecticide resistance and endosymbiont incidence in the whitefly *Bemisia tabaci* MEAM1 (B biotype): A Neotropical context. *Ecotoxicology*, 30(6), 1056-1070.

Derin, İ., 2017. *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae) ve *Lariophagus Distinguendus* Forster 1841 (Hymenoptera:Pteromalidae) Reprodaktif Simbiyontların Araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi), Erciyes Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Kayseri.

Devi, D., Verma, S. C., Sharma, P. L., Sharma, H. K., Gupta, N., & Thakur, P., 2019. Effect of climate change on insect pests of fruit crops and adaptation and mitigation strategies: A review. *J. Entomol. Zool. Stud*, 7, 507-512.

Doran, T. ve Moore, R., 2001. Application of the reproductive parasite *Wolbachia* to the biological control of flystrike. In *Proceedings of the FLICS Conference*, Launceston, 4-6.

Douglas, A. E., 2016. How multi-partner endosymbioses function. *Nature Reviews Microbiology*, 14(12), 731-743.

Emery, R. N., Collins, J. P., Wallbank, B. E., 2003. Monitoring and managing phosphine resistance in Australia. *Stored Grain in Australia*, 25-27.

Ergül, C., Dörtbudak, N., Akülke, A. 1972. Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesindeki Hububat ve Mamulleri ile Bakliyat Ambar Zararlılarının Yayılışı ve Zararı Üzerinde Araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 12(2),129-143.

Erturk, Ş., 2018. Türkiye’de Testereli Böcek *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) Popülasyonlarında Endosimbiyotik Bakterilerin Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi . (Yüksek Lisans Tezi), Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Isparta.

Ferrari, J. ve Vavre, F., 2011. Bacterial symbionts in insects or the story of communities affecting communities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 366(1569), 1389-1400.

Fleury, F., Vavre, F., Ris, N., Fouillet, P., & Bouletreau, M., 2000. Physiological cost induced by the maternally-transmitted endosymbiont *Wolbachia* in the *Drosophila* parasitoid *Leptopilina heterotoma*. *Parasitology*, 121(5), 493-500.

Fu, W., ve Zhang, X., 2020. Global phosphorus dynamics in terms of phosphine. *npj Climate and Atmospheric Science*, 3(1), 1-6.

Goodacre, S. L., Fricke, C., Martin, O. Y., 2015. A screen for bacterial endosymbionts in the model organisms *Tribolium castaneum*, *T. confusum*, *Callosobruchus maculatus*, and related species. *Insect science*, 22(2), 165-177.

Gottlieb, Y., Ghanim, M., Chiel, E., Gerling, D., Portnoy, V., Steinberg, S., Kontsedalov, S., 2006. Identification and localization of a rickettsia sp. in *bemisia tabaci* (homoptera: aleyrodidae). *Appl. Environ. Microbiol.* 72 (5), 3646 -3652.

Güz, N., Dağeri, A., Aksoy, S., 2015. Endosimbiyotik bakterilerin böcekler üzerine etkisi. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 5(2), 101-113.

Hagimori, T., Abe, Y., Miura, K., 2006. The first finding of a *Rickettsia* bacterium associated with parthenogenesis induction among insects. *Current microbiology*, 52(2), 97-101.

Hardman, J. M., 1977. Environmental changes associated with the growth of populations of *Sitophilus oryzae* (L.) confined in small cells of wheat. *Journal of Stored Products Research*, 13(2), 45-52.

Hill, D. S., 2002. *Pests of stored foodstuffs and their control*. Springer Science & Business Media.

Hunter, M. S., Asiimwe, P., Himler, A. G., & Kelly, S. E., 2017. Host nuclear genotype influences phenotype of a conditional mutualist symbiont. *Journal of Evolutionary Biology*, 30(1), 141-149.

İpekdağ, K. ve Kaya, T., 2020. Screening stored wheat beetles for reproductive parasitic endosymbionts in central Turkey. *Journal of Stored Products Research*, 89, 101732.

Jeyaprasath, A., Hoy, M. A., 2000. Long PCR improves *Wolbachia* DNA amplification: wsp sequences found in 76% of sixty-three arthropod species. *Insect molecular biology*, 9(4), 393-405.

Jian, F., Larson, R., Jayas, D. S., White, N. D., 2012. Three dimensional temporal and spatial distribution of adult *Oryzaephilus surinamensis* and *Sitophilus oryzae* in stored wheat under different temperatures, moisture contents, and adult densities. *Journal of Stored Products Research*, 49, 155-165.

Jiggins, F. M., Hurst, G. D. D., Dolman, C. E., Majerus, M. E. N., 2000. High prevalence male-killing *Wolbachia* in the butterfly *Acraea encedana*. *J. Evol. Biol.*, 13, 495-501.

Kageyama, D., Narita, S., Imamura, T., Miyanoshita, A., 2010. Detection and identification of *Wolbachia* endosymbionts from laboratory stocks of stored-product insect pests and their parasitoids. *Journal of stored products research*, 46(1), 13-19.

Kajtoch, Ł., Kotaskova, N., 2018. Current state of knowledge on *wolbachia* infection among coleoptera: a systematic review. *PeerJ* 6, 4471.

Karut, K., Castle, S. J., Karut, Ş. T., Karaca, M. M., 2020. Secondary endosymbiont diversity of *Bemisia tabaci* and its parasitoids. *Infection, Genetics and Evolution*, 78, 104104.

Kiper, G., Yasan, E., 1992. Karadeniz Bölgesinde Depolanmış Tahıl (buğday, arpa ve pirinç) ve Çeltik Fabrikalarında Bulunan Zararlıların Saptanması, Yoğunluk ve Yayılışları Üzerinde Araştırmalar. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Zirai Mücadele Araştırma Yıllığı, Ankara, 142s.

Kljajić, P., ve Perić, I., 2007. Altered susceptibility of granary weevil *Sitophilus granarius* (L.)(Coleoptera: Curculionidae) populations to insecticides after selection with pirimiphos-methyl and deltamethrin. *Journal of Stored Products Research*, 43(2), 134-141.

Kocak, E., Schlipalius, D., Kaur, R., Tuck, A., Ebert, P., Collins, P., Yilmaz, A., 2015. Determining phosphine resistance in rust red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst.)(Coleoptera: Tenebrionidae) populations from Turkey. *Turk. J. Entomol*, 39, 129-136.

Koçak, E., Yılmaz, A., AlpKent, Y. N., Ertürk, S., 2018. Phosphine resistance to some coleopteran pests in stored grains across Turkey. In *Proc. of the 11th Int. Conf. on the IOBC-WPRS Bulletin*. Ljubljana (Vol. 130, 303-310).

Kocak, E., Yilmaz, A., AlpKent, Y. N., Bilginturan, S., 2018. Phosphine resistance of rusty grain beetle *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera: Laemophloeidae) populations in Turkey. *Scientific Papers*, 286.

Koçak, E. ve Ünal, H., 2019. Endosymbiont Microorganisms in Rusty Grain Beetle *Cryptolestes ferrugineus* (L.) Populations. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7, 93-96.

Koçak, E. ve Yaman, M.O., 2019. Endosymbiotic Microorganisms in Rice Weevil *Sitophilus oryzae* (L.) Populations. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7(sp2), 82-85.

Kuchy, A. H., Wani, A. A., Kamili, A. N., 2016. Cytogenetic effects of three

commercially formulated pesticides on somatic and germ cells of *Allium cepa*. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(7), 6895-6906.

Lawson, E. T., Mousseau, T. A., Klaper, R., Hunter, M. D., Werren, J. H. 2001. *Rickettsia* associated with male-killing in a buprestid beetle. *Heredity*, 86(4), 497-505.

Lei, T., Zhao, J., Wang, H. L., Liu, Y. Q., Liu, S. S., 2021. Impact of a novel *Rickettsia* symbiont on the life history and virus transmission capacity of its host whitefly (*Bemisia tabaci*). *Insect science*, 28(2), 377-391.

Li, Y. Y., Fields, P. G., Pang, B. P., Coghlin, P. C., Floate, K. D., 2015. Prevalence and diversity of *Wolbachia* bacteria infecting insect pests of stored products. *Journal of Stored Products Research*, 62, 93-100.

Liu, X. D., Guo, H. F., 2019. Importance of endosymbionts *Wolbachia* and *Rickettsia* in insect resistance development. *Current opinion in insect science*, 33, 84-90.

Lu, Q., Sun, Y., Ares, I., Anadón, A., Martínez, M., Martínez-Larrañaga, M. R., ... & Martínez, M. A., 2019. Deltamethrin toxicity: A review of oxidative stress and metabolism. *Environmental research*, 170, 260-281.

Lu, Y., Miao, S., Wang, Z., 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.

Lucas, É. ve Riudavets, J., 2000. Lethal and sublethal effects of rice polishing process on *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology*, 93(6), 1837-1841.

Mateos, M., Martinez Montoya, H., Lanzavecchia, S. B., Conte, C., Guillén, K., Morán-Aceves, B. M., ... & Tsiamis, G., 2020. *Wolbachia pipientis* associated with tephritid fruit fly pests: from basic research to applications. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1080.

Mazzetto, F., Gonella, E., & Alma, A. (2015). *Wolbachia* infection affects female fecundity in *Drosophila suzukii*. *Bulletin of Insectology*, 68(1), 153-157.

McCulloch, G. A., Gurdasani, K., Kocak, E., Daglish, G. J., Walter, G. H., 2020. Significant population genetic structuring in *Rhyzopertha dominica* across Turkey: Biogeographic and practical implications. *Journal of Stored Products Research*, 85, 101536.

McCutcheon, J. P., 2021. The genomics and cell biology of host-beneficial intracellular infections. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 37,

115-142.

McMeniman, C. J., Lane, R. V., Cass, B. N., Fong, A. W., Sidhu, M., Wang, Y. F., & O'Neill, S. L. (2009). Stable introduction of a life-shortening *Wolbachia* infection into the mosquito *Aedes aegypti*. *Science*, 323(5910), 141-144.

Merçot, H., ve Poinso, D., 2009. Infection by *Wolbachia*: from passengers to residents. *Comptes rendus biologies*, 332(2-3), 284-297.

Mohammed, M. A., Karaca, M. M., Döker, İ., Karut, K., 2020. Monitoring insecticide resistance and endosymbiont composition in greenhouse populations of *Bemisia tabaci* (Gennadius)(Hemiptera: Aleyrodidae) from Mersin, Turkey. *Phytoparasitica*, 48(4), 659-672.

Mutlu, C., Ögreten, A., Kaya, C., Mamay, M., 2019. Influence of different grain storage types on Khapra beetle, *Trogoderma granarium* Everts, 1898 (Coleoptera: Dermestidae), infestation in southeastern Anatolia (Turkey) and its resistance to malathion and deltamethrin. *Turkish Journal of Entomology*, 43(2), 131-142.

Nguyen, T. T., Collins, P. J., Duong, T. M., Schlipalius, D. I., Ebert, P. R., 2016. Genetic conservation of phosphine resistance in the rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.). *Journal of Heredity*, 107(3), 228-237.

Nikolouli, K., Colinet, H., Renault, D., Enriquez, T., Mouton, L., Gibert, P., ... & Bourtzis, K., 2018. Sterile insect technique and *Wolbachia* symbiosis as potential tools for the control of the invasive species *Drosophila suzukii*. *Journal of pest science*, 91(2), 489-503.

Obata, H., Manabe, A., Nakamura, N., Onishi, T., & Senba, Y., 2011. A new light on the evolution and propagation of prehistoric grain pests: the world's oldest maize weevils found in Jomon potteries, Japan. *PloS One*, 6(3), 14785.

Padi'na, S., Dal Bello G., Fabriziob M., 2002. Grain loss caused by *Tribolium castaneum*, *Sitophilus oryzae* and *Acanthoscelides obtectus* in stored durum wheat and beans treated with *Beauveria bassiana*. *Journal of Stored Products Research*, 38, 69–74. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00046-1.

Park, I. K., Lee, S. G., Choi, D. H., Park, J. D., Ahn, Y. J., 2003. Insecticidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtusa* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). *Journal of Stored products research*, 39(4), 375-384.

Perlman, S. J., Hunter, M. S., Zchori-Fein, E., 2006. The emerging diversity of *Rickettsia*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1598), 2097-2106.

Prusky, D., 2011. Reduction of the incidence of postharvest quality losses, and future

prospects. *Food Security*, 3(4), 463-474.

Rajashekar, Y., Bakthavatsalam, N., Shivanandappa, T., 2012. Botanicals as grain protectants. *Psyche*, 2012.

Rajagopal, R., 2009. Beneficial interactions between insects and gut bacteria. *Indian journal of microbiology*, 49(2), 114-119.

Ramírez-Cáceres, G. E., Moya-Hernández, M. G., Quilodrán, M., Nespolo, R. F., Ceballos, R., Villagra, C. A., Ramírez, C. C., 2019. Harboring the secondary endosymbiont *Regiella insecticola* increases predation risk and reproduction in the cereal aphid *Sitobion avenae*. *Journal of Pest Science*, 92(3), 1039-1047.

Rasool, B., Khalid, M., Rasul, A., Mansoor-ul-Hassan, F. J., Rasool, A., Munir, R., 2019. Red flour beetle *Tribolium castaneum* (Tenebrionidae, Coleoptera): Population dynamics, screening of *Wolbachia* in different regions and cereal foods of Pakistan. *Pak Entomol*, 41, 13-20.

Rovero, C., Brouqui, P., & Raoult, D., 2008. Questions on Mediterranean spotted fever a century after its discovery. *Emerging infectious diseases*, 14(9), 1360.

Semiatizki, A., Weiss, B., Bagim, S., Rohkin-Shalom, S., Kaltenpoth, M., Chiel, E., 2020. Effects, interactions, and localization of *Rickettsia* and *Wolbachia* in the house fly parasitoid, *Spalangia endius*. *Microbial ecology*, 80(3), 718-728.

Shi, P. Q., Wang, L., Liu, Y., An, X., Chen, X. S., Ahmed, M. Z., ... & Sang, W., 2018. Infection dynamics of endosymbionts reveal three novel localization patterns of *Rickettsia* during the development of whitefly *Bemisia tabaci*. *FEMS microbiology ecology*, 94(11), 165.

Soh, S., Ho, S. H., Ong, J., Seah, A., Dickens, B. S., Tan, K. W., ... & Lim, J. T., 2022. Strategies to Mitigate Establishment Using the *Wolbachia* Incompatible Insect Technique. *Viruses*, 14(6), 1132.

Stapel, J. O., Cortesero, A. M., Lewis, W. J., 2000. Disruptive sublethal effects of insecticides on biological control: altered foraging ability and life span of a parasitoid after feeding on extrafloral nectar of cotton treated with systemic insecticides. *Biological Control*, 17(3), 243-249.

Stouthamer, R., Breeuwer, J. A., Hurst, G. D., 1999. *Wolbachia pipientis*: microbial manipulator of arthropod reproduction. *Annual Reviews in Microbiology*, 53(1), 71-102.

Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü. Zirai Mücadele Teknik Talimatı. <https://bku.tarimorman.gov.tr/Zararli/KaynakDetay/163> - (18.07.2022).

Taylor, M. J., Bandi, C., Hoerauf, A., 2005. *Wolbachia* Bacterial endosymbionts of

filarial nematodes. *Advances in parasitology*, 60, 245-284.

Thangaraj, S. R., McCulloch, G. A., Subtharishi, S., Chandel, R. K., Debnath, S., Subramaniam, C., ... , Subbarayalu, M., 2019. Genetic diversity and its geographic structure in *Sitophilus oryzae* (Coleoptera; Curculionidae) across India—implications for managing phosphine resistance. *Journal of Stored Products Research*, 84, 101512.

Tuncbilek, A. S., Bakir, S., Derin, I., Bilbil, H., 2015. Screening of reproductive symbionts of *Sitophilus granarius*, *Sitophilus zeamais* and their parasitoid *Lariophagus distinguendus*. *Integrated Protection of Stored Products IOBC-WPRS Bulletin*, 111, 511-517.

Turkmen, K., 2018. Türkiye’de Pirinç Biti (*Sitophilus oryzae* L., Coleoptera: Curculionidae) Popülasyonlarında Endosimbiyont Bakteri *Wolbachia* Enfeksiyonun Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Isparta.

Vautrin, E., & Vavre, F., 2009. Interactions between vertically transmitted symbionts: cooperation or conflict?. *Trends in microbiology*, 17(3), 95-99.

Vignesh, S., Balachandar, D., Mohankumar, S., 2018. Variation in endosymbionts of phosphine resistant and susceptible key stored grain insect pests. *Madras Agricultural Journal*, 105, 1.

Weinert, L. A., Araujo-Jnr, E. V., Ahmed, M. Z., & Welch, J. J., 2015. The incidence of bacterial endosymbionts in terrestrial arthropods. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1807), 20150249.

Wernegreen, J. J., 2002. Genome evolution in bacterial endosymbionts of insects. *Nature Reviews Genetics*, 3(11), 850-861.

Werren, J.H., Windsor, D.M., 2000. *Wolbachia* infection frequencies in insects: evidence of a global equilibrium? *Proc. Roy. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 267 (1450), 1277-1285.

Wijegunawardana, N. D. A. D., Chandrasena, T. G. A. N., Abeyewickreme, W., Dassanayake, R. S., Xi, Z., Bourtzis, K., & Gunawardene, Y. S., 2018. Potential Use of a Combined Sterile Insect Technique (SIT) and *Wolbachia*-Based Approach for the Control of the Dengue Vector *Aedes albopictus* in Sri Lanka. 19th Conference on Postgraduate Research, International Postgraduate Research Conference 2018, Faculty of Graduate Studies, University of Kelaniya, Sri Lanka.

Xu, Y. Y., Liu, T. X., Leibe, G. L., & Jones, W. A., 2004. Effects of selected insecticides on *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae), a parasitoid of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Biocontrol Science and Technology*, 14(7), 713-723.

Yaman, M.O., 2018. Türkiye’de Pirinç biti *Sitophilus oryzae* (Curculionidae:Coleoptera) Popölasyonlarında Moleköler Tanı Yöntemleri Kullanarak Endosimbiyont Bakterilerin Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi), Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Isparta.

Yesir, N., ve Koçak, E., 2017. Türkiye’de pirinç biti (*Sitophilus oryzae*, coleoptera: curculionidae) popölasyonlarının malathion ve deltamethrin’e karşı direnç durumunun belirlenmesi. *Akademia Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi*, 14-25.

Yılmaz, A. ve Kocak, E., 2016. Phosphine resistance in the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae) populations from Turkey. In 2016 International Congress of Entomology. ESA.

Zengin, E. ve Karaca, İ., 2019. Uşak İlinde Depolanmış Buğdaylarda Bulunan Zararlı ve Yararlı Böcek Türleri ve Yaygınlıklarının Belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23(3), 738-742.

Zhang, H., Zhang, K. J., & Hong, X. Y. (2010). Population dynamics of noncytoplasmic incompatibility-inducing *Wolbachia* in *Nilaparvata lugens* and its effects on host adult life span and female fitness. *Environmental entomology*, 39(6), 1801-1809.

7 ÖZGEÇMİŞ

