



T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

TOKAT İLİNDE ŞEFTALİ (*PRUNUS PERSICA* L.) ZARARLISI
YAPRAKBİTİ (HEMIPTERA: APHIDOIDEA)
POPÜLASYONLARININ MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Halilullah DEMİR

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Meryem Şenay ŞENGÜL DEMİRRAK

TOKAT-2022



Bu tez çalışması;

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2021/04 no'lu proje ile desteklenmiştir.

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Dr. Öğr. Üyesi Meryem Şenay ŞENGÜL DEMİRAK danışmanlığında hazırlamış olduğum “TOKAT İLİNDE ŞEFTALİ (*PRUNUS PERSICA* L.) ZARARLISI YAPRAKBİTİ (HEMIPTERA: APHIDOIDEA) POPÜLASYONLARININ MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU” 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.

08/03/2022

Halilullah DEMİR

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim sürecince bana destek olan, yol gösteren, hedeflerime ulaşmam konusunda bana olan desteğini her zaman hissettiğim, sahip olduğu akademik bilgi ve tecrübelerinden her daim faydalandığım kıymetli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Meryem Şenay ŞENGÜL DEMİR' a sonsuz saygı ve minnetlerimi sunarım.

Tez savunmamı kabul eden ve değerli katkılarından dolayı sayın jüri üyeleri Doç. Dr. Yaşar GÜLMEZ ve Doç. Dr. Ertan Mahir KORKMAZ'a teşekkür ederim. Değerli fikirleriyle ve bilimsel tartışmalarımızla tezime katkı sağlayan sayın Doç. Dr. Adem KESKİN'e teşekkür ederim. Yaprakbitleri çalışmalarımızda bizi destekleyen ve örneklerinin morfolojik tür tespitlerinde yardımını esirgemeyen sayın Dr. Öğr. Üyesi Hayal AKYILDIRIM BEĞEN ve Prof. Dr. Gazi GÖRÜR'e teşekkürlerimi sunarım. Yaprakbiti morfolojisi konusunda tecrübeleriyle katkılarından dolayı sayın Doç. Dr. Işıl ÖZDEMİR'e teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana olan desteğini hep hissettiğim, kendime örnek aldığım, eğitimime verdikleri katkılarından dolayı sevgili babam Sebahattin DEMİR ve sevgili annem Meryem DEMİR'e minnettarım. Daima yanımda olan, desteklerini esirgemeyen kardeşlerime ve babaanneme de teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman en büyük destekçim, üniversite arkadaşım sevgili Muhsine ÖZEN'e teşekkür ederim. Son olarak, çalışmalarımda desteklerini esirgemeyen Arş. Gör. Burak KÜÇÜK, Arş. Gör. Çağlar BERKEL ve aynı laboratuvarı paylaştığım yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarım Melike GENÇAY ve Elif DÖNMEZOĞLU'na teşekkür ederim.

Halilullah DEMİR

08 Mart 2022

ÖZET

TOKAT İLİNDE ŞEFTALİ (*PRUNUS PERSICA* L.) ZARARLISI YAPRAKBİTİ (HEMIPTERA: APHIDOIDEA) POPÜLASYONLARININ MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Demir, Halilullah

Yüksek Lisans, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Meryem Şenay Şengül Demirak

Mart 2022, xi +74 sayfa

Bu tez çalışması, 2020-2021 yıllarında, Tokat ilinde bulunan şeftali zararlısı yaprakbiti türünü belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, Tokat merkeziyle yaklaşık 15 km mesafe uzaklıkta bulunan şeftali bahçeleri ziyaret edilmiştir. Toplamda 8 farklı lokalitede bulunan şeftali ağaçlarının yapraklarından 14 popülasyona ait yaprakbiti örnekleri toplanmıştır. Tür teşhisi hem morfolojik olarak hem de mitokondriyal sitokrom oksidaz I (COI) gen bölgesine dayalı DNA barkodlama yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar neticesinde, şeftali ağaçlarından toplanan farklı popülasyona ait yaprakbitlerinin Aphidoidea üst familyasının Aphididae familyasına ait *Brachycaudus* (*Appelia*) *prunicola* subsp. *schwartzi* (Börner, 1931) olduğu tespit edilmiştir. Bu şeftali zararlısı yaprakbiti türü Tokat ili için yeni kayıttır. Ayrıca, Türkiye’den *B. (Appelia) prunicola* subsp. *schwartzi* türüne ait COI gen dizisi ilk defa bu çalışma ile tespit edilmiştir. Bu çalışmanın, bu bölgede tespit edilen şeftali zararlısı türüne yönelik etkili mücadele yapılmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: COI, DNA barkodlama, *Prunus persica*, Tokat, Yaprakbiti

ABSTRACT

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF PEACH (*PRUNUS PERSICA* L.) PEST APHID (HEMIPTERA: APHIDOIDEA) POPULATIONS IN TOKAT PROVINCE

Demir, Halilullah

Master's Thesis, Department of Biology

Advisor: Asst. Prof. Dr. Meryem Şenay Şengül Demirak

March 2022, xi +74 pages

This thesis study was carried out in order to determine the peach pest aphid species in Tokat province in the years 2020-2021. In this context, the peach orchards, which are approximately 15 km away from the center of Tokat, were visited. Aphid samples from 14 populations were collected from the leaves of peach trees in 8 different localities. Species identification was performed both morphologically and by DNA barcoding method based on the mitochondrial cytochrome oxidase I (COI) gene region. As a result of these studies, aphids collected from peach trees belonging to different populations were identified as *Brachycaudus (Appelia) prunicola* subsp. *schwartzi* (Börner, 1931) that belongs to the family Aphididae of the Aphidoidea superfamily. This peach pest aphid species is a new record for Tokat province. Additionally, COI gene sequence of the species *B. (Appelia) prunicola* subsp. *schwartzi* from Turkey was determined for the first time in this study. It is thought that this study will contribute to effective control of the peach pest species detected in this region.

Keywords: Aphid, COI, DNA barcoding, *Prunus persica*, Tokat

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK SÖZLEŞME.....	i
JÜRİ KABUL VE ONAY	ii
ÖNSÖZ	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Yaprakbitleri	4
2.1.1. Yaprakbitlerinin genel özellikleri	6
2.1.2. Yaprakbiti-konak bitki ilişkisi	10
2.2. Türkiye’de Tespit Edilen Yaprakbitleri.....	12
2.3. DNA Barkodlama ile Yaprakbiti Tür Tespiti	15
2.3.1. Mitokondriyal DNA (mtDNA)	16
2.3.2. Mitokondriyal sitokrom oksidaz I (COI)	17
3. MATERYAL ve YÖNTEM	21
3.1. Çalışma Alanının Özellikleri	21
3.2. Örneklerin Toplanması ve Korunması.....	23
3.3. Morfolojik Metotlar	27
3.3.1. Yaprakbiti preparasyonlarının hazırlanması	27
3.4. Moleküler Analizler	29
3.4.1. Genomik DNA (gDNA) izolasyonu	29
3.4.2. İzole edilen gDNA’ların jelde görüntülenmesi.....	30
3.4.3. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR).....	31
3.4.4. PZR ürünlerinin varlığının tespiti	32
3.4.5. Sekans analizleri	32
3.4.6. Filogenetik analizler	33
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	34

4.1. Morfolojik Bulgular	34
4.1.1. <i>Brachycaudus (Appelia) prunicola</i> subsp. <i>schwartzi</i> (Börner, 1931).....	39
4.2. Moleküler Bulgular.....	43
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	53
6. KAYNAKLAR	58
7. EKLER	68
7.1. PZR Ürünlerinin DNA Dizileri.....	68
7.2. Özgeçmiş	73



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1. Yaprakbiti tarama ve toplama alanları hakkında bilgiler	24
Tablo 3.1. (Devam) Yaprakbiti tarama ve toplama alanları hakkında bilgiler	25
Tablo 3.1. (Devam) Yaprakbiti tarama ve toplama alanları hakkında bilgiler	26
Tablo 3.2. PZR’de kullanılan primerler.....	31
Tablo 4.1. Filogenetik analiz için kullanılan tüm sekanslar arasındaki genetik mesafe matriksi	52



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Yaprakbitinin beslenmesi ve tatlımsı madde oluşumu (Nalam ve ark., 2019).	5
Şekil 2.2. Yaprakbitleri ile karıncalar arasındaki mutualistik ilişki	5
Şekil 2.3. Balımsı madde ile beslenen karınca (Anonim, 2022).....	6
Şekil 2.4. Bir yaprakbitinin yaşam döngüsü (Schmidtberg ve Vicinskas, 2016)	7
Şekil 2.5. Yaprakbitlerinin farklı nesildeki formlarının bir arada bulunması.....	8
Şekil 2.6. Yaprakbitinin morfolojik yapısı	9
Şekil 2.7. Şeftali ağacı yapraklarının yaprakbitlerinden dolayı bükülmesi	11
Şekil 2.8. Türkiye’de şeftali zararlısı yaprakbitlerinin tespit edildiği iller	14
Şekil 2.9. Mitokondriyal genom yapısı (Anonim, 2022b).....	16
Şekil 3.1. 70 km ölçekli haritada Tokat ilinin görüntüsü.....	21
Şekil 3.2. 20 km ölçekli haritada yaprakbiti tarama alanının görüntüsü	22
Şekil 3.3. 4 km ölçekli haritada yaprakbiti tarama alanları	22
Şekil 3.4. 2 km ölçekli yaprakbiti örneklerinin toplama lokasyonları.....	22
Şekil 3.5. Şeftali zararlısı yaprakbiti örneklerinin alkol içeren eppendorf tüplerinde toplanması.....	27
Şekil 3.6. Yaprakbiti preparatlarının görüntüsü.....	28
Şekil 4.1. <i>Brachycaudus prunicola</i> subsp. <i>schwartzi</i> ’nin (1A ve 1B popülasyonları) <i>Prunus persicae</i> üzerindeki görünümü (a) ve genel görüntüleri (b, c).....	34
Şekil 4.2. <i>Brachycaudus prunicola</i> subsp. <i>schwartzi</i> ’nin (4A popülasyonu) <i>Prunus persicae</i> üzerindeki görünümü ve genel görüntüsü.....	35
Şekil 4.3. <i>Brachycaudus prunicola</i> subsp. <i>schwartzi</i> ’nin (5A ve 5B popülasyonları) <i>Prunus persicae</i> üzerindeki görünümü (a), ergin (b,c) ve kanatlı (d) genel görüntüleri	36
Şekil 4.4. <i>Brachycaudus prunicola</i> subsp. <i>schwartzi</i> ’nin (6C popülasyonu) <i>Prunus persicae</i> üzerindeki görünümü ve genel görüntüsü.....	37
Şekil 4.5. <i>Brachycaudus prunicola</i> subsp. <i>schwartzi</i> ’nin (8A popülasyonu) <i>Prunus persicae</i> üzerindeki görünümü ve genel görüntüsü.....	38

Şekil 4.6. İzole edilen gDNA'ların jel görüntüsü	43
Şekil 4.7. %1.5 agaroz jel elektororezi ile PZR ürünlerinin varlığının tespiti.....	44
Şekil 4.8. COI gen dizilerinin hizalanması	46
Şekil 4.9. COI dizileri ile gerçekleştirilen BLAST sonuçları	46
Şekil 4.10. <i>Brachycaudus</i> türlerine ait ML yöntemi ile çizilen filogenetik ağaç	48
Şekil 4.11. <i>Brachycaudus</i> türlerine ait MP yöntemi ile çizilen filogenetik ağaç.....	49
Şekil 4.12. <i>Brachycaudus</i> türlerine ait NJ yöntemi ile çizilen filogenetik ağaç	50



SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar	Açıklama
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
DNA	Deoksiribonükleik Asit
gDNA	Genomik Deoksiribonükleik Asit
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
mtDNA	Mitokondrial Deoksiribonükleik Asit
tRNA	Taşıyıcı Ribonükleik Asit
rRNA	Ribosomal Ribonükleik Asit
COI	Sitokrom Oksidaz I
COII	Sitokrom Oksidaz II
CytB	Sitokrom B
F-ATP6	F-ATPaz alt ünitesi 6
F-ATP8	F-ATPaz alt ünitesi 8
NADH1	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Dehidrogenaz 1
kb	Kilo baz
bç	Baz çifti
ark.	Arkadaşları
spp.	Spices pulural
EF-1 α	Elongation Factor 1-alpha
KOH	Potasyum Hidroksit
rpm	revolutions per minute
TAE	Tris-Asetat-EDTA
EtBr	Etidyum Bromür
ITS2	İnternal transcribed spacer 2
<i>B.</i>	<i>Brachycaudus</i>
subsp.	Alt tür

1. GİRİŞ

Şeftali meyvesi, ülkemizde yetiştiriciliği yapılan ve ekonomik açıdan büyük öneme sahip meyvelerden biridir. Tarım ve Orman Bakanlığı'nın 2019 verilerine göre, Türkiye'de 17 474 000 adet meyve veren şeftali ağacı bulunurken, 3 910 000 adet meyve vermeyen şeftali ağacı bulunmaktadır. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), Bitkisel Üretim İstatistikleri 2020 verilerine göre, Türkiye'de 892 048 ton şeftali üretimi olmuştur (Anonim, 2020a). Tokat ilinde ise 873 hektarlık alanda şeftali yetiştiriciliği yapılmaktadır. Toplam meyve veren ağaç sayısı 311 467 iken meyve vermeyen ağaç sayısı ise 44 530 adettir. Tokat'ta 2019 yılında 20 086 ton şeftali üretimi olmasına rağmen, 2020 yılında üretim 11 782 ton olarak belirtilmiştir (Anonim, 2019; Anonim, 2020). Bu veriler doğrultusunda, Tokat ilindeki şeftali yetiştiriciliğinin pazardaki payı, 2019-2020 yılları arasında, %2.41'den %1.3'e düşmüştür. Dünyada ve ülkemizde, tarımsal üretimdeki azalmalar, iklim, ekolojik, ekonomik gibi birçok nedenden kaynaklanmasının yanı sıra, tarımsal zararlılar da (böcek, akar, nematod, vb.) bu kayıpları ciddi şekilde etkilemektedir. Bu zararlılardan yaprakbitleri, bulundukları konak bitkiye zarar vermeleri ve bitki virüslerine aracı olmaları nedeniyle büyük öneme sahiptirler.

Yaprakbitleri (Aphidoidea) yaklaşık 87 000 bitki türü üzerinde beslenen önemli tarım zararlılarıdır (Görür ve ark., 2019). Konak bitkilerin birçok yerinde bulunurlar. Bu yerler; kök, meyve, gövde, dal, sürgün ve yapraklarıdır. Bulundukları yerlerde koloniler meydana getirirler ve bitkinin özsuğunu emerek beslenirler. Yapraklarda kıvrılma meydana getirerek şekil değişikliği ve deformasyonlar oluştururlar. Yaprakbitleri beslenirken çıkardıkları tatlımsı salgı maddesi bitkinin fotosentez yapmasına engel oluşturur, meyvenin ürünlerini lekeleyerek kalite ve verim düşüklüğüne sebep olur. Bazı yaprakbitleri ise bitkilerin özsuğunu emerken salgıladığı salgılardan dolayı yaprakları içeri doğru kıvrırırlar ve böylece yaprakların iç kısmında gizlenerek kendilerini doğal ve kimyasal düşmanlarına karşı korurlar. Meyveye verdiği bu zararların dışında birçok virüs hastalığına da vektörlük yapmaktadırlar .

Yaprakbitleri ile mücadelede birçok kimyasal ve biyolojik ajanlar kullanılmaktadır. Buna rağmen uygulanan kimyasal-biyolojik-entegre mücadele yöntemlerinin yetersiz olduğu ve son yıllarda yaprakbitlerinin yayılım alanlarının hızla arttığı ifade edilmektedir (Özdemir, 2020) Yaprakbitlerinin üreme potansiyelleri, yayılımı ve kullanılan pestisitlere karşı direnç kazanmaları, bu böceklerin ekonomik öneme sahip istilacı türler arasında ilk sıralarda değerlendirilmesine neden olmaktadır (Blanchard ve ark., 2019). Eğer yeterli ve etkili önlemler alınmazsa, bitkilerde yaprakbiti kaynaklı zararların besin kıtlığı gibi evrensel sorunlara neden olması da kaçınılmazdır.

Türkiye’de bugüne kadar belirlenen yaprakbiti tür sayısı 591’dir (Kök ve Özdemir, 2021). Geleneksel yöntemlerle tür teşhisleri ve taksonların ayırımında morfolojik karakterlerin kullanılması bazen ciddi sistematik problemlere neden olabilmektedir. Özellikle küçük boyutlu olmaları ve vücut yapılarının benzer olması yaprakbitlerinin tür teşhisini zorlaştırmaktadır (Akyıldırım Beğen, 2016). Morfolojik olarak benzer taksonların ayırımında veya türlerin tanımlanmasında karşılaşılan sorunların aşılmasında, moleküler yöntemler çoğu kez daha kesin sonuçlara ulaştıracak veriler sağlamaktadır. Moleküler çalışmalar ve DNA barkodlama için kullanılan markır gen bölgeleri şunlardır: sitokrom oksidaz I/II (COI/COII), sitokrom oksidaz B, F-ATPaz alt ünitesi 6/8, Nikotinamid Adenin Dinükleotit Dehidrogenaz-1, 12S/16S ribozomal RNA, Elongasyon Faktörü-1 α ve Internal Transcribed Spacer 2 (ITS2) (Hebert ve ark., 2003; Valenzuela ve ark., 2007). DNA barkodlama, evrensel bir biyolojik tanımlama yöntemi olup diğer birçok taksonda olduğu gibi yaprakbiti türlerinin moleküler tür teşhisinde de etkin bir şekilde kullanılmaktadır (Rebijith ve ark., 2013; İnal, 2018). Ancak ülkemizde yaprakbitleri ile ilgili moleküler çalışmalar henüz yeterli düzeyde değildir.

Hem tarıma verdikleri zararlar hem de farklı habitatlarda bitkiye verdikleri zararlar ile mücadelede yaprakbiti faunasına yönelik çalışmaların önemi büyüktür. Ülkemizde bu çalışmalar sınırlı olmakla birlikte Tokat ilini de kapsayan birçok bölgede kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca şeftali zararlısı yaprakbitlerine yönelik bir çalışma da yoktur. Tokat ekonomisinde önemli bir yeri olan şeftali meyvesinde zararlara neden olan yaprakbitlerinin belirlenmesi ve bunlarla mücadele stratejilerinin belirlenmesi tarımsal üretim açısından büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, Tokat ilinde şeftali ağaçlarında (*Prunus persica* L.) tespit edilen yaprakbitlerinin morfolojiye dayalı tür teşhisinin yapılması ve moleküler yöntemlerle karakterizasyonu amaçlanmaktadır.



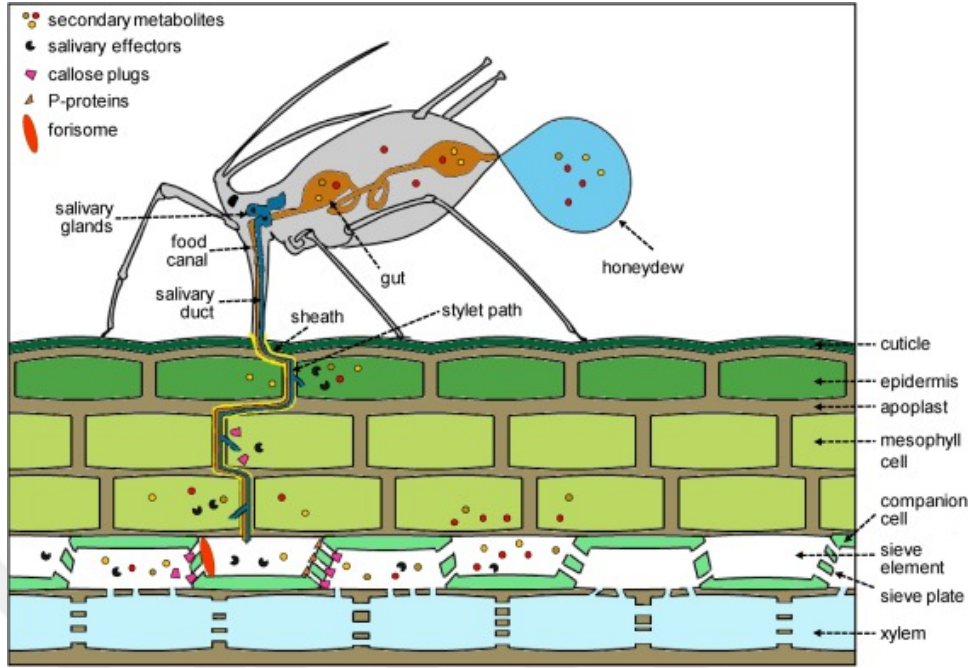
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yaprakbitleri

Yaprakbitleri Insecta sınıfının Hemiptera ordusunun Sternorrycha alt ordusunda Aphidoidea üst familyasında yer almaktadır. Aphidoidea üst familyası 3 familya ile temsil edilmektedir. Bu familyalar; Aphididae, Phyloxeridae ve Adelgidae'dir. Yaprakbiti türlerinin çoğu (>%97) Aphididae familyası içerisinde yer almaktadır (Podsiadlowski, 2016). Tüm dünyada yaprakbitleri 5 558 tür, 703 cins ve 30 alt tür ile temsil edilmektedir (Mille ve ark., 2020). Türkiye'de belirlenen yaprakbiti türü sayısı ise 591 olup, 147 cinse ait 26 alt tür ile temsil edilmektedir (Kök ve Özdemir, 2021).

Yaprakbitleri dünyada geniş yayılım alanına sahip olmakla birlikte, daha çok ılıman bölgelerde bulunurlar. Özellikle değişen ekolojik şartlar ve iklim değişikliklerin etkisiyle daha geniş alanlarda yayılım göstermektedirler. Yaprakbitlerinin rüzgar yoluyla uzun mesafelere göç edebilecekleri ve bu nedenle farklı coğrafik bölgelerde bulunabilecekleri belirtilmektedir (Isard ve ark., 1990). Frenk üzümü ve marul yaprakbiti, *Nasonovia ribisnigri*'nin Yeni Zelanda'dan Tazmania'ya rüzgar yoluyla yayıldığı düşünülmektedir (Hill ve ark., 2012). Asya kökenli soya fasulyesi yaprakbiti olan *Aphis glycines* ise Amerika'da görülmüştür (Tilmon ve ark., 2011). Dünyada yayılım göstermeleri yaprakbiti ile etkili mücadelenin gerekliliğini göstermektedir.

Yaprakbitleri, stilet olarak adlandırılan özelleşmiş sokucu-emici ağız yapıları aracılığıyla bitkilerin floem dokusundan bitki özsuğunu emerek beslenirler. Bu sırada yaprakbiti karbonhidrat ve amino asit bakımından zengin besin almış olur. Aldıkları fazla karbonhidratlı bileşikler sifinkulilerden dışarı tatlımsı bir madde şeklinde salgırlar. Şekil 2.1'de yaprakbitinin beslenmesini ve tatlımsı maddenin salgılanması gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Yaprakbitinin beslenmesi ve tatlımsı madde oluşumu (Nalam ve ark., 2019)

Salgılanan tatlımsı madde yaprakbiti ve karınca arasında mutualistik ilişkinin doğmasına sebep olur (Şekil 2.2). Karıncalar besin kaynağı olarak salgılanan ballı maddeyi kullanırken, yaprakbitlerini de doğal düşmanlarına karşı korurlar (Şekil 2.3).



Şekil 2.2. Yaprakbitleri ile karıncalar arasındaki mutualistik ilişki



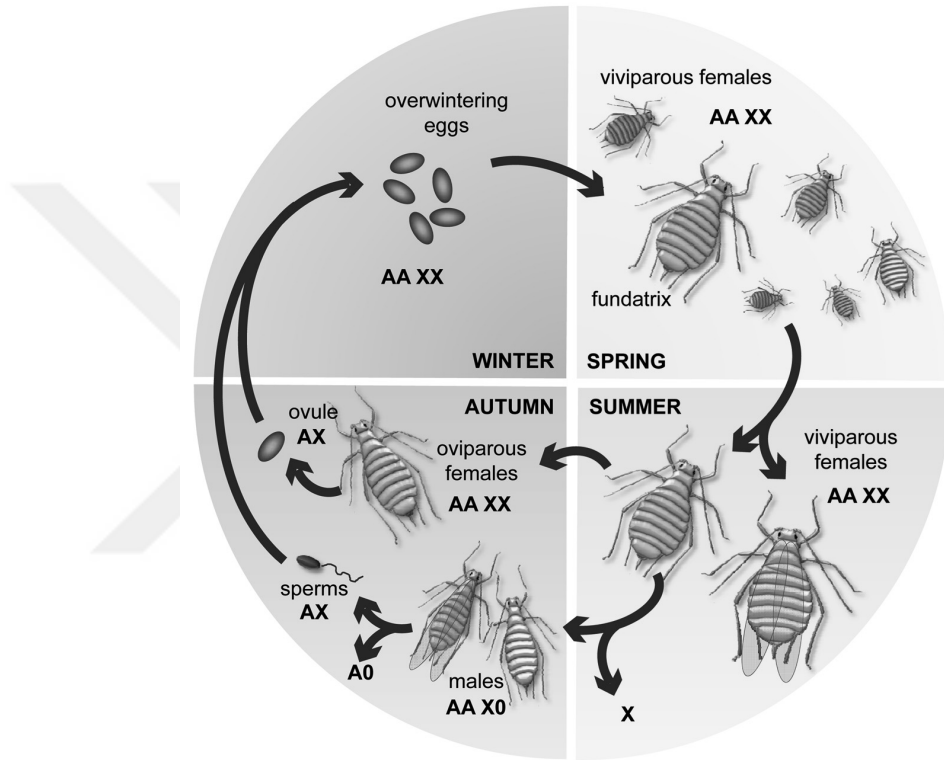
Şekil 2.3. Balımsı madde ile beslenen karınca (Anonim, 2022)

2.1.1. Yaprakbitlerinin genel özellikleri

Çoğu yaprakbiti, yeşil, siyah, kahverengi, pembe veya neredeyse renksiz olabilen yumuşak gövdelere sahiptir (Anonim, 2022a). Yaprakbitlerinin vücut yapısı oval şeklindedir. Yaprakbitlerinin renk çeşitliliği hemolimfte bulunan pigmentlerden meydana gelir. Yaprakbitlerinin aynı tür içerisinde farklı morfolojik birçok formlar bulundurması poliformik özellik vermektedir. Ergin formdaki yaprakbitlerinin bazıları kanata sahipken bazılarınınla ise yoktur.

Yaprakbitleri, hem anholosiklik (yumurta bırakılmaz) hem de holosiklik (kış yumurtaları üretilir) yaşam döngülerine sahiptirler. Bazı türlerde, örnek *Aulacorthum solani*, her iki yaşam döngüsü de görülebilir. Yaprakbitleri kış aylarında yaprak üzerinde diapoz halinde yumurta formunda bulunurlar. Kışı geçiren yumurtalardan ilkbahar başında kanatsız, partenogenetik olarak çoğalabilen viviparların olduğu fundatrix formlar meydana gelir (Şekil 2.4). Bunlar, ilkbahardan yazıya geçerken yazlık vivipar olarak adlandırılan, kanatlı veya kanatsız fundatrigeniae formlarını oluştururlar.

Bahar ve yaz dönemlerinde görülen eşeysiz üreme birçok jenerasyon boyunca tekrar edebilir. Bulundukları bitkide popülasyon arttıkça, kanatlı formlar uçarak başka konukçuya geçerek orada koloni oluştururlar. İleri yaz ve sonbahar döneminde, sexopor (erkek ve dişi) bireyler, kanatlı dişi ve erkek yavrular meydana getirirler ve eşeyli üreme gerçekleşir. Dişiler, kışı geçirmek üzere döllenmiş yumurta bırakırlar. Bir sonraki bahar döneminde döngü tekrar devam eder.



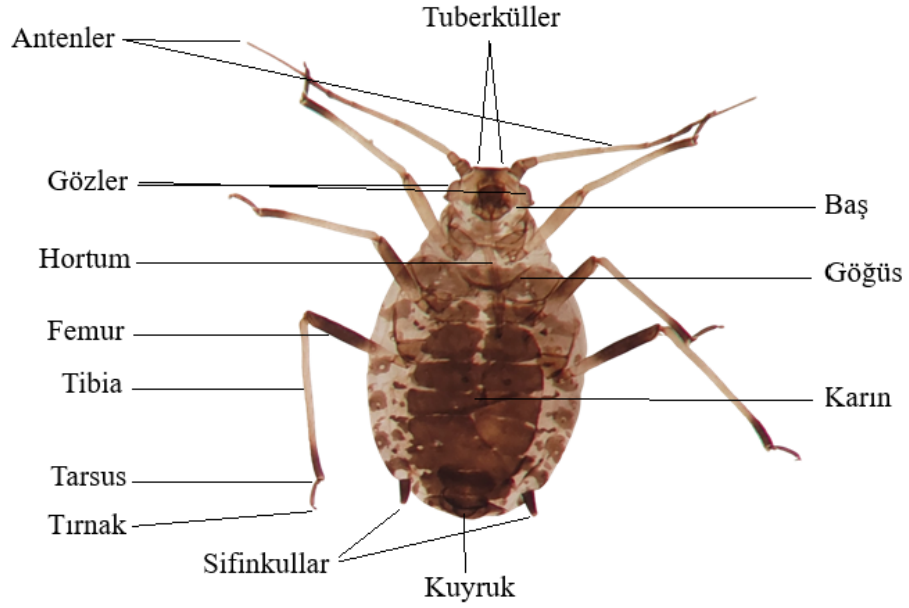
Şekil 2.4. Bir yaprakbitinin yaşam döngüsü (Schmidtberg ve Vicinskas, 2016)

Yaprakbitlerinin eşeyli üreme ile değişiklik gösteren döngüsel partenogenez geçirmeleri, “fenotipik plastisite” olayına güzel bir örnektir (Kindlmann ve Dixon, 1989). Yaprakbitlerinde partenogenezin 200 milyon yıldan daha önce gerçekleştiği ve teleskopik jenerasyonların (pedogenez) evrimine sebep olduğu ifade edilmektedir (Schmidtberg ve Vilcinskas, 2016). Bu olay, yaprakbitlerinin kısa sürede olağanüstü üreme oranına sahip olmalarının yanı sıra aynı nesilde farklı fenotipik özelliklerin görülmesine de neden olmaktadır (Dixon, 1985) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Yaprakbitlerinin farklı nesildeki formlarının bir arada bulunması

Yaprakbitlerinin vücut yapısı segmentlidir ve segmentler genellikle belirgin yapıdadır. Baş, göğüs ve karın olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır. İlk segment olan baş segmentinin ön kısmı ile karın segmentinde bulunan kuyruğun arasındaki mesafe vücut uzunluğu olarak isimlendirilir (Akyıldırım Beğen, 2016). Baş küçük yapıya sahiptir ve baş segmentinde bir çift anten, hortum, bir çift göz bulunmaktadır. Göğüs ve karın segmentinde lekeler vardır. Karının beşinci segmentinde bir çift sifunkuli mevcuttur. Kanatlı yaprakbitleri ön ve arka olmak üzere iki kanada sahiptir. Yaprakbitlerinde üç çift bacak vardır. Karın segmentinin son kısmında ise kuyruk bulunmaktadır (Blackman ve Eastop, 2006). Şekil 2.6’te yaprakbitinin vücut yapısı verilmiştir.



Şekil 2.6. Yaprakbitinin morfolojik yapısı

Yaprakbiti vücudunda bulunan bazı morfolojik karakterler yaprakbiti sistematğinde kullanılmaktadır. Bu morfolojik karakterler; baş segmentinde bulunan anten tuberküllerinin gelişim derecesi, karın segmentinde bulunan tüylerin sayısı, konumu, rengi, şekli ve kök rengi, kuyruğun şekli ve kuyruğun üzerinde bulunan tüylerin sayısı, segmentler üzerinde bulunan rhinaria adı verilen organların sayısı, konumu, şekli, antenin son segmentinin taban kısmına oranı, bitki özsuğunu emerken kullandığı hortumun yapısı, uzunluğu, kanatların yapısında damarlanma olup olmaması, bacak kısımları olan tarsus ve tibia kısımları, karın kısmında bulunan bir çift sifunkuli ve marjinal tuberküllerin varlığıdır. Bu morfolojik karakterler türe özgül olabilmektedir (Görür, 2018; Parmaksız Durmaz, 2019).

2.1.2. Yaprakbiti-konak bitki ilişkisi

Yaprakbitleri iğneye benzer ağız yapıları (stiletler) sayesinde, bitki simplast dokusunu delerek bitki özsuğunu emerler. Bitki dokusuna zarar vererek beslenen birçok böceğin aksine, yaprakbitleri bu özel ağız yapısı sayesinde epidermal ve parankimal hücreler arasından kalburlu borulara (sieve tubes) ulaşırlar ve çok az doku tahribatı yaparlar. Bitkilerde kalburlu borular doku tahribatına hassasiyet gösterir ve bu boruların tıkanmasını sağlayan mekanizmayı devreye sokarak zararlının beslenmesini engeller (Knoblauch ve van Bel, 1998). Fakat yaprakbiti floem dokusuna o kadar az zarar verir ki bitki hücrelerinin canlı kalması kalburlu boru tıkanma savunma mekanizmasının devreye girmesini engeller (Will ve van Bel, 2006; Bhatia ve ark., 2011). Bu mekanizmanın yaprakbiti tarafından engellenmesi onun besin kaynağının sürekliliği için önem arz etmektedir. Ayrıca yaprakbitleri, stilet sokumu ve özsuğu beslenmesi sırasında tükürük salgırlar. Bu salgıda kalsiyum-bağlayan proteinler bulunur. Yaprakbitinin beslenme davranışı sırasında bu proteinler bitki dokularındaki kalsiyum ile etkileşime geçer. Dolayısıyla, yaprakbitinin bitkiye verdiği minimal doku zararı ve kalsiyum-bağlayan proteinlerin bitkiye aktarılması, bitkinin yaprakbiti zararlısına karşı savunma mekanizmasının tetiklenmemesine veya geç tetiklenmesine neden olur (Will ve van Bel, 2006). Ayrıca yaprakbitinin tükürük salgıları stilet etrafında bir kılıf oluşturarak fiziksel bariyer görevi görür ve sokum bölgesinde bitkinin bağışıklık yanıtı oluşturmalarını engeller (Kumar, 2019).

Yaprakbitinin bitki özsuğu ile beslenme davranışı neticesinde bitkide birçok değişiklik meydana gelir. Bunlar; yaprağın solması, kuruması, bükülmesi ve daha ciddi anlamda bitkinin fotosentez yapabilme kapasitesinin azalması ve ölümü şeklindedir. Şekil 2.7’de yaprakbitlerinin salgıladığı maddeden dolayı yaprakların büküldüğü görülmektedir.



Şekil 2.7. Şeftali ağacı yapraklarının yaprakbitlerinden dolayı bükülmesi

Yaprakbitinin salgıladığı tükürüğün bitkinin hormonal dengesini bozarak hücre bölünmesinde değişik oluşturabileceği ve sonuç olarak gal oluşumuna neden olabileceği ifade edilmektedir (Kumar, 2019). Her ne kadar bu oluşum bitki zararlısını belirli bölgede tutarak bitkiyi koruma amaçlı geliştirilen bir mekanizma olarak düşünülse de gal içerisinde yaprakbitinin gelişmesine, doğal düşmanlarından ve insektisitlere karşı koruyan bir kalkan oluşturmaya sebep olmaktadır (Wool, 2004; Sorensen, 2009). Yaprakbiti tarafından atılan balımsı madde, güneş ışığının yoğun olduğu zamanlarda bitki yaprağının yanmasına neden olur. Ayrıca, saprofit ve patojen mantarların gelişmesi için de uygun bir ortam oluşturur. Bu madde üzerinde fumajin mantarı çoğalarak yaprakları siyah bir tabakayla örter ve fotosentezi engeller. Bitki stomalarının kapanması da gaz alış-verişini engelleyerek yaprağın kopmasına sebep olur.

Böcekler, çoğu bitki virüslerinin taşınmasında ve yayılmasında vektör görevi görürler. Bunlar arasında yaprakbitleri, aracı oldukları yüzlerce bitki patojeni arasında bitki virüslerinin yaklaşık %30'una vektörlük yaptığı ifade edilmektedir (Brault ve ark., 2010). Bu virüslerden *Alfamovirus*, *Carlavirus*, *Cucumovirus*, *Potyvirus*, *Caulimovirus* ve *Polerovirus* yaprakbitlerinin aracı olduğu bazı virüslere örnektir.

Şarka virüs hastalığına sebep olan *Plum pox virüs*'ü (PPV) (Potyviridae; *Potyvirus*), yaklaşık 50'den fazla yaprakbiti türü tarafından bulaştırılır ve ana konukçuları kayısı, şeftali, erik, kiraz ve vişne ağaçlarıdır. Virüsler genellikle yaprakbiti stiletleri aracılığıyla beslenme sırasında bitkiye aktarılır (Nault, 1997). Farklı yaprakbiti-virüs etkileşimleri görülmektedir ve nonsirkülatif veya sirkülatif yollarla virüsler bulaşmaktadır (Andret-Link ve Fuchs, 2005). Bitki virüsü ve onun bir veya birkaç vektörü ile olan spesifik etkileşimi, virüsün taşınmasındaki özgüllüğü neden olur (Andret-Link ve Fuchs, 2005). Dolayısıyla, bir yaprakbiti tarafından taşınan virüsün, nematod veya başka bir eklem bacaklı tarafından bulaştırılmamaktadır. Bazı virüsler, yaprakbitinde çoğalarak adaptif bir avantaj sağlarlar ve bu nedenle yaprakbiti bir ömür boyu bulaşıcı olabilir (Kumar, 2019). Virüs ile enfekte olan bir konak bitkisi, birçok bitki savunma mekanizmasının azalmasına ve yaprakbiti istilasına karşı daha savunmasız hale gelmesine neden olmaktadır. Yaprakbiti-virüs arasındaki etkileşimlerin daha iyi anlaşılması, yaprakbiti kaynaklı hastalıklar ile mücadelede atılması gereken en önemli adımlardan biridir.

2.2. Türkiye’de Tespit Edilen Yaprakbitleri

Türkiye’nin yaprakbiti faunası çalışmaları yirminci yüzyılda başlamıştır. Çanakçıoğlu (1975)’na ait “Türkiye’nin *Aphidoidea*’sı adlı çalışma Türkiye’de yapılan ilk kapsamlı çalışma olup 258 yaprakbiti türü tespit edilmiştir. 2000’li yıllara kadar Türkiye’nin yaprakbiti faunası belirlenmeye çalışılmıştır (Tuatay 1988; 1990; 1991; 1993; 1999). Remaudière ve ark. (2006)’na göre Türkiye faunasına ait 410 yaprakbiti türü listelenmiştir. Görür ve ark. (2012)’na ait çalışmada, 1903’ten 2011’e kadar tespit edilen yaprakbitleri, 12 alt tür ve 478 tür olarak listelenmiştir. Daha sonraki çalışmalar da Türkiye faunasına 100’den fazla tür eklemiştir. Türkiye’de 1903’ten 2020’ye kadar kaydedilen Aphidomorpha’nın üç üst familyasına dağılmış üç familyaya ait 15 alt familya, 147 cins ve 26 alt tür olmak üzere toplamda 591 yaprakbiti türü listelenmiştir (Kök ve Özdemir, 2021). Türkiye yaprakbiti faunası ile ilgili çalışmalar sonucunda Tokat ilinde ise 12 türe rastlanılmıştır. Yapılan çalışmalar ise kronolojik sıraya göre şu şekildedir:

Tuatay (1988), Türkiye'nin yaprakbiti faunası IV. Kısım çalışmasında, 30.04.1962 tarihinde Tokat'ta K. Kunter tarafından toplanmış olan yaprakbitinin *Acyrtosiphon* (*Acyrtosiphon*) *pisum* (Harris, 1776) olduğu tespit edilmiştir.

Kılıç ve Aykaç (1989)'ın Tokat, Samsun ve Amasya illerini kapsayan yaprakbiti faunasını belirlemeye yönelik yaptıkları çalışmada, Tokat ilinde bir arazide *Hyapolterus pruni* (Geoffroy, 1762) yaprakbiti tespit edilirken iki arazide ise *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) tespit edilmiştir.

Tuatay (1991), Türkiye'nin yaprakbiti faunası III. Kısım çalışmasında, 12.07.1967 tarihinde Tokat ili Niksar ilçesi Göçpınar'da toplanmış olan yaprakbitinin *Myzus* (*Nectarosiphon*) *persicae* (Sulzer, 1776) olduğu tespit edilmiştir.

Tuatay (1993), Türkiye'nin yaprakbiti faunası I. kısım çalışmasında, 22.07.1965 tarihinde Tokat'ta H. Kiroğlu'nun toplamış olduğu yaprakbitinin *Aphis fabae* (Scopoli, 1763) olduğu tespit edilmiştir.

Gürkan (2010) çalışmasında, Tokat Kazova bölgesinde domates üzerinde *Aphis craccivora*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Aphis fabae*, *Aphis gossypii* ve *Myzus persicae* türlerine rastlanmıştır.

Şenol ve ark. (2014), 17.07.2011 tarihinde Tokat ilinde *Betula* sp. üzerinden aldıkları yaprakbitinin *Monaphis antennata* (Kaltenbach, 1843) olduğunu belirlemişlerdir.

Yanar ve ark. (2018), Tokat'ta üniversite kampüsünde bulunan elma ağaçlarından topladıkları yaprakbitinin *Dysaphis deyecta* olduğunu belirlemişlerdir.

14

2.3. DNA Barkodlama ile Yaprakbiti Tür Tespiti

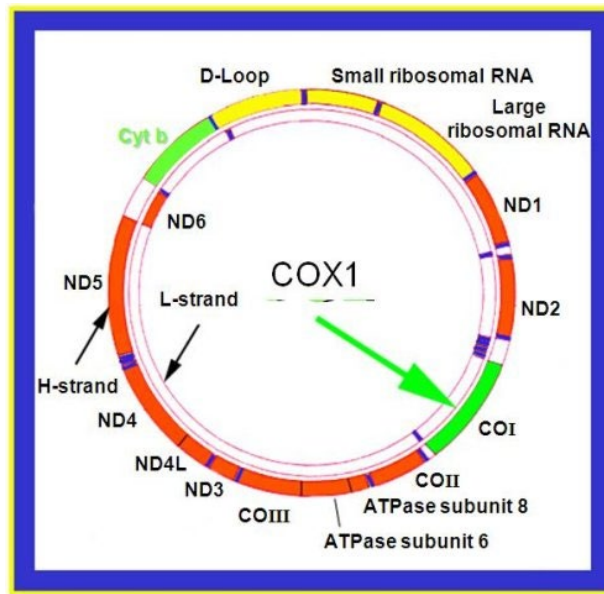
Yaprakbiti tür tespitinin doğru yapılması, bu zararlılar ile mücadele için oldukça önemlidir. Tür teşhisinde kullanılan anahtarların doğru yorumlanamamasıyla ortaya çıkan yanlış tür teşhisinin yanı sıra, birçok taksonomik karakterlerin evrimsel süreçte yakın türler için belirleyici olmaması, morfolojik anahtarların belirli yaşam evresindeki bireye veya cinsiyete yönelik olması, konukçu ve çevresel faktörler nedeniyle ortaya çıkan fenotipik plastisitenin varlığı, yaprakbiti tür teşhisini zorlaştırmaktadır (Footit ve ark., 2008). Ayrıca, farklı konak ve farklı iklim koşullarında oluşabilecek olağan dışı morfolojik formların varlığı, kompleks yaşam döngüsüne sahip olmaları, ilkbahar-yaz mevsimlerinde konak değişikliği yapabilmeleri ve partenogenetik üremeleri, yaprakbiti tür teşhisini doğru yapılmasını engelleyen en önemli etkenlerdir. Morfolojiye dayalı tür teşhisi ile ortaya çıkan sınırlamalar nedeniyle, yaprakbitleri için hızlı ve doğru tür ayırımı ve tanımlanmasını sağlayacak moleküler yöntemlerin geliştirilmesi ve kullanılması kaçınılmazdır.

Böcek sistematğinde kullanılan moleküler yaklaşımlar, nükleer, mitokondriyal veya ribozomal DNA dizi analizlerini kapsamaktadır (Caterino ve ark., 2000). Genomik yaklaşımlara dayalı türlerin teşhisi, DNA dizilerindeki çeşitliliklerden faydalanarak yapılmaktadır. Buna göre, DNA dizilerindeki farklılıklar, moleküler evrim sürecinde oluşabilecek genetik uzaklaşmayı ifade etmektedir. 2003 yılında önerilen “DNA barkodlama” yöntemi ile kısa bir DNA dizisi (barkod) kullanılarak böcekler dahil çoğu canlının tür teşhisi yapılmaktadır (Hebert ve ark., 2003). Bir canlıya ait DNA dizisi, belirli genlerin veya gen ailelerinin evrimini değerlendirmek, bir türün evrimsel değişimini anlamak, farklı türlerin filogenetik analizlerini yapmak ve sistematik sorunların çözülmesi için kullanılmaktadır (Hoy, 2003). Ayrıca DNA dizileri, tür içi varyasyon analizi, kriptik türlerin tanımlanması, coğrafik varyasyonun anlaşılması ve heterozigotluk tahminleri için de kullanılmaktadır.

Her DNA dizisi evrimsel ilişkiyi anlamak için uygun değildir ya da bazı organizmaların evrimsel durumu hakkında doğru fikir edinmemizi sağlayamamaktadır. Canlılar arasındaki filogenetik analizlerin doğru yapılabilmesi için daha korunmuş gen dizileri ve daha yavaş evrimsel değişime maruz olan gen bölgeleri tercih edilmektedir. Moleküler sistematik çalışmalarında sıklıkla kullanılan DNA gen bölgeleri şunlardır: (1) Nükleer ribozomal genler (16S/18S/5S/28S rRNA, ribozomal büyük alt birim (LSU), internal transcribed spacer (ITS)); (2) mitokondriyal genler (sitokrom oksidaz I ve II (COI ve COII), sitokrom oksidaz b (CytB); (3) kloroplast genler (maturaz geni (matK)), rubisco (rbcL) (Patwardhan ve ark., 2014). Bunlardan mitokondriyal genler, filogenetik, popülasyon genetiği, DNA barkodlama, böcek-konak ilişkisi ve ekolojik adaptasyon çalışmalarında büyük öneme sahiptir (Dong ve ark., 2021).

2.3.1. Mitokondriyal DNA (mtDNA)

Böcek mitokondriyal genomu (mitogenom), küçük, çift-iplikli ve halkasal yapıda olup, 14-20 kb büyüklükte, intron bulundurmayan ve her iki DNA ipliğinde kompakt şekilde sıralanmış genlerden oluşmaktadır (Şekil 2.9) (Cameron, 2014). Mitokondriyal genomlarda küçük ve büyük alt birim ribozomal RNA kodlayan 37 gen, 13 protein ve 22 taşıyıcı RNA bulunmaktadır (Taanman, 1999).



Şekil 2.9. Mitokondriyal genom yapısı (Anonim, 2022b)

Mitokondriyal genomlarda bazı bölgeler daha hızlı değişim gösterirken bazı bölgeler yüksek derecede korunmuştur ve bu durum bir popülasyondaki bireyler veya yakın türler arasındaki ilişkinin anlaşılması ve taksonomik çalışmalar için avantaj sağlar (Hoy, 2003). Intron bulundurmazlar, intergenik bölgeler kısadır. Korunmuş bölgelere uygun evrensel primerler ile mtDNA dizisi önceden bilinmeyen çoğu türe ait hedef mitokondriyal gen dizileri kolaylıkla çoğaltılabilir. MtDNA annesel kalıtım ile aktarılmaktadır ve rekombinasyon neredeyse görülmez, dolayısıyla, genellikle (mutasyon olmadığı durumlarda) yeni nesil anne ile aynı mitokondriyal genoma sahip olur. Bu özelliklerinden dolayı mtDNA'lar, DNA barkodlama ile yapılan moleküler sistematik, tür tespiti, evrimsel biyoloji ve ekolojik çalışmalarda tercih edilmektedirler (Patwardhan ve ark., 2014; Dong ve ark., 2021). Hayvanlar aleminde filogenetik analizlerde farklı mitokondriyal gen bölgeleri kullanılmaktadır. Bunlar, sitokrom oksidaz I ve II (COI ve COII), sitokrom oksidaz b (CytB), F-ATPaz alt ünitesi 6 ve 8, Nikotinamid Adenin Dinükleotit Dehidrogenaz (NADH-1), 12S ve 16S ribozomal RNA (12S-16S rRNA) genleridir. Mitokondriyal COI gen bölgesi çoğu böcek ve yaprakbiti sistematğinde ve filogenetik ilişkilerin belirlenmesi veya yeniden düzenlenmesinde oldukça önemli bir yere sahiptir.

2.3.2. Mitokondriyal sitokrom oksidaz I (COI)

Sitokrom oksidaz I (COI) geni, elektron taşıma sistemindeki bir enzimi kodlar ve yaklaşık 894 baz çifti (bç) uzunluğundadır. Bu genin 5' ucu tarafındaki 658 bç'lik kısmı, DNA barkodu olarak tür belirlemede yaygın şekilde kullanılmaktadır (Hebert ve ark., 2003; Savolainen ve ark., 2005). COI gen bölgesinin kullanılmasının iki avantajı vardır. Birincisi, COI gen bölgesi için kullanılan evrensel primerler hayvanlar alemindeki canlılar için yüksek doğrulukta çalışmaktadır. İkincisi ise, diğer mitokondriyal genlere göre üçüncü pozisyondaki baz süstitüsyon oranı daha fazladır ve moleküler evrim oranı daha yüksektir (Knowlton ve Weigt, 1998). Dolayısıyla, COI geninin hızlı evrimi, bu genin yakın türleri ayırt etmede ve farklı coğrafik bölgelerdeki türlerin teşhisinde daha etkili kılmaktadır (Hebert ve ark., 2003).

COI gen bölgesi böceklerde farklı grupların tür tespitinde kullanıldığı gibi, ekonomik açıdan büyük öneme sahip bitki zararlılarının tür tespitinde de sıklıkla kullanılmaktadır (van Emden ve Harrington, 2007; Foottit ve ark., 2008). Yaprakbiti taksonomisi için COI gen bölgesine dayalı DNA barkodlama ile şube seviyesinde %96, takım, sınıf ve tür ayırımında yaklaşık %100'e yakın başarılı sonuçlar elde edilmektedir (Foottit ve ark., 2008; Lee ve Akimoto, 2015; Cocuzza ve ark., 2015). Özellikle morfolojik karakterlerle hazırlanan anahtarlar ile tür tespitinin zorlaştığı ve yetersiz kaldığı durumlarda ve kriptik türlerin ayırımında COI gen bölgesine dayalı moleküler yaklaşımlar yaprakbiti çalışmalarında verimli bir şekilde kullanılmaktadır.

Foottit ve ark. (2008), COI gen bölgesinin DNA barkodlama için standardize edilmesine yönelik kapsamlı bir çalışma yapmıştır. Bu çalışmada 16 alt familya, 134 cins ve 335 yaprakbiti türlerinden (Hemiptera: Aphididae) COI gen bölgesi amplifiye edilmiş ve türlerin ayırt edilmesinde kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar neticesinde, çalışılan türlerin %96'sının doğru şekilde ayrılabilindiği ve türler arasındaki dizi farkının %0.2 civarında olduğu görülmüştür.

Lee ve ark. (2011), 11 alt familya, 72 cins ve 154 tür ile yaptıkları çalışmada da COI geninin uygun bir barkod olarak kullanılacağını göstermişlerdir. Chaitophorinae familyasına ait türlerin ayırımına yönelik bir çalışmada ise, 8 cinsi kapsayan 670 türün ayırımında COI ve COII gen bölgelerinin barkod olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir (Zhu ve ark., 2017). Birçok benzer çalışmalar da yaprakbiti tür teşhisinde COI'e dayalı DNA barkodlama yönteminin verimli ve doğru şekilde tür ayırımında kullanılacağını göstermektedir (Coeur d'acier ve ark., 2008; Cocuzza ve ark., 2015; Wang ve ark., 2011) COI gen bölgesine dayalı moleküler çalışmalar, ikiz (sibling) türlerin ayırımında da kullanılmaktadır. Piffaretti ve ark. (2011), COI gen bölgesine dayalı DNA barkodlama çalışmasında *Brachycaudus helichrysi* H1 ve H2 ikiz türlerinin aslında 2 farklı tür olduğunu ortaya koymuşlardır.

Rebijith ve ark. (2013)'na ait çalışmada ise COI gen bölgesine dayalı analizlerde yaprakbitlerinde ilk defa kriptik türler arasında ayırımın yapılabileceği gösterilmiştir. Yaprakbiti-konak bitki arasındaki ilişki ve bazı türlerin farklı konak seçiminde yatan genetik temellerin anlaşılmasında DNA barkodlama yöntemi kullanılmaktadır. Farklı popülasyonlardan toplanan *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) türlerinin bulundukları habitat özelliklerinden dolayı genetik farklılık gösterebilecekleri belirlenmiştir (Dong ve ark., 2018).

Türkiye'de DNA barkodlama ile yaprakbiti türlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Güçlü (2014), Çoruh Vadisi'nde meyve zararlısı yaprakbiti türleri ve parazitoitlerinin DNA barkodlama yöntemi ile belirlemiştir. Bu çalışmada 2300 bireyin DNA sekansları başarılı şekilde elde edilerek meyve ağaçlarında önemli derecede zarar veren 16 cinse mensup 19 yaprakbiti türü ve bu yaprakbitlerinin parazitoitlerinden 7 cinse ait 54 tür ve bu türlerden 27 tanesi Türkiye, 7 tanesi ise bilim dünyası için yeni bir kayıt olarak tespit edilmiştir. Rakauskas ve ark. (2014), dokuz Avrupa ülkesinden ve Türkiye'den siyah yaprakbitlerinin *Prunus cerasus* ve *Prunus avium* konukçularından toplamış oldukları *Myzus cerasi* (Fabricius) türü yaprakbitinin popülasyonunun COI gen bölgesine dayalı filogenetik analizini gerçekleştirmişlerdir. Rakauskas ve ark. (2015), *Aphis pomi* (de Geer, 1773) türünü pomoid konukçu bitki üzerinde, *Aphis spiraeicola* ise *Spiraea* spp. bitkisinde tespit edilmiştir. Dünyadaki farklı popülasyonlardaki türler için belirlenen COI ve nükleer EF-1 α gen dizileri ile kapsamlı bir filogenetik analiz gerçekleştirilmiştir.

Akyıldırım Beğen (2016), İç Batı Anadolu bölgesini ve Niğde ili bölgesinde *Cinara* spp.'nin moleküler ve morfolojik varyasyonlarını belirlemiştir. Çalışmada mtDNA'ya ait COI gen bölgesine dayalı DNA barkodlama yapılmış ve 24 tür belirlenmiş, bunlardan 5 tanesi Türkiye yaprakbiti faunası için yeni kayıt olarak belirtilmiştir.

Şenol (2017)'a ait çalışmada Afyonkarahisar, Uşak, Kütahya ve Niğde illeri bölgelerinde bulunan *Hyalopterus* cinsi yaprakbitlerinin morfolometrik ve genetik varyasyonlarının belirlenmesine yönelik çalışmada, 29 yaprakbitinin COI gen bölgesine dayalı DNA barkodlaması yapılmıştır. Petroviç ve ark. (2018), Birleşik Krallık'tan İsrail'e kadar Türkiye'yi de kapsayan bölgeden elde ettikleri *Aphidius eadyi*, *Aphidius smithi* ve *Aphidius banksae* türlerine yönelik COI barkodlamasını yapmışlardır. Görür ve Beğen (2019), belirlenen *Cinara* türlerinin filogenetik ilişkilerini belirlemek ve ortaya çıkarmak için mitokondriyal sitokrom oksidaz alt birim I (COI) geninin kısmi dizilimlerini kullanarak ve filogenetik analizlerini yapmışlardır (Görür ve Beğen, 2019). İnal ve Kandemir (2020) çalışmasında, *Prunus avium* ve *Prunus cerasus* meyvelerinden toplanan 25 *Myzus cerasi* (Fabricus) popülasyonuna ait COI geni dizileri analiz edilmiştir.

DNA barkodlamada COI gen bölgesine dayalı yaprakbiti tür teşhisinde bazı sorunlarla da karşılaşılabilir. Derocles ve ark. (2012)'na ait çalışmada, Aphidiinae familyasına ait türlerin karşılaştırılmasında sadece COI gen bölgesine ait diziler kullanıldığında *Aphidius ervi* ve *Aphidius microlophi* bazı türlerinin ayırt edilemediğini belirtmişlerdir. Sadece tek gen lokusuna göre değil, birden fazla gen bölgesine dayalı tür ayırımının yapılmasının Aphidiinae'deki türlerin teşhisinde gerekli olduğunu önermişlerdir. Her ne kadar mtDNA'ya dayalı türlerin teşhisi ve türler arası genetik farklılıkların belirlenmesi bazı durumlarda şüphe oluştursa da mtDNA analizlerinin uygunluğu ve ekonomik olması, yaprakbitlerinin moleküler teşhisinde etkili bir yöntem olarak kullanılmasının gerekliliğini göstermektedir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Çalışma Alanının Özellikleri

Tokat ili Karadeniz Bölgesinde Orta Karadeniz bölümünün iç kısımlarında yer alır. İlin yüzölçümü 9 958 km²'dir ve bu alan Türkiye topraklarının %1.3'ünü kaplar. Bu alan içerisinde zengin ve verimli topraklar yer almaktadır. Toprak yapısı, sulanabilir toprakların çokluğu, iklimin elverişliliği bakımından tarıma elverişli bir il statüsündedir. Ekonomik faaliyetleri büyük ölçüde tarım ve hayvancılığa dayanmasına rağmen, tarım sektörünün il ekonomisindeki payı özellikle 1990'lı yıllardan itibaren giderek azalmaktadır.

Bu çalışma için Tokat ilinde belirlediğimiz şeftali bahçelerindeki yaprakbiti zararlısının tarandığı lokasyonlara ait farklı ölçekteki görüntüler Şekil 3.1, 3.2, 3.3 ve 3.4'te verilmiştir.



Şekil 3.1. 70 km ölçekli haritada Tokat ilinin görüntüsü



Şekil 3.2. 20 km ölçekli haritada yaprakbiti tarama alanının görüntüsü



Şekil 3.3. 4 km ölçekli haritada yaprakbiti tarama alanları



Şekil 3.4. 2 km ölçekli yaprakbiti örneklerinin toplama lokasyonları

3.2. Örneklerin Toplanması ve Korunması

Tez çalışması kapsamında şeftali zararlısı yaprakbiti tarama çalışmaları 2020 yılı ilkbahar-yaz ayları itibariyle yapılması planlanmıştır. Bahar aylarında farklı lokaliteler ziyaret edilmeye başlanmıştır ancak Covid-19 pandemisinden kaynaklanan kısıtlamalar nedeniyle ziyaretler aksamıştır. 2021 yılında şeftali bahçeleri tekrar ziyaret edilmiştir. Nisan ayında bir önceki seneye göre muhtemel iklim şartlarından kaynaklı şeftali ağaçlarında yaprak oluşumu gecikmiştir. Mayıs ve haziran aylarında iklim yağmurlu ve dolu yağışlı geçmesi nedeni ile oluşan yapraklarda hasarlar ve dökülmeler meydana geldiği görülmüştür. Bu etkenler nedeniyle bahar aylarındaki ziyaretlerde şeftali yapraklarında yaprakbiti tespiti olmamıştır. Temmuz ayı itibariyle yaprakbiti popülasyonları belirlenmiş olup, ağustos ayı içerisinde örneklemeler gerçekleştirilmiştir. Daha sonraki aylarda da yaprakbiti taramasına yapılmış fakat kuraklıktan dolayı yaprakların sarardığı ve canlı yaprakbitlerinin bulunmadığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, 8 farklı tarım arazisinde yetişen şeftali ağaçlarından örneklemeler yapılmıştır. Tablo 3.1’de tarama ve toplama tarihleri, konum ve habitat hakkında bilgiler verilmiştir.

Tablo 3.1. Yaprakbiti tarama ve toplama alanları hakkında bilgiler

Lokalite No	Lokalite	Enlem/Boylam	Yükseklik	Habitat	Ziyaret Tarihi	Toplanan Örnekler	Toplama Tarihi
1	Akyamaç	40°21'28.4" N 36°29'40.2" E	660 m	Tarım Arazisi- Tarım Alanı	01.04.2021 29.04.2021 13.05.2021 27.05.2021 17.06.2021 01.07.2021 22.07.2021 05.08.2021 18.08.2021 26.08.2021 10.09.2021 25.09.2021 10.10.2021 25.10.2021	1A 1B 1C	5.08.2021
2	Akyamaç	40°21'29.3" N 36°29'39.9" E	660 m	Tarım Arazisi- Tarım Alanı	01.04.2021 29.04.2021 13.05.2021 27.05.2021 17.06.2021 01.07.2021 22.07.2021 05.08.2021 18.08.2021 26.08.2022 10.09.2021 25.09.2021 10.10.2021 25.10.2021	2A 2B	5.08.2021
3	Güryıldız	40°20'30.1" N 36°21'50.0" E	620 m	Tarım Arazisi- Tarım Alanı	01.04.2021 29.04.2021 13.05.2021 27.05.2021 17.06.2021 01.07.2021 22.07.2021 05.08.2021 18.08.2021 26.08.2021 10.09.2021 25.09.2021 10.10.2021 25.10.2021	3A 3B 3C	5.08.2021

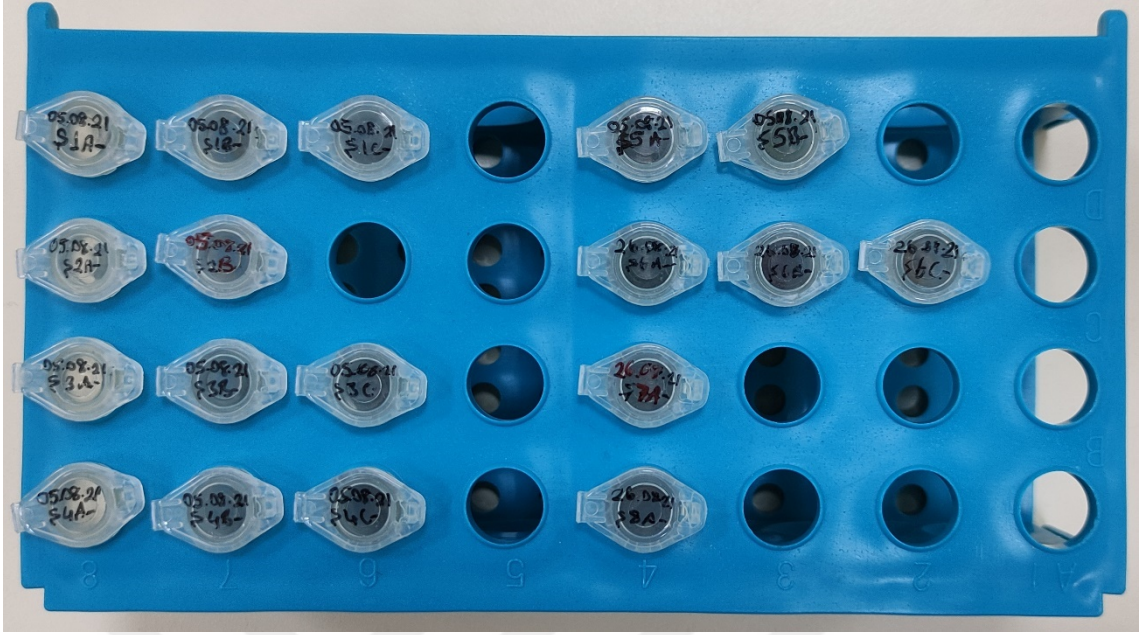
Tablo 3.1. (Devam) Yaprakbiti tarama ve toplama alanları hakkında bilgiler

4	Güryıldız	40°20'29.4" N 36°21'47.5" E	620 m	Yol kenarı- Tarım Arazisi- Tarım Alanı	01.04.2021 29.04.2021 13.05.2021 27.05.2021 17.06.2021 01.07.2021 22.07.2021 05.08.2021 18.08.2021 26.08.2021 10.09.2021 25.09.2021 10.10.2021 25.10.2021	4A 4B 4C	5.08.2021
5	Kömeç	40°20'49.6" N 36°27'57.0" E	600 m	Yol kenarı- Tarım Arazisi- Tarım Alanı	01.04.2021 29.04.2021 13.05.2021 27.05.2021 17.06.2021 01.07.2021 22.07.2021 05.08.2021 18.08.2021 26.08.2025 10.09.2021 25.09.2021 10.10.2021 25.10.2021	5A 5B	5.08.2021
6	Akyamaç	40°20'58.04" N 36°29'06.6"E	600 m	Yol kenarı- Tarım Arazisi- Tarım Alanı	01.04.2021 29.04.2021 13.05.2021 27.05.2021 17.06.2021 01.07.2021 22.07.2021 05.08.2021 18.08.2021 26.08.2021 10.09.2021 25.09.2021 10.10.2021 25.10.2021	6A 6B 6C	26.08.2021

Tablo 3.1. (Devam) Yaprakbiti tarama ve toplama alanları hakkında bilgiler

7	Akyamaç	40°20'58.03" N 36°29'06.7"E	600 m	Yol kenarı- Tarım Arazisi- Tarım Alanı	01.04.2021 29.04.2021 13.05.2021 27.05.2021 17.06.2021 01.07.2021 22.07.2021 05.08.2021 18.08.2021 26.08.2021 10.09.2021 25.09.2021 10.10.2021 25.10.2021	7A	26.08.2021
8	Akyamaç	40°20'58.0" N 36°29'06.7"E	600 m	Yol kenarı- Tarım Arazisi- Tarım Alanı	01.04.2021 29.04.2021 13.05.2021 27.05.2021 17.06.2021 01.07.2021 22.07.2021 05.08.2021 18.08.2021 26.08.2021 10.09.2021 25.09.2021 10.10.2021 25.10.2021	8A	26.08.2021

Şeftali ağaçlarının yaprak kısımlarında yapılan kontroller sonucu yaprakbiti ile bulaşık olan yapraklar ağaçtan kesilerek etiketlenmiş poşetlere konulup, buz içerisinde uygun koşullar altında laboratuvara getirildi. Laboratuvar ortamında %96'lık etanol bulunduran eppendorf tüplere, kanatlı ve/veya kanatsız ergin ve nimf formunda yaprakbitleri fırça yardımı ile aktarıldı. Aynı popülasyona ait yaprakbitlerinden yaklaşık 10-30 birey toplandı. Ziyaret edilen şeftali bahçeleri 1, 2, 3, vb., şeklinde numaralandırıldı, aynı bahçeden farklı popülasyonlara ait örnekler A, B, C, vb., şeklinde harflendirildi. Örneğin, 1 numaralı bahçe Akyamaç lokasyonunu belirtirken, 3 numaralı bahçe Güryıldız'daki bir bölgeye aittir. 1A örneği Akyamaç bölgesinde bir ağaçtaki yaprakbiti popülasyonunu belirtirken, 1B aynı arazideki farklı popülasyonu ifade etmektedir. Dolayısıyla, topladığımız yaprakbiti örnekleri, 8 farklı lokalitede bulunan şeftali bahçelerinden örnekleme yapıldığı 18 farklı popülasyona aittir. Toplanan numunelerin etiketlenmesi Şekil 3.5'te gösterilmiştir.



Şekil 3.5. Şeftali zararlısı yaprakbiti örneklerinin alkol içeren eppendorf tüplerinde toplanması

Örnekleri bulunduran eppendorf tüpler morfolojik ve moleküler teşhisler için +4⁰C dolapta muhafaza edildi.

3.3. Morfolojik Metotlar

3.3.1. Yaprakbiti preparasyonlarının hazırlanması

Toplanan örneklerin preparasyonu Martin (1983)'nin belirttiği aşamalara göre yapıldı. %96'lık alkolde bulunan örneklerden 1-2 örnek (kanatlı-kanatsız ergin) lam üzerine alındı ve karın (abdomen) bölgesine entomoloji iğnesi ile delik açıldı. Alkol uzaklaştırıldı ve örnekler yeni eppendorf tüpe alındı. Eppendorfa 1 cm derinliğinde (örnekleri kapatacak kadar) %10'luk KOH (Potasyum Hidroksit) eklendi ve 50⁰C de 40-50 dakika (her 10 dakika da bir kontrol edildi) örnekler şeffaf bir hale gelene kadar ısıtıldı. Isıtılan eppendorf tüpten KOH pipet yardımı ile uzaklaştırıldı. 3-5 defa distile su ile her seferinde 5 dakika olmak üzere yıkama işlemi gerçekleştirildi.

Distile su pipet yardımı ile uzaklaştırıldı ve 1 cm (örneklerin üzerini kapatacak kadar) glasiyel asetik asit eklendi ve 2-3 dakika olmak üzere 2-3 kez tekrarlandı. Glasiyel asetik asit pipet yardımı ile uzaklaştırıldı. Lam üzerine 1-2 damla karanfil yağı damlatıldı ve örnekler karanfil yağının içine konuldu oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi. Peçete yardımı ile karanfil yağı uzaklaştırıldı ve 1-2 damla ksilen örnek üzerine damlatıldı. Örnekler entomoloji iğnesi yardımı ile uygun pozisyona getirildi. Örneklerin üzerine 1-2 damla merckoglas damlatıldı ve lamel 45⁰'lik açı ile yavaşça hava kabarcığı kalmayacak şekilde kapatıldı. Örneğin olduğu preparat etiketlenerek 50⁰C de bir hafta etüvde kurumaya bırakıldı. Şekil 3.6'da gösterilen preparatlar lam dosyasına konularak uygun koşullarda saklandı.



Şekil 3.6. Yaprakbiti preparatlarının görüntüsü

Preparatları hazırlanan örneklerin morfolojik analizleri Dr. Öğr. Üyesi Hayal AKYILDIRIM BEĞEN tarafından yapıldı.

3.4. Moleküler Analizler

3.4.1. Genomik DNA (gDNA) izolasyonu

Yaprakbitlerinden gDNA izolasyonu için QIAGEN DNeasy Blood & Tissue Kiti kullanıldı. GDNA izolasyon adımları esnasında tüm santrifüj adımları oda sıcaklığında gerçekleştirildi.

Her bir tüpten 1 veya 2 yaprakbiti, 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüplere yerleştirildi ve alkol uzaklaştırıldı. 180 µl Tampon ATL ve 20 µl proteinaz K eklendi. Vorteksleyerek karıştırıldı ve tamamen lizize olana kadar önceden ısıtılmış olan 56°C inkübatöre konuldu. İnkübasyon sırasında ara sıra vorteks yapıldı. Tamamen lizize olan yaprakbitleri 15 saniye vortekslendi ve 200 µl Tampon AL eklendi. Vorteks yapılarak iyice karıştırıldıktan sonra 56°C de 10 dakika inkübatöre konuldu. 200 µl %96'lık etanol eklendi ve vortekslenerek iyice karıştırıldı. Karışım toplama tüpüne yerleştirilmiş DNeasy Mini spin column tüpe pipetlendi. $\geq 6000 \times g$ 'de (8000 rpm) 1 dakika santrifüj yapıldı. Toplama tüpü atıldı. Spin column 2 ml'lik yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi. Üstüne 500 µl Tampon AW1 eklendi. $\geq 6000 \times g$ 'de (8000 rpm) 1 dakika santrifüj yapıldı. Toplama tüpü atıldı. Spin column 2 ml'lik yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi. 500 µl Tampon AW2 eklendi. $20000 \times g$ 'de (14000 rpm) 3 dakika santrifüj yapıldı. Toplama tüpü atıldı. Spin column yeni bir 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi. Spin column'a 40 µl Nükleaz Free Water eklenerek DNA elüe edildi. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi. $\geq 6000 \times g$ 'de (8000 rpm) 1 dakika santrifüj yapıldı. DNA miktarını artırmak için son adım tekrarlandı. İzole edilen gDNA'lar PZR için -20°C dolaba kondu.

3.4.2. İzole edilen gDNA'ların jelde görüntülenmesi

3.4.2.1. Agaroz jelin hazırlanması

İzole edilen gDNA'ların elde edilip edilmediğini ve gDNA'ların miktarını belirlemek için agaroz jel elektroforezi uygulandı. %0.8'lik agaroz jel için 250 ml'lik bir erlen içerisine 0.64 gr agaroz (Sigma) ve üzerine 79.36 ml 1 X TAE tamponu eklendi. Erlen içerisinde jel ısıdıkça buharlaşmaması için alimünyum folyo ile kaplandı ve karıştırıldı. Erlen mikrodalga fırında 2 dakika bekletildi, kabarcık oldu ise karıştırılıp tekrar mikrodalga fırına konuldu. Jel haline gelince mikrodalgadan çıkarıldı. Jel, erlenden çeker ocakta behere konuldu. Biraz soğuduktan sonra 5 µl EtBr (etidyum bromür) eklendi ve karıştırıldı. Jel, tarakların takıldığı tanka döküldü (kabarcık olmamasına dikkat edildi). Dökülen jel katılaştıktan sonra taraklar çıkarıldı ve DNA yüklenmesi için hazır hale getirildi.

3.4.2.2. GDNA'nın jele yüklenmesi ve görüntülenmesi

Yaprakbitlerinden izole edilen gDNA'lardan 5 µl alınarak tüpe konuldu. Üstüne 5 µl ddH₂O eklendi. Tüpün içerisine 2 µl 6X LD (Loading Dye) eklendi. Karışım homojen hale getirildi ve hızlı spin ile içerik tüpün altında toplandı. Jele 5 µl HindIII marker yüklendi. Diğer kuyucuklara her bir gDNA ayrı ayrı yüklendi. Agaroz jel elektroforezi 30 dakika boyunca yürütüldü. Yürütülen jel UV ışıklı görüntüleme cihazında incelendi.

3.4.2.3. GDNA konsantrasyonlarının belirlenmesi

İzole edilen gDNA'nın konsantrasyonunu belirlemek için NanoDrop ile spektrofotometrik analiz yapıldı. Blank olarak ddH₂O kullanıldı. İzole edilen gDNA'lardan 1 µl alındı ve NanoDrop plate üzerindeki her bir kuyucuğa ayrı ayrı pipetlendi. A260, A280 ve A230'da absorbans değerleri ölçüldü. GDNA A260 değerinden blank A260 değeri çıkarıldıktan sonra 50 ile çarpılarak gDNA'ların konsantrasyonları hesaplandı.

3.4.3. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

DNA izolasyonu işlemi sonrası örneklerin mitokondriyal gen bölgesi olan COI gen bölgesinin çoğaltılması için Tablo 3.2'de belirtilen primer çifti (Hebert ve ark., 2003) kullanıldı.

Tablo 3.2. PZR'de kullanılan primerler

LCO1490	5' -GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG- 3' (Tm: 59°C)
HCO2198	5' -TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA- 3' (Tm: 62°C)

Polimeraz zincir reaksiyonu için toplam hacim 30 µl reaksiyon hazırlandı. Karışımda 3 µl 10X Taq Buffer, 3 µl dNTPmix, 3 µl (10 pmol/µl) LCO1490 primer, 3 µl (10 pmol/µl) HCO2198 primer, 3 µl dNTPmix, 0.3 µl Taq polimeraz, 40-70ng gDNA ve hacmi tamamlamak için gerekli miktarda ddH₂O kullanıldı.

COI gen bölgesinin amplifikasyonu için uygulanan PZR programı 95°C'de 5 dakika ön denatürasyon, 34 döngü içeren 95°C'de 30 saniye denatürasyon, 52°C'de 30 saniye bağlanma, 72°C'de 45 saniye uzama basamakları ve son olarak 72°C'de 10 dakika son uzama şeklindedir.

3.4.4. PZR ürünlerinin varlığının tespiti

PZR ürünlerinin varlığını kontrol etmek için %1.5'lik agaroz jeli hazırlandı. 250 ml'lik bir erlen içersine 1.2 gr agaroz (Sigma) ve üzerine 78.8 ml 1 X TAE eklendi. Diğer basamaklar 3.4.2.1'de anlatıldığı gibi gerçekleştirilmiştir. PZR ürünlerin 5 µl agaroz jelde yürütmek için kullanıldı. Jele 100 bç'lik DNA Ladder Plus marker yüklendi. Elde edilen pozitif PZR örnekler, DNA dizileme için Aquatayf Biyoteknoloji şirketine gönderildi. Her bir numune için çift yön okuma, PZR'de kullanılan primerler ile gerçekleştirildi.

3.4.5. Sekans analizleri

Sekanslama sonrasında ABI formatında gelen dosyalar, Finch TV 1.4.0 (Geospiza, Inc., Seattle, WA) kullanarak açıldı ve her bir diziye ait kromatogramlar incelendi. Çift yönlü okumalar hizalanarak (Clustal Omega, Sievers ve ark., 2011) benzerlikler ve farklılıklar tespit edildi. Her bir sekansın doğruluğu teyit edildikten sonra, elde edilen COI gen bölgesine ait diziler FASTA formatında düzenlendi. Bu diziler, National Center for Biotechnology Information (NCBI) bünyesine ait olan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) programı yardımıyla veri tabanlarındaki benzer diziler bakımından araştırıldı.

3.4.6. Filogenetik analizler

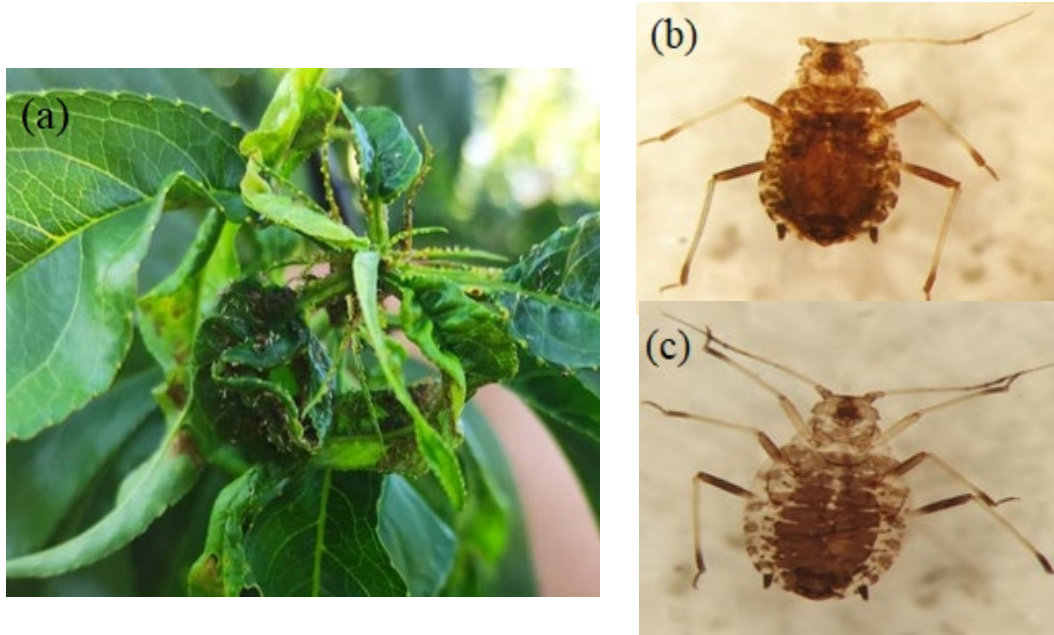
Tüm sekansların hizalanması ve filogenetik analizler için MEGA 7.0 (Kumar ve ark., 2016) programı kullanıldı. Filogenetik analizler, Maximum Likelihood (ML), Maximum Parsimony (MP), ve Neighbour-Joining (NJ) yöntemleri kullanılarak gerçekleştirildi. ML metodu Tamura-Nei modele (Tamura and Nei, 1993) dayalı çalışmaktadır. İlk ağaçların oluşturulması için Neighbor-Joining ve BioNJ algoritmaları kullanıldı, Maximum Composite Likelihood (MCL) yaklaşımı ile ikili mesafelerin hesaplanması yapıldı. En iyi “log likelihood” değerine sahip ağaç seçildi. MP ağaçları, Tree-Bisection-Reconnection (TBR) metodu ile çizildi. NJ ağacı için Maximum Composite Likelihood (MCL) yaklaşımı kullanıldı. Bootstrap testi 1000 tekrarlı gerçekleştirildi ve yüzde değerleri ağaç dallarında gösterildi.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Morfolojik Bulgular

Tokat ilinde Akyamaç, Güryıldız ve Kömeç yerleşkelerinde tarım arazileri içerisinde bulunan şeftali (*Prunus persicae* L.) ağaçlarından toplanan yaprakbiti örneklerinin morfolojik teşhisleri Blackman ve Eastop (2014)'a göre yapılmıştır. Toplamda 8 farklı lokalitede, şeftali ağacı yapraklarında koloni oluşturan 14 yaprakbiti popülasyonu incelenmiştir. Tür tespiti Dr. Öğr. Üyesi Hayal AKYILDIRIM BEĞEN tarafından gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda Tokat ilinde şeftali zararlısı olarak tek bir tür tespit edilmiştir. Bu türün *Brachycaudus (Appelia) prunicola* subsp. *schwartzi* (Börner, 1931) olduğu belirlenmiştir.

Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4., 4.5'te, bazı lokalitelerden toplanan şeftali zararlısı *B. prunicola* subsp. *schwartzi*'nin yapraklarda oluşturdukları kolonilerin görünümü ve genel görünümü verilmiştir.



Şekil 4.1. *Brachycaudus prunicola* subsp. *schwartzi*'nin (1A ve 1B popülasyonları) *Prunus persicae* üzerindeki görünümü (a) ve genel görüntüleri (b, c)

İncelenen Materyal: *Brachycaudus (Appelia) prunicola* subsp. *schwartzi* (Börner, 1931) türü *Prunus persica* L. ağacından 05.08.2021 tarihinde Tokat-Akyamaç'tan 40°21'28.4"N 36°29'40.2"E koordinatlarından toplanmıştır. Konak bitkinin yeni sürgünlerinin yapraklarının alt kısmında yoğun olarak ergin formdaki yaprakbitlerinin kahverengi, nimf formdaki yaprakbitlerinin ise yeşilimsi bir renge sahip oldukları gözlemlenmiştir.

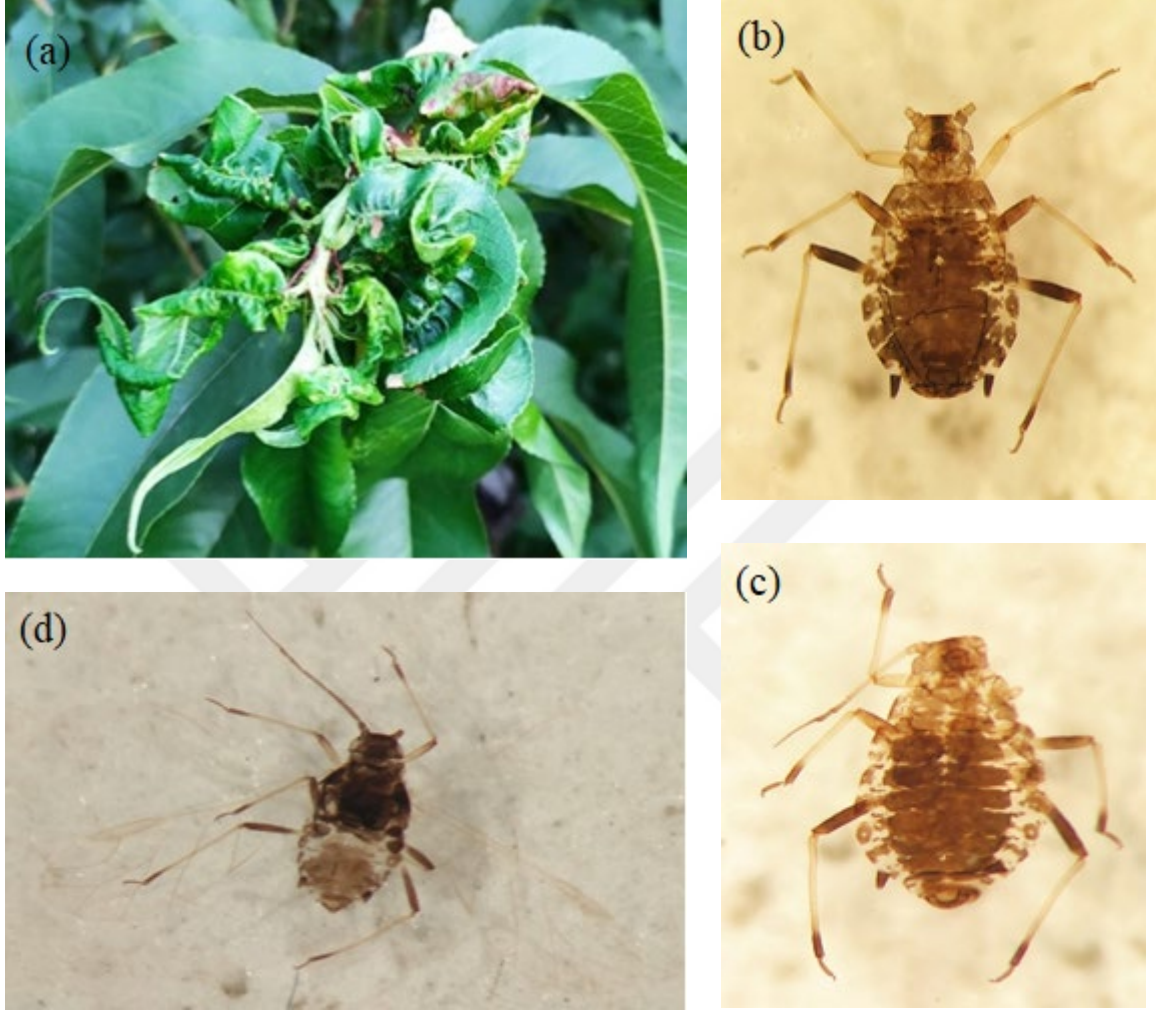
Sinonim: *Brachycaudus amygdali* (Buckton, 1879), *B. persicae* (Boyer de Fonscolombe, 1841), *B. persicae* (Kaltenbach, 1843) ve *B. persicae* (Koch, 1854).



Şekil 4.2. *Brachycaudus prunicola* subsp. *schwartzi*'nin (4A popülasyonu) *Prunus persicae* üzerindeki görünümü ve genel görüntüsü

İncelenen Materyal: *Brachycaudus (Appelia) prunicola* subsp. *schwartzi* (Börner, 1931) türü *Prunus persica* L. ağacından 05.08.2021 tarihinde Tokat-Güryıldız'dan 40°20'29.4" N 36°21'47.5"E koordinatlarından toplanmıştır. Konak bitkinin yeni sürgünlerinin yapraklarının alt kısmında yoğun olarak ergin formdaki yaprakbitlerinin kahverengi, nimf formdaki yaprakbitlerinin ise yeşilimsi bir renge sahip oldukları gözlemlenmiştir.

Sinonim: *Brachycaudus amygdali* (Buckton, 1879), *B. persicae* (Boyer de Fonscolombe, 1841), *B. persicae* (Kaltenbach, 1843) ve *B. persicae* (Koch, 1854).



Şekil 4.3. *Brachycaudus prunicola* subsp. *schwartzi*'nin (5A ve 5B popülasyonları) *Prunus persicae* üzerindeki görünümü (a), ergin (b,c) ve kanatlı (d) genel görüntüleri

İncelenen Materyal: *Brachycaudus (Appelia) prunicola* subsp. *schwartzi* (Börner, 1931) türü *Prunus persica* L. ağacından 05.08.2021 tarihinde Tokat-Kömeç'ten 40°20'49.6" N 36°27'57.0"E koordinatlarından toplanılmıştır. Konak bitkinin yeni sürgünlerinin yapraklarının alt kısmında yoğun olarak ergin formdaki yaprakbitlerinin kahverengi, nimf formdaki yaprakbitlerinin ise yeşilimsi bir renge sahip oldukları gözlemlenmiştir.

Sinonim: *Brachycaudus amygdali* (Buckton, 1879), *B. persicae* (Boyer de Fonscolombe, 1841), *B. persicae* (Kaltenbach, 1843) ve *B. persicae* (Koch, 1854).



Şekil 4.4. *Brachycaudus prunicola* subsp. *schwartzi*'nin (6C popülasyonu) *Prunus persicae* üzerindeki görünümü ve genel görüntüsü

İncelenen Materyal: *Brachycaudus (Appelia) prunicola* subsp. *schwartzi* (Börner, 1931) türü *Prunus persica* L. ağacından 26.08.2021 tarihinde Tokat-Akyamaç'tan 40°20'58.04" N 36°29'06.6"E koordinatlarından toplanılmıştır. Konak bitkinin yeni sürgünlerinin yapraklarının alt kısmında yoğun olarak ergin formdaki yaprakbitlerinin kahverengi, nimf formdaki yaprakbitlerinin ise yeşilimsi bir renge sahip oldukları gözlemlenmiştir.

Sinonim: *Brachycaudus amygdali* (Buckton, 1879), *B. persicae* (Boyer de Fonscolombe, 1841), *B. persicae* (Kaltenbach, 1843) ve *B. persicae* (Koch, 1854).



Şekil 4.5. *Brachycaudus prunicola* subsp. *schwartzi*'nin (8A popülasyonu) *Prunus persicae* üzerindeki görünümü ve genel görüntüsü

İncelenen Materyal: *Brachycaudus (Appelia) prunicola* subsp. *schwartzi* (Börner, 1931) türü *Prunus persica* L. ağacından 26.08.2021 tarihinde Tokat-Akyamaç'tan 40°20'58.0" N 36°29'06.7"E koordinatlarından toplanmıştır. Konak bitkinin yeni sürgünlerinin yapraklarının alt kısmında yoğun olarak ergin formdaki yaprakbitlerinin kahverengi, nimf formdaki yaprakbitlerinin ise yeşilimsi bir renge sahip oldukları gözlemlenmiştir.

Sinonim: *Brachycaudus amygdali* (Buckton, 1879), *B. persicae* (Boyer de Fonscolombe, 1841), *B. persicae* (Kaltenbach, 1843) ve *B. persicae* (Koch, 1854).

Türkiye'nin farklı bölgelerinde gerçekleştirilen çalışmalarda şeftali zararlısı *Brachycaudus* cinsi 7 tür tespit edilmiştir. Bunlar, *B. helichrysi* (Kaltenbach, 1843), *B. schwartzi* (Börner, 1931), *B. cardui* (Linneus, 1758), *B. amygdali* (Blanchard, 1840), *B. prunicola* (Kaltenbach, 1843), *B. (Acaudus) persicae* (Passerini, 1860) ve *B. (Thuleaphis) amygdalinus* (Schouteden, 1905) türleridir (Erkin, 1983; Tuatay, 1988; Toros ve ark., 2002; Güncan ve ark., 2010; Beğen, 2014; Karakaya, 2014; Aslan, 2015; Alaserhat ve ark., 2016; Görür, 2018; Parmaksız Durmaz, 2019; Kök ve Kasap, 2019; Sarıbal, 2019; Kök ve Özdemir, 2021). Tokat ilinde şeftali zararlısı yaprakbitine yönelik bir çalışmada *Hyalopterus pruni* (Geoffroy, 1762) ve *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) türleri tespit edilmiştir (Kılıç ve Aykaç, 1989). Bu tez çalışması sonucunda elde ettiğimiz *Brachycaudus (Appelia) prunicola* subsp. *swartzi* türü şeftali zararlısı olarak Tokat'ta ilk defa tespit edilmiştir.

4.1.1. *Brachycaudus (Appelia) prunicola* subsp. *swartzi* (Börner, 1931)

Üst Familya: Aphidoidea (Latreille, 1802)

Familya: Aphididae (Latreille, 1802)

Alt Familya: Aphidinae (Latreille, 1802)

Tribus: Macrosiphini (Wilson, 1910)

Cins: *Brachycaudus* (van der Goot, 1913)

Alt Cins: *Brachycaudus (Appelia)* (Börner, 1930)

Tür: *Brachycaudus (Appelia) prunicola* (Kaltenbach, 1843)

Alt Tür: *Brachycaudus (Appelia) prunicola swartzi* (Börner, 1931)

Brachycaudus (van der Goot, 1913) cinsi genellikle palaerktik türler olup, büyük, yuvarlak spirial açıklıklar, kısa ve yarım daire biçimli kauda ve subapikal halka şeklindeki sifinkuli ile karakterize edilir. Anten genellikle 6 segmentlidir. Anten tuberkülü çok küçük veya yoktur. Rostrumun uç segmentinde 4-10 adet ikincil kıl bulunmaktadır. Kanat damarlanması normaldir. Kanatsız formlarda bazen, kanatlı formlarda daima abdomenin dorsalinde hücresel renklenme vardır. Kornikılın silindirik ve yassı bir görünüşü vardır (Blackman ve Eastop, 2014). Birincil konukçu olarak *Prunus* türlerini, ikincil konukçu olarak da Ranunculaceae (subgenus *Brachycaudina*), Caryophyllaceae (subgenus *Acaudus*), Boraginaceae ve Compositae (subgenus *Prunaphis*), Orobanchaceae (subgenus *Scrophulaphis*) türlerini kullanmaktadır.

Brachycaudus cinsine bağlı *Appelia* alt cinsi *Brachycaudus* özelliklerini barındırır. İlk tarsal kaetotakside 4:4:4 kıllar bulunur. Sifinkuli oldukça kısadır; ortalama olarak II arka tarsomerden daha kısa veya çok az daha uzun yapıdadır. Kanatlı ve kanatsız formlarda dorsal vücut skleritlerinde büyük çapraz çizgiler bulunur. Bazı türlerde bu çizgiler (çoğunlukla da kanatlı ergin formlarında) abdominal bölgede birleşir ve sırtta miğfer şeklini alır (Cocuzza ve ark., 2007).

Brachycaudus cinsinin alt cins seviyesinde taksonomik sınıflandırılması hem morfolojik karakterlerin iyi yorumlanamaması hem de bu cinse ait çalışmaların yetersiz olması nedeniyle birçok tartışmaya ve revizyona uğramasına neden olmuştur. 2000’li yılların başlarına kadar, *Appelia* alt cinsi 4 tür, *B. prunicola* (Kaltenbach, 1843), *B. schwartzi* (Börner, 1931), *B. tragopogonis* (Kaltenbach) ve *B. cerinthis* (Bozhko, 1961) ile temsil edilmekteydi. Bazı bilim insanları *B. tragopogonis* ve *B. schwartzi*’yi, *B. prunicola*’nın alt türü olarak kabul etmişlerdir (Thomas, 1962). *Brachycaudus* alt cins *Appelia* türlerinin moleküler çalışmalar doğrultusunda revizyonu ile de (Cocuzza ve ark., 2007; Coeur d’acier ve ark., 2008), günümüzde 4 tür (*B. prunicola*, *B. tragopogonis*, *B. cerinthis*, *B. prunifex*) ve 4 alt tür (*B. prunicola prunicola*, *B. prunicola schwartzi*, *B. tragopogonis setosus*, *B. tragopogonis tragopogonis*) ile temsil edilmektedir (Anonim, 2022c).

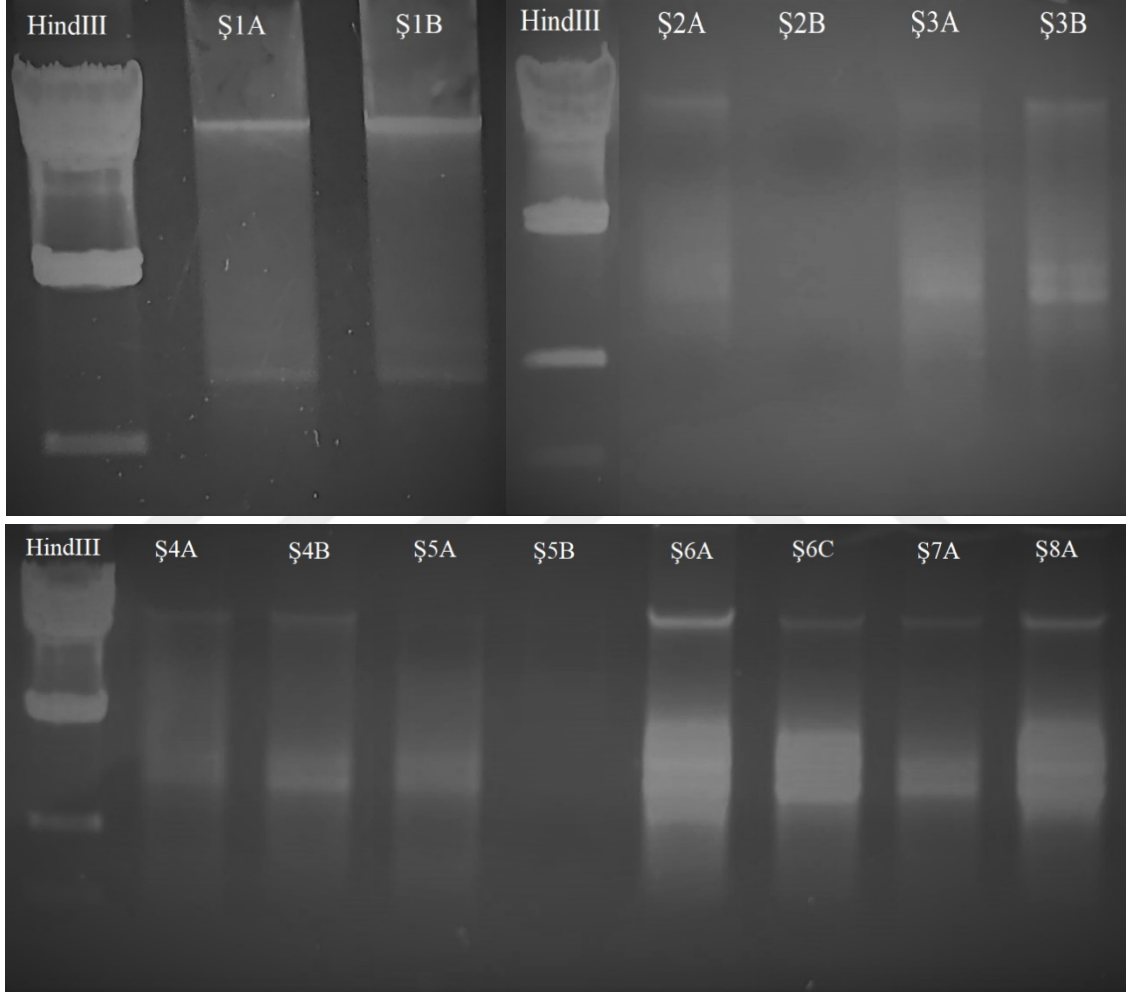
Appelia türlerinin morfolojik karakterlerinin çok benzer olması, yakın-akraba türlerin taksonomik ayırımını oldukça güçleştirmektedir. Bu türlerin ayırımında konukçu önemli bir kriterdir (Cocuzza ve ark., 2007). *Brachycaudus prunicola* türü holosiklik ve monoecious yaşam döngüsüne sahip olup, birincil konukçu olarak *P. spinosa*'yı, ikincil konukçu olarak *P. domestica*, *P. cerasifera* and *P. insititia* bitkilerini seçerler (Cocuzza ve ark., 2007). *Brachycaudus prunicola schwartzi*'nin holosiklik ve anholosiklik popülasyonları sadece *P. persica* bitkisinde bulunur (Golfari, 1947). *Brachycaudus tragopogonis*, holosiklik ve anholosiklik yaşam döngüsünde *Tragopogon* ve *Scorzonera* cins bitkilerde ve *Galium intermedium*'da bulunur (Andreev ve Namontova, 1998). *Brachycaudus prunifex* türüne ait koloniler çoğunlukla *P. spinosa* ve bazen *P. cerasifera* var. *atropurpurea* bitkisinde görülür. En nadir tür olan *B. cerinthis* ise holosiklik olup sadece *Cerithe minor* bitkisinde görülür (Cocuzza ve ark., 2007).

Brachycaudus prunicola subsp. *swartzi* türünün *B. prunicola* subsp. *prunicola*'dan ayırt edilmesi neredeyse imkansızdır. Ancak dorsal abdomen üzerinde bulunan skleritlerdeki küçük farklılıklar ayırma yardımcı olur (Cocuzza ve ark., 2007). *Brachycaudus prunicola* subsp. *prunicola*'da dorsal miğfer oldukça kompaktır, 4. ve 6. segmentlerde marjinal lekeler vardır. 2-5 uritedeki abdominal tüberküller küçüktür. *Brachycaudus prunicola* subsp. *swartzi*'de ise marjinal tüberküller daha büyüktür (>18 µm) ve dorsal abdomen skleritler yanlarda çoğunlukla parçalı pencereci veya derin girintili olur ve nadiren marjinal lekeler ile birleşirler. Kanatlı vivipar dişilerinin vücut uzunluğu 1.20-2.40 mm'dir. Kauda koyu renktir. Sarımsı yeşil-sarımsı kahverengi renkte olup *B. prunicola* subsp. *prunicola*'dan daha soluk renktedirler. Olgunlaşmamış morflar sarı kahverengidir. Kanatsız vivipar dişiler 1.53-2.22 mm uzunluğundadır. Kanatsız bireyler koyu kahverengi-sarımsı kahverengide olurlar ve dorsal abdomende siyah lekeler bulundurur (Stoetzel ve Miller, 1998).

Çoğunlukla *Prunus* cinsine ait *Prunus persicae* L. (şeftali)'de, nadiren *Prunus padus* (kuş kirazı) ve *Prunus serotina* (kara kiraz) meyve ağaçlarında görülür (Cocuzza ve ark., 2007). *Myzus varians* (Davidson) ve *M. persicae* (Sulzer) yaprakbitleri ile karışık koloniler oluşturabilir (Manachini ve ark., 2004). Kolonilerin bulunduğu şeftali yaprakların büzülüp kıvrılmasına, dağılmasına ve dökülmesine neden olur (Blackman ve Eastop, 1984). Ayrıca ağaç dallarının büyümesini engeller. Şarka hastalığına sebep olan PPV virüsüne vektörlük yapmaktadır (Manachini ve ark., 2004). Dünyada, birçok Avrupa ülkesinde (Ukrayna, Çek Cumhuriyeti, İspanya, İtalya, Belçika), Amerika Birleşik Devletleri, Güney Amerika, Kuzey Afrika (Tunus, Mısır), Hindistan, İran, Kazakistan'da tespit edilmiştir (Blackman ve Eastop, 2014a; Cocuzza ve ark., 2007). Türkiye'de İstanbul, Amasya, Artvin, Aydın, Bursa, Çanakkale, Denizli, Erzurum, Giresun, Kars, Manisa, Sinop, Tekirdağ, İçel, Osmaniye, Kahramanmaraş, Trabzon ve Afyon illerinden kayıt verilmiştir (Kök ve Özdemir, 2021).

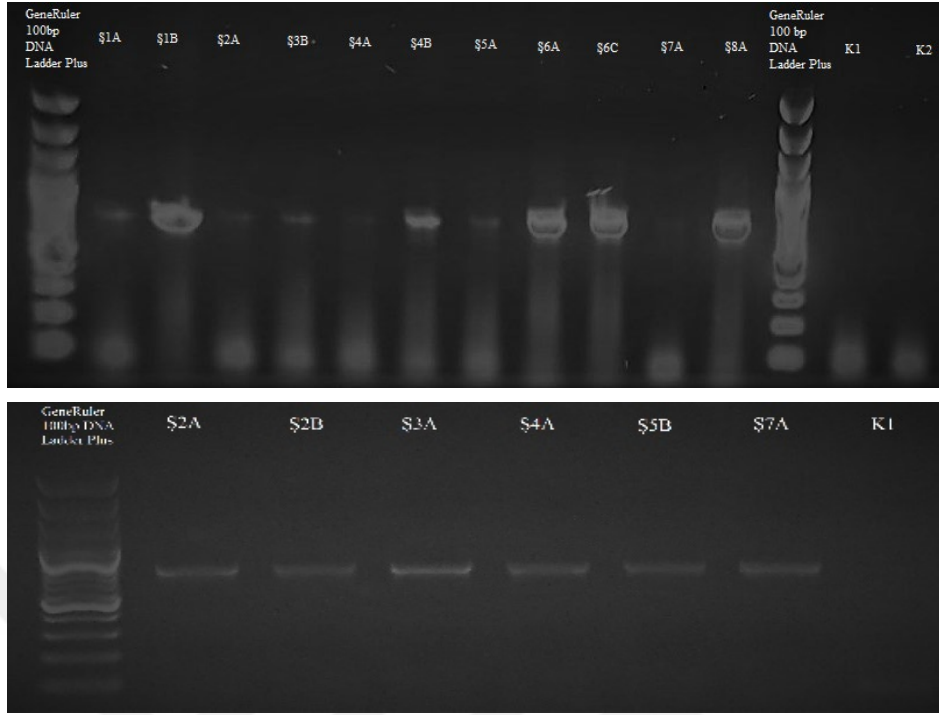
4.2. Moleküler Bulgular

Bu çalışmada, 8 farklı lokalitede bulunan şeftali bahçelerindeki şeftali ağacı yapraklarında koloni oluşturan 14 yaprakbiti popülasyonuna ait bireylerden gDNA izole edilmiştir. Elde edilen gDNA'lara ait jel görüntüleri Şekil 4.6'da verilmiştir.



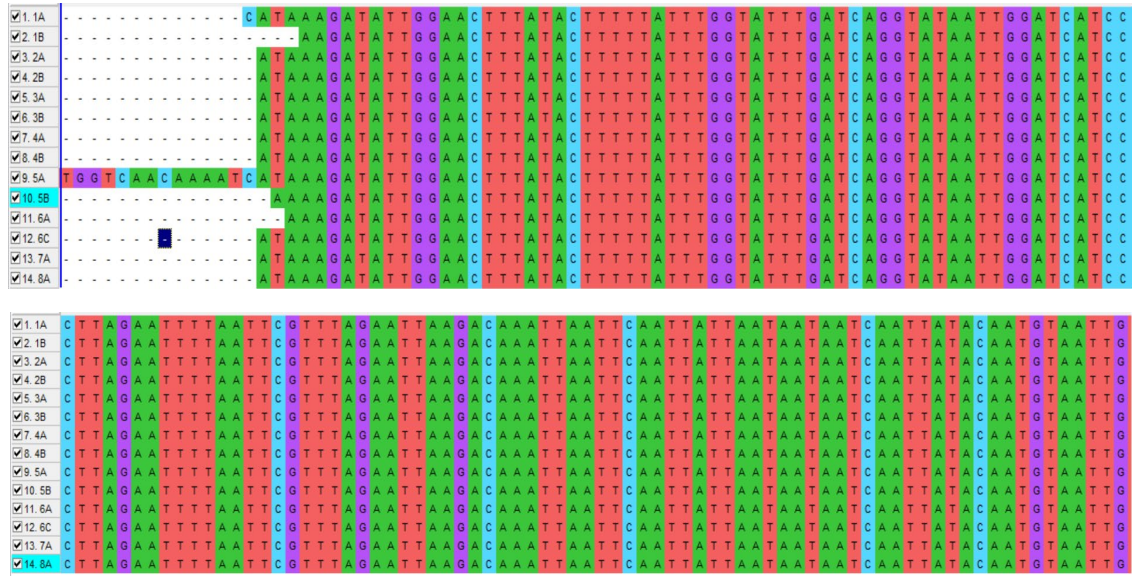
Şekil 4.6. İzole edilen gDNA'ların jel görüntüsü

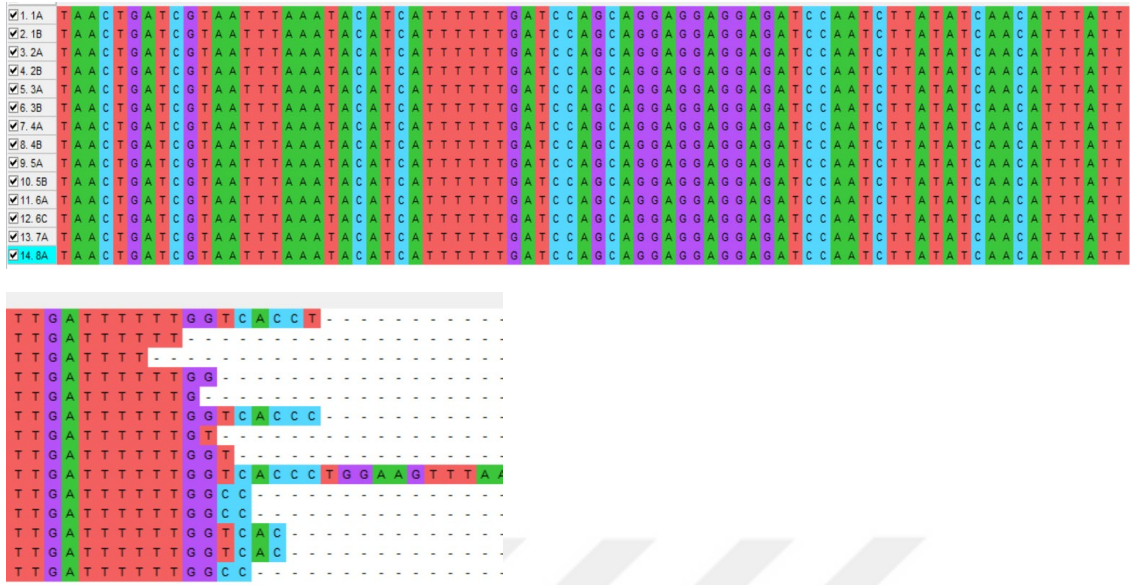
İzole edilen gDNA'lar ile PZR yapılarak mitokondriyal COI gen bölgesi çoğaltılmıştır. Bazı gDNA'lar (örnek: 7A) ilk PZR denemesinde çalışmayıp, ikinci denemede amplifikasyon ürünü elde edilmiştir. PZR ürünlerinin varlığı %1.5'lik agaroz jel elektroforezinde görüntülenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. %1.5 agaroz jel elektororezi ile PZR ürünlerinin varlığının tespiti

PZR ürünleri çift yönlü okuma ile teyit edilerek, 14 popülasyona ait COI gen bölgesine ait diziler belirlenmiştir. En uzun sekans 5A'ya (713 bç) ait iken, en kısa sekans 1B'den (677 bç) elde edilmiştir. 14 COI gene ait dizi hizalaması Şekil 4.8'de verilmiştir.





Şekil 4.8. COI gen dizilerinin hizalanması

Elde edilen her bir COI dizisi, BLAST programı ile veri tabanlarında homologlarının tespiti gerçekleştirilmiştir. Buna göre tüm sekanslar için aynı BLAST sonucu elde edilmiştir (Şekil 4.9).

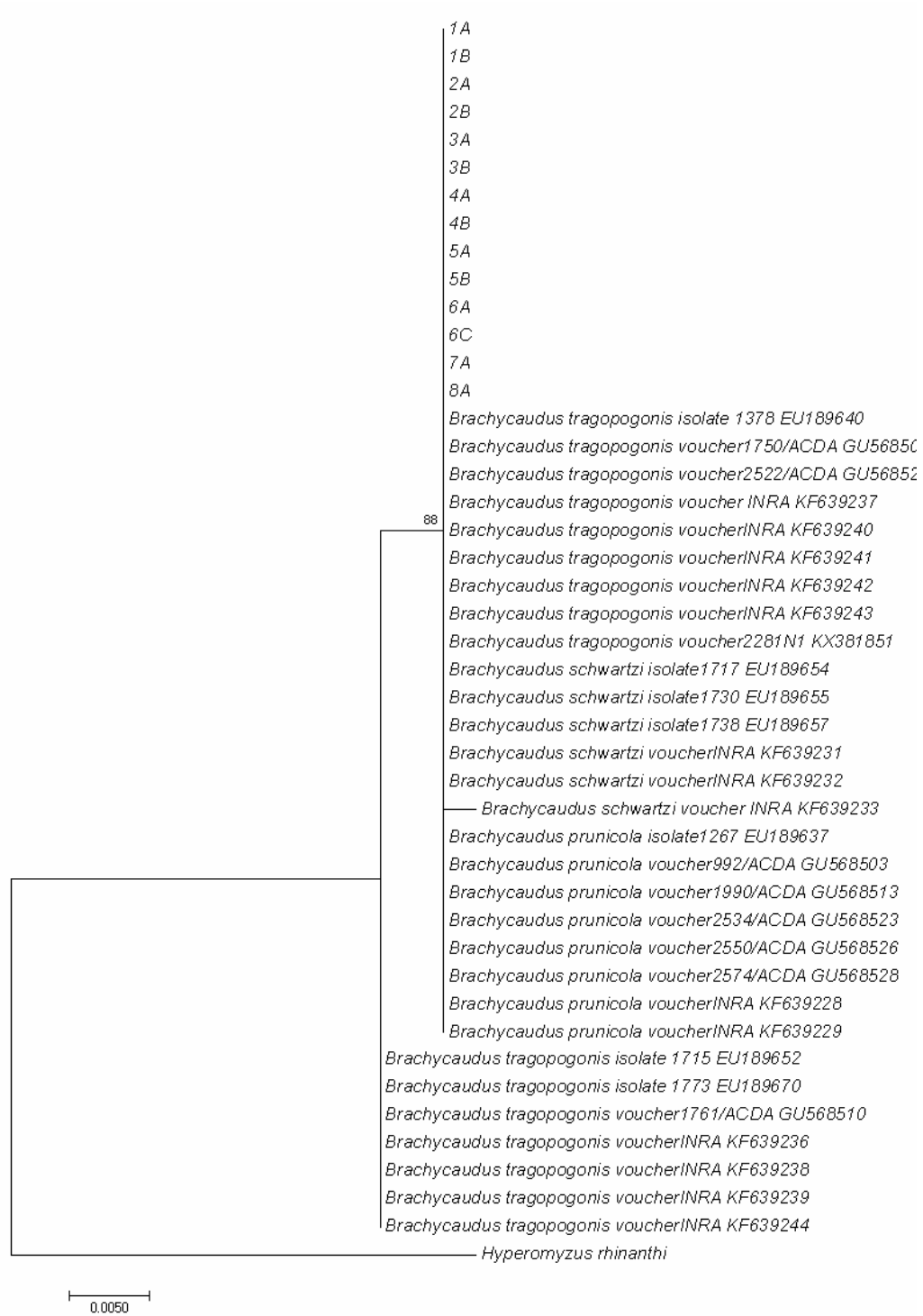
	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
✓	Brachycaudus sp. A RGF-2008 voucher CNC#HEM028522 cytochrome oxidase subun...	Brachycaud...	1216	1216	96%	0.0	100.00%	658	EU701535.1
✓	Brachycaudus schwartzi voucher INRA CBGP ACOE679/chasses679-ACDA cytochro...	Brachycaud...	1210	1210	96%	0.0	99.85%	658	KF639233.1
✓	Brachycaudus traopogonis voucher INRA CBGP ACOE1178/chasses1178-ACDA cyto...	Brachycaud...	1205	1205	96%	0.0	99.70%	658	KF639236.1
✓	Brachycaudus prunicola cytochrome oxidase subunit I gene, partial cds, mitochondrial	Brachycaud...	1203	1203	95%	0.0	100.00%	656	JF776571.1
✓	Brachycaudus schwartzi isolate 1730 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial...	Brachycaud...	1184	1184	93%	0.0	100.00%	642	EU189655.1
✓	Brachycaudus traopogonis isolate 1715 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, pa...	Brachycaud...	1173	1173	93%	0.0	99.69%	642	EU189652.1
✓	Brachycaudus prunicola voucher 2534/ACDA cytochrome oxidase subunit I (COI) gene...	Brachycaud...	1171	1171	92%	0.0	100.00%	634	GU568523.1
✓	Brachycaudus prunicola voucher 2574/ACDA cytochrome oxidase subunit I (COI) gene...	Brachycaud...	1170	1170	92%	0.0	100.00%	633	GU568526.1
✓	Brachycaudus traopogonis voucher 2281N1 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene...	Brachycaud...	1168	1168	92%	0.0	100.00%	632	KX381851.1
✓	Brachycaudus traopogonis voucher 2522/ACDA cytochrome oxidase subunit I (COI)...	Brachycaud...	1166	1166	92%	0.0	99.84%	634	GU568522.1
✓	Brachycaudus prunicola isolate 1267 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial...	Brachycaud...	1164	1164	92%	0.0	100.00%	630	EU189637.1
✓	Brachycaudus traopogonis voucher 1761/ACDA cytochrome oxidase subunit I (COI)...	Brachycaud...	1153	1153	92%	0.0	99.68%	630	GU568510.1
✓	Pterocomma neimonoense voucher ZMIOZ14339 cytochrome oxidase subunit I (COI)...	Pterocomma...	1138	1138	99%	0.0	96.77%	699	JN032715.1
✓	Brachycaudus spiraeae voucher INRA CBGP ACOE2143/chasses2143-ACDA cytochr...	Brachycaud...	1110	1110	96%	0.0	97.11%	658	KF639235.1
✓	Brachycaudus helichrysi voucher ZMIOZ17073 cytochrome oxidase subunit I (COI) ge...	Brachycaud...	1110	1110	97%	0.0	96.70%	667	KC286671.1
✓	Brachycaudus helichrysi voucher ZMIOZ24408 cytochrome oxidase subunit I (COI) ge...	Brachycaud...	1099	1099	97%	0.0	96.40%	667	KU286670.1
✓	Brachycaudus prunicola voucher 2550/ACDA cytochrome oxidase subunit I (COI) gene...	Brachycaud...	1099	1099	87%	0.0	99.83%	599	GU568526.1
✓	Brachycaudus helichrysi voucher IHR-BT-22 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene...	Brachycaud...	1098	1098	96%	0.0	96.80%	658	HQ632652.1
✓	Brachycaudus klugkisti voucher INRA CBGP ACOE2063/chasses2063-ACDA cytochro...	Brachycaud...	1094	1094	96%	0.0	96.66%	658	KF639198.1
✓	Brachycaudus helichrysi voucher ZMIOZ17215 cytochrome oxidase subunit I (COI) ge...	Brachycaud...	1094	1094	97%	0.0	96.25%	667	KC286672.1
✓	Brachycaudus traopogonis isolate 1378 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, pa...	Brachycaud...	1094	1094	86%	0.0	100.00%	592	EU189640.1
✓	Brachycaudus klugkisti voucher INRA CBGP ACOE1126/chasses1126-ACDA cytochro...	Brachycaud...	1088	1088	96%	0.0	96.50%	656	KF639197.1
✓	Brachycaudus helichrysi voucher ZMIOZ27602 cytochrome oxidase subunit I (COI) ge...	Brachycaud...	1088	1088	97%	0.0	96.10%	667	KC286668.1
✓	Brachycaudus schwartzi isolate 1717 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial...	Brachycaud...	1086	1086	85%	0.0	100.00%	588	EU189654.1

Şekil 4.9. COI dizileri ile gerçekleştirilen BLAST sonuçları

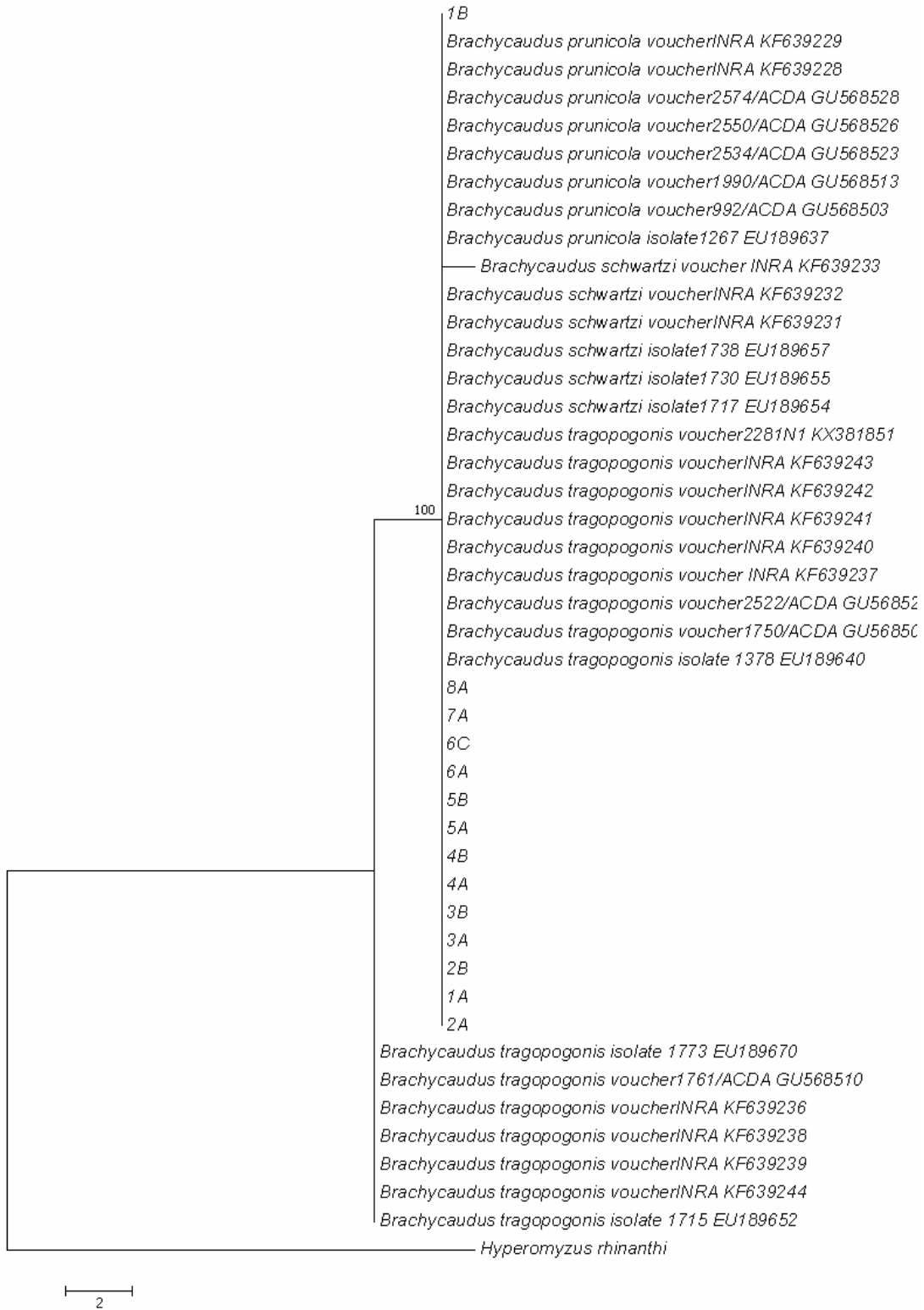
Elde edilen BLAST sonuçlarına göre veri tabanlarında COI dizisi en yüksek benzerlik gösteren türler, *Brachycaudus tragopogonis*, *Brachycaudus schwartzi* ve *Brachycaudus prunicola* olarak belirlenmiştir. Bu türlere ait sekanslar NCBI veri tabanından indirilmiştir ve filogenetik analizlerde kullanılmak üzere FASTA formatında düzenlenmiştir. Filogenetik analizler için daha önce *Brachycaudus* filogenesi için outgroup tür olarak kullanılan *Hyperomyzus rhinanthi* (KR345230) türü seçilmiştir (Coeur d'acier ve ark., 2014).

Filogenetik ağaç çizimi için bu çalışmadan elde edilen 14 COI gen dizisine ek olarak *B. tragopogonis*, *B. schwartzi* ve *B. prunicola* türlerine ait COI dizileri ile outgroup türe ait COI dizisi dahil toplam 45 dizi kullanılmıştır. Çoklu hizalama yapılarak tüm *Brachycaudus* türlerine ait COI gen dizisi nükleotid içerikleri bakımından incelendiğinde, oranlar A= % 34.8, T/U= % 41.9, C= % 13.1, ve G= % 10.2 olarak belirlenmiştir. Buna göre, *Brachycaudus* türlerinde COI dizisinin A+T baz bileşim oranının %76.7 olduğunu tespit ettik. Cocuzza ve ark. (2007) çalışmasında, *B. tragopogonis*, *B. schwartzi* ve *B. prunicola* türlerine ait COI dizisi nükleotid içeriği A= %35.4, T/U= % 41.9, C= %13.1 ve G= %9.7 olarak belirtilmiştir. Bu çalışma ile bizim elde ettiğimiz veriler uyushmaktadır. Ayrıca tüm COI dizileri hizalandığında, 725 nükleotidde 9 farklı nokta tespit edilmiştir.

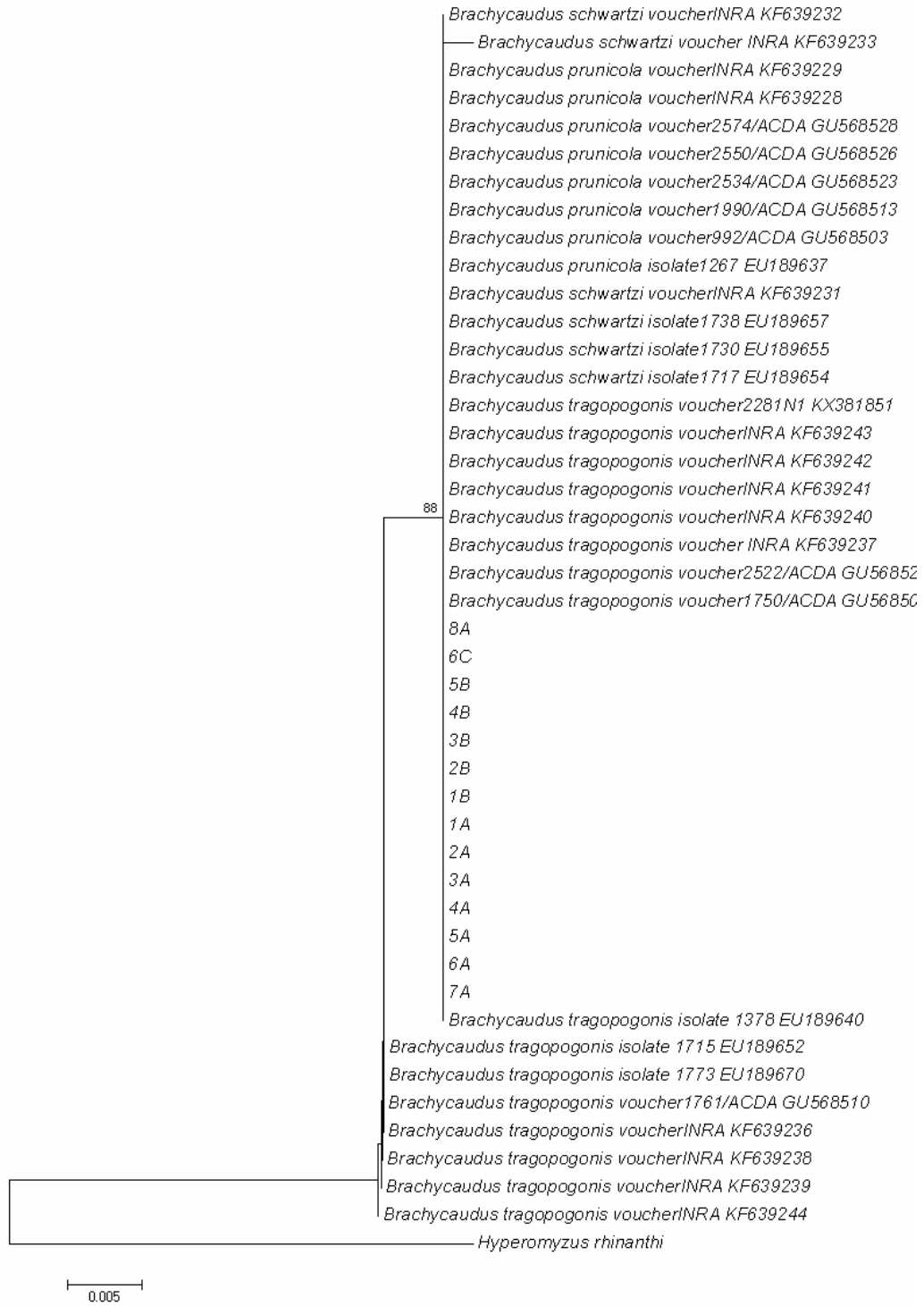
Bu çalışma ile elde ettiğimiz *B. prunicola* subsp. *schwartzi* COI sekansları ile diğer *Brachycaudus* türleri arasındaki evrimsel ilişkiyi anlamak için farklı metodlara dayanan filogenetik analizler yapılmıştır. Maximum Likelihood (ML) metodu, Tamura-Nei modeline (1993) göre, 1000 bootstrap replike kullanılarak çizilen ağaç Şekil 4.10'da gösterilmiştir. Aynı sekanslar kullanılarak Tree-Bisection-Reconnection modeline dayalı, 1000 bootstrap replike kullanılarak Maximum Parsimony (MP) metoduyla çizilen filogenetik ağaç Şekil 4.11'de verilmiştir. Neighbour Joining (NJ) metoduyla çizilen ağaç Şekil 4.12'de gösterilmiştir. ML, MP ve NJ ağaçlarının benzer topolojiye sahip olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.10. *Brachycaudus* türlerine ait ML yöntemi ile çizilen filogenetik ağaç



Şekil 4.11. *Brachycaudus* türlerine ait MP yöntemi ile çizilen filogenetik ağaç



Şekil 4.12. *Brachycaudus* türlerine ait NJ yöntemi ile çizilen filogenetik ağaç

Filogenetik analizler sonucunda, bu çalışmada tanımladığımız *B. prunicola* subsp. *schwartzi* türü ile veri tabanlarından COI dizisi elde edilen *B. schwartzi*, *B. tragopogonis* ve *B. prunicola* türlerinin aynı klad içerisinde bulundukları görülmektedir. Bazı *B. tragopogonis* türüne ait izolatların *B. schwartzi* ve *B. prunicola* ile aynı kladda olup bazılarının ayrı klad oluşturması, *B. tragopogonis*'e ait veri tabanlarında bulunan COI gen dizilerinin doğruluğu hakkında veya türün doğru teşhis edilmediği hususunda şüphe uyandırmaktadır. Daha önceki çalışmalarda, alt cins *Appelia*'ya ait türlerin monofiletik grup kurdukları ifade edilmiştir (Coeur d'acier ve ark., 2008). Bizim elde ettiğimiz sonuçlar da *Brachycaudus* türlerinin monofiletik olduğunu göstermektedir.

Genetik mesafeler karşılaştırıldığında (Tablo 4.1), türler arasında hesaplanan genetik uzaklık değeri, *B. schwartzi* ve *B. prunicola* için 0.0, *B. prunicola* subsp. *schwartzi* ile *B. schwartzi* ve *B. prunicola* için 0.0, *B. prunicola* subsp. *schwartzi* ile *B. tragopogonis* için 0.004 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler, *B. schwartzi* ve *B. prunicola* türlerinin genetik olarak aynı, *B. tragopogonis* ile de çok benzer olduğunu göstermektedir. Cocuzza ve ark. (2007) çalışması da *B. schwartzi* ile *B. prunicola* arasındaki genetik mesafeyi 0.0, *B. tragopogonis* ile bu iki tür için 0.002 olarak tespit etmiştir. Sonuç olarak, bu 3 taksonun morfolojik benzerliklerine ek olarak, genetik olarak da hiç farklı olmadıklarını söyleyebiliriz.

Tablo 4.1. Filogenetik analiz için kullanılan tüm sekanslar arasındaki genetik mesafe matrisi

[illegible]

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Türkiye'nin Orta Karadeniz Bölgesi'nde bulunan Tokat ili, iklim, coğrafik ve ekolojik yapısı bakımından önemli bir tarım kentidir. 2020 yılı tarım istatistikleri verilerine göre Tokat ili yüzölçümünün %35.8'i olan 360 603 ha'lık alan tarım arazisi olarak kullanılmaktadır (Anonim, 2020b). Bu alanın 17 137 ha'ında sebze tarımı, 9 834 ha'ında meyve tarımı yapılmaktadır. Meyve ürünleri arasında şeftali 873 ha'lık ekim alanıyla üzüm ve elma yetiştiriciliğinden sonra Tokat ilinde önemli bir yere sahiptir. Meyve üretiminde verim ve kalite kaybına neden olan iklim ve çevresel faktörler, doğal afetler, göç, yanlış veya aşırı pestisit kullanımının yanı sıra hastalık ve zararlıların varlığı en önemli etkenler olarak ifade edilmektedir (Geboloğlu ve ark., 2011). Üreticilerin zararlılar ile mücadelede kullandıkları ilaçları büyük çoğunlukla kişisel tecrübe veya tavsiyeye göre yaptıkları, sadece %10'nun uzman desteği aldığı belirtilmektedir (Geboloğlu ve ark., 2011). Bu durum, üreticilerin zararlıları doğru teşhis etme ve onlara karşı etkili mücadelenin belirlenmesinde yeterli bilgi birikimine sahip olmadıkları göstermekte ve zararlılarla bilinçli mücadele edilmesi ve verimli yetiştiricilik için zararlıların teşhis edilmesine yönelik bilimsel çalışmaların ne kadar gerekli olduğunu ortaya koymaktadır. Şeftali üretiminde en önemli zararlılardan biri de yaprakbitleridir. Bu kapsamda, Tokat ilinde bazı şeftali bahçeleri taranmış ve şeftali (*Prunus persica* L.) zararlısı yaprakbiti türünün ne olduğuna yönelik morfolojik ve moleküler çalışmalar yapılmıştır. Buna göre Tokat ili şeftali zararlısının *Brachycaudus* cinsi *Appelia* alt cinsine ait *B. prunicola schwartzi* (Börner, 1931) türü olduğu belirlenmiştir.

B. prunicola schwartzi Türkiye’de ilk defa İstanbul’da tespit edilmiştir (Tuatay ve Remaudière, 1964). Ayrıca Amasya, Artvin, Burdur, Çanakkale, Denizli, Erzurum, Giresun, Kars, Manisa, Sinop, Tekirdağ (Tuatay, 1988), İçel, Osmaniye (Toros ve ark., 2002), Kahramanmaraş (Aslan ve Uygun, 2005), Trabzon (Görür ve ark., 2009), Afyonkarahisar (Görür, 2014), Aydın (Karakaya, 2014) illerinde tespit edilmiş ve konukçuları *P. avium*, *P. persica* L., *P. domestica* L. ve *Tragopogon* sp. olarak belirlenmiştir. Bu tür Tokat ilinde şeftali zararlısı veya başka konukçu üzerinde daha önce tespit edilmemiştir. Dolayısıyla, *B. prunicola schwartzi* türü bu çalışma ile ilk defa Tokat’ta belirlenmiştir. Bu tür, taranan tüm şeftali ağaçlarının yapraklarında bükülmeye sebep olduğu gözlemlenmiştir ve bu zararı türün hızlı şekilde tespiti için kullanılabilir.

Türkiye’de yaprakbiti faunasına yönelik çalışmalar artmakla birlikte bu çalışmaların genellikle liste şeklinde verildiği görülmektedir. Morfolojik ve moleküler verilerin yeterli olmaması, yaprakbiti türlerinin morfolojik karakterlerinin belirlenmesi ve yakın türler ile olan akrabalık ilişkisinin anlaşılmasını zorlaştırmaktadır. DNA barkodlama yöntemi ile çoğu canlı için tür seviyesinde ayırımın, mitokondriyal COI gen dizi bölgesinin elde edilmesi ile hızlı ve doğru şekilde yapılacağı öne sürülmüştür (Hebert ve ark., 2003). Nitekim COI gen dizisine dayalı DNA barkodlama yöntemi, yaprakbiti türlerinin belirlenmesi ve alt türlerin ayırımı için etkili bir moleküler yaklaşım olmaktadır (Moran ve ark., 1999; Rakauskas ve Turčinavičienė, 2006; Cocuzza ve ark., 2007; Footit ve ark., 2008; Coeur d’acier ve ark., 2014). Dünyadaki yaprakbiti türleri için bu yöntem 2000’li yılların başlarında kullanılmaya başlansa da Türkiye’de DNA barkodlama ile yaprakbiti tür tespiti oldukça yenidir ve yapılan çalışmalar sınırlıdır. Türkiye’de şu ana kadar DNA barkodlama ile tür teşhisi yapılan yaprakbiti türleri *Myzus cerasi*, *Aphis pomi*, *A. spiraeicola*, *Hyalopterus persiconus*, *H. amygdali*, *H. pruni* ve 24 farklı *Cinara* cins yaprakbitleridir (Rakauskas ve ark., 2014, 2015; Şenol, 2017; Akyıldırım Beğen ve Görür, 2019; İnal ve Kandemir, 2020). Türkiye’de *Brachycaudus* cins yaprakbitlerine yönelik moleküler bir çalışma bulunmamaktadır. Dolayısıyla, bu çalışma, *Brachycaudus* cins yaprakbitinden CIO gen dizisinin elde edilerek tür teşhisinin yapıldığı ve filogenetik analizin gerçekleştirildiği ilk çalışmadır.

Brachycaudus cinsine ait 50 tür bilinmektedir (Rémaudière ve Rémaudière, 1997; Andreev, 2004). Bu cinse ait türlerin benzer morfolojileri veya türler arasındaki kriptik morfolojik farklılıklar nedeniyle *Brachycaudus* taksonomisinde belirsizlikler bulunmaktadır (Coeur d'acier ve ark., 2008). Ayrıca yaşam döngülerindeki evrimsel değişkenlikler türleşme olaylarının kaynağı olabileceği ifade edilmektedir (Jousselin ve ark., 2010). *Brachycaudus* alt cinsi *Appelia*'ya ait 3 tür (*B. prunicola*, *B. schwartzi*, *B. tragopogonis*) arasında görülen yüksek morfolojik benzerlikler, bu grubun taksonomisi üzerine çok farklı yorumlar yapılmasına sebebiyet vermiştir. Bazı bilim insanları, *B. prunicola* ve *B. schwartzi* türlerinin konukçu farklılıkları nedeniyle farklı iki tür olarak sayılması gerektiğini (Thomas, 1962) bazıları da bu iki türün sinonim olduğunu ifade etmişlerdir (Shaposhnikov, 1964). Daha sonraki çalışmalar *B. prunicola*, *B. schwartzi* ve *B. tragopogonis* türlerini 3 farklı taksa olarak ifade etmiştir (Szelegiewicz, 1968; Remaudière ve Remaudière, 1997; Andreev ve Namontova, 1998; Blackman ve Eastop, 2000).

2007 yılında, *Appelia* alt cinsinde sınıflandırılan *B. prunicola*, *B. schwartzi*, *B. tragopogonis* ve *B. cerinthis* türlerinin taksonomik sınıflandırılmasını belirlemek adına ilk defa biyometrik ve genetik analizleri kapsayan bir çalışma yapılmıştır (Cocuzza ve ark., 2007). Biyometrik analizler 14 farklı karakteri kapsamaktadır. Analizlerden elde edilen verilerin *B. prunicola* ve *B. schwartzi* türleri için çok benzer olduğu ve bu türleri ayırmak için yeterli olmadığını ifade etmişlerdir. *B. tragopogonis* ise bu türlerden ayırt edilebilmiştir. Wilk's lambda analizine göre elde edilen kanonik ayırma fonksiyon sonuçlarına göre de *B. prunicola* ve *B. schwartzi* türleri için morfolojik farkın çok az veya hiç olmadığı anlaşılmıştır. Bu iki türün ayırt edilmesini sağlayan en önemli özellik, abdomen üzerindeki marjinal tüberkülün *B. schwartzi*'de *B. prunicola*'ya göre daha uzun olmasıdır. Biyometrik analizlerin yanı sıra filogenetik analiz sonuçlarına göre, *B. prunicola*, *B. tragopogonis* ve *B. cerinthis*'in farklı türler olduğu belirtilmiş, *B. schwartzi*'nin *B. prunicola*'nın bir alt türü olarak görülmesi gerektiğini ifade etmişlerdir.

Bu çalışma ile artık *B. schwartzi* türü, “*B. prunicola* subsp. *schwartzi*” olarak isimlendirilmiştir. Bu taksonomik sınıflandırmanın netlik kazanması için tür ayırımında kullanılan morfolojik karakterlerin daha iyi belirlenmesi ve teşhis anahtarlarının doğru hazırlanması gerekmektedir. Ayrıca farklı coğrafik bölgelerden *Brachycaudus* türlerin tespit edilmesine yönelik çalışmaların artırılması ve farklı markırların kullanıldığı moleküler çalışmaların yapılması türler arası genetik farklılıkların daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır.

Brachycaudus cinsi sistematigini anlamak adına bazı moleküler çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Coeur d’acier ve ark., 2008, 2014; Jousselin ve ark., 2009, 2010). Bu çalışmalar, *Appelia* alt cinsin monofilik olduğunu, *B. prunicola*, *B. schwartzi* ve *B. tragopogonis* türlerinin bir arada kümelendiğini ve diğer *Brachycaudus* türlerinden ayrı bir klad oluşturduğunu göstermiştir. Bu çalışmada tespit edilen 14 farklı popülasyona ait *B. prunicola schwartzi* türlerine ait COI gen dizileri ve veri tabanlarından elde ettiğimiz diğer iki türe ait diziler ile yaptığımız filogenetik analiz sonuçlarının da yukarıda bahsedilen moleküler çalışmalar ile uyumlu olduğunu görmekteyiz. Türler arası genetik mesafeye bakıldığında, bu mesafenin *B. prunicola* ve *B. schwartzi* için 0.0, *B. tragopogonis* ve diğer 2 tür için 0.004 olduğunu tespit ettik. Bu sonuç, Cocuzza ve ark. (2007) ve Coeur d’acier ve ark. (2008) verilerini desteklemektedir. Elde edilen bu veriler, *Appelia* alt cinsine ait türler arasındaki türleşme olayının çok yakın zamanda olduğunu ve yeterli genetik farklılaşmanın oluşmasına sebebiyet vermediğini göstermektedir. Eastop (1977), yaprakbitlerinin çoğunun monofag olduğunu; bu nedenle, tanımlanmış bir konukçu bitkiye olan bağlantıları, türleşmedeki diğer faktörlerden daha fazla ağırlık taşıyabileceğini belirtmektedir. Buna göre, bu 3 türün *Prunus* ve *Tragopogon* konukçularında bulunan ve birbirine çok yakın heteroecious yaprakbiti türleri olmaları da ihtimaldir.

Yaprakbiti zararlılarına karşı daha etkili stratejilerin geliştirilmesi için doğru tür tespiti yapılması kaçınılmazdır. Yaprakbitlerinde morfolojik benzerliklerin yüksek olması, sadece morfolojik özelliklere dayalı biyometrik çalışmalar ile tür teşhisini yetersiz kılmaktadır. Bu da hem morfolojik hem de moleküler çalışmaları kapsayan multidisipliner çalışmaların bir arada yürütülmesinin sistematik çalışmalarda, özellikle de sorunlu taksonomik grupların belirlenmesinde, ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Bu çalışma, DNA barkodlama yönteminin, morfolojik ve ekolojik çalışmaları tamamlayıcı ve kriptik tür bulunduran taksaların ayrılmasında, akrabalık ilişkilerinin belirlenmesinde ve türlerin yanlış tanımlanmasındaki sorunların çözülmesinde gerekli olduğunu ortaya koymaktadır. Türkiye’de çoğu bölgede yaprakbiti tür tespiti hala yapılmamıştır. Oldukça hızlı yayılma kapasitesine sahip bu zararlıların tespiti, verdiklerin zararın önlenmesi için yapılması gereken ilk aşamadır. Bu çalışma Tokat ili şeftali zararlısını belirlemek için bir ilk olup, ileride daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiği de ortadadır.

6. KAYNAKLAR

- Akyıldırım Beğen, H. and Görür, G., 2019. Molecular Phylogeny of Some *Cinara* Species (Hemiptera: Aphidoidea) Feeding on Cupressaceae Species in Turkey. *Journal of the Entomological Research Society*, 21(3): 291-300.
- Akyıldırım Beğen, H., 2016. İç Batı Anadolu ve Niğde İllerinde Yayılım Gösteren *Cinara* spp.'nin Morfolojik ve Moleküler Varyasyonlarının Belirlenmesi. (Doktora Tezi), Niğde Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde.
- Akyıldırım, H., 2010. İstanbul İli Büyükada İlçesi Afıt (Hemiptera: Aphidoidea) Faunasının Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Niğde Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde.
- Akyürek, B., Zeybekoğlu, Ü. and Görür, G., 2010. New records of aphid species (Hemiptera: Aphidoidea) for Turkish fauna from Samsun Province. *Turk J. Zool.*, 34: 421-424.
- Alaserhat, İ., Alıcı, H. ve Canbay, A., 2016. Erzincan İlinde Yetiştirilen Ilıman İklim Meyve Türlerinde ve Bağlarda Bulunan Zararlı Arthropoda Türleri. *Uluslararası Erzincan Sempozyumu*, 3: 589-601.
- Altay, H. ve Uysal, M., 2005. Selçuk Üniversitesi Alaeddin Keykubat kampüs alanında bulunan yaprakbiti (Homoptera: Aphidoidea) türleri. *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19(37): 92-99.
- Andreev, A. B. and Mamontova, B. A., 1998. Aphids of the genus *Brachycaudus* (Homoptera, Aphididae) in the Eastern Europe. *Vestnik Zoologii*, 32: 65-75.
- Andreev, A. V., 2004. The subgeneric classification of *Brachycaudus* Van der Goot. In *Aphids in a new millennium. Proc. of the 6th Int. Symp. on Aphids* (ed. J. C. Simon, C. A. Dedryver, C. Rispe & M. Hulle), pp. 111-117. Rennes, France: INRA Editions
- Andret-Link, P. and Fuchs, M., 2005. Transmission Specificity of Plant Viruses by Vectors. *Journal of Plant Pathology*, 87(3):153-165.
- Anonim, 2019. Tokat İli 2019 Yılı Tarım İstatistikleri. T.C. Tokat Valiliği Tarım ve Orman İl Müdürlüğü, <https://tokat.tarimorman.gov.tr/Link/2/Istatistikler> (05.11.2020)
- Anonim, 2020a. Meyve Ürünleri, İçecek ve Baharat Bitkileri Üretim Miktarları. Türkiye İstatistik Kurumu, <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2020-33737> (23.11.2021)
- Anonim, 2020b. Tokat İli 2020 Yılı Tarım İstatistikleri. T.C. Tokat Valiliği Tarım ve Orman İl Müdürlüğü, <https://tokat.tarimorman.gov.tr/Belgeler/%C4%B0statistikler/ALANLAR/%C4%B0STAT%C4%B0ST%C4%B0KLER%202020%20-%20KES%C4%B0N.pdf> (16.06.2021).
- Anonim, 2022. <https://i.redd.it/0wpr00y8vqry.jpg> (09.02.2022).

- Anonim, 2022a. Aphid. <https://en.wikipedia.org/wiki/Aphid>, (09.02.2022).
- Anonim, 2022b. CUSMIBIO, UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO, http://www.cusmibio.unimi.it/documenti/website_new/en/introduction/index4.htm (02.01.2022).
- Anonim, 2022c. Aphid. <http://aphid.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID=1170404> (02.03.2022).
- Aslan, B. and Karaca, İ., 2005. Fruit tree Aphids and their natural enemies in Isparta region, Turkey. *Journal of Pest Science*, 78: 227-229.
- Aslan, B., 2015. Survey of the Predatory and Parasitoid Species-Complex of Ephids (Hemiptera: Aphididae) at Fruit Growing Areas in Burdur, Turkey. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 25(1): 261-265.
- Aslan, M.M. and Uygun, N., 2005. Aphids (Homoptera: Aphididae) of Kahramanmaras Province, Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 29: 201-209.
- Aslan, M.M., Uygun, N. and Starý, P., 2004. A Survey of Aphid Parasitoids in Kahtamanmaras, Turkey (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae; and Hymenoptera: Aphelinidae. *Phytoparasitica*, 32(3): 255-263.
- Berry, R. E. and Taylor, L. R., 1968. High-Altitude Migration of Aphids in Maritime and Continental Climates. *Journal of Animal Ecology*, 37 (3): 713–722.
- Blackman, R.L. and Eastop, V.F. 2014a. Aphids of The World's Plants. An online identification and information guide http://www.aphidsonworldsplants.info/d_APHIDS_B.htm#Brachycaudus
- Blackman, R.L. and Eastop, V.F., 1994. Aphids on the World's Trees. An Identification and Information Guide. CAB International, UK, s.1004.
- Blackman, R.L. and Eastop, V.F., 2000. Aphids on the World's Crops. An Identification and Information Guide. Second Edition. John Wiley and Sons Ltd., England, s.466.
- Blackman, R.L. and Eastop, V.F., 2000. Aphids on the World's Trees II. Cab. International, University Press, p.986, Cambridge, UK.
- Blackman, R.L. and Eastop, V.F., 2006. Aphids on the World's herbaceous plants and shrubs: an identification and information guide, Vol. 1. And 2., John Wiley and Sons, Chichester, England.
- Blackman, R.L. and Eastop, V.F., 2014. Aphids on the World's Plants. An Online Identification and Information Guide. <http://www.aphidsonworldsplants.info/Introduction.htm> (01.12.2021).
- Blackman, R.L. and Eastop, V.F., 2017. Taxonomic Issues. Aphids as Crop Pests Second Edition, Eds: van Emden, H.F. and Harrington, R., CABI, UK, s.1-27.

- Blackman, R.L. and Eastop, V.F., 2021. Aphids on the World's Plants. An Online Identification and Information Guide. <http://www.aphidsonworldsplants.info> (09.11.2021).
- Blanchard, S., Lognay, G., Verheggen, F. and Detrain, C., 2019. Today and tomorrow: impact of climate change on aphid biology and potential consequences on their mutualism with ants. *Physiological Entomology*, 44, 77-86.
- Brault, V., Uzest, M., Monsion, B., Jacquot, E. and Blanc, S., 2010. Aphids as transport devices for plant viruses. *Comptes Rendus Biologies*, 333(6-7): 524-538.
- Cameron, S. L. 2014. Insect mitochondrial genomics: implications for evolution and phylogeny. *Annu. Rev. Entomol.* 59: 95–117.
- Caterino, M. S., Cho, S. and Sperling, F. A. H., 2000. The current state of insect molecular systematics: a thriving Tower of Babel. *Annu. Rev. Entomol.* 45: 1–54.
- Cocuzza, G.E.M., Di Silvestro, S., Giordano, R. And Rapisarda, C., 2015. Congruence between cytochrome oxidase I (COI) and morphological data in *Anuraphis* spp. (Hemiptera: Aphididae) with a comparison between the utility of the 5' barcode and 3' COI regions. *ZooKeys*, 529: 123.
- Coeur d'acier, A., Cocuzza G. E., Jouselin, E., Cavalieri, V. and Barbagallo, S., 2008. Molecular phylogeny and systematics in the genus *Brachycaudus* (Homoptera: Aphididae): insight from a combined analysis of nuclear and mitochondrial genes. *Zoologica Scripta* 37: 175–193
- Çanakçıoğlu, H., 1991. Orman Entomolojisi. İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, s.458.
- Daşçı, E. ve Güçlü, Ş., 2008. Iğdır Ovasında Meyve Ağaçlarında Bulunan Yaprakbiti Türleri (Homoptera: Aphididae) ve Doğal Düşmanları. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 39(1): 71-73.
- Denizhan, E. ve Yaşar, B., 2005. Van İlinde Beş Farklı Şeftali Çeşidi Üzerindeki *Hyalopterus pruni* (Geoffroy) (Homoptera: Aphididae)'nin Populasyon Yoğunluğunun Saptanması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi*, 15(2): 159-166.
- Derocles, S. A. P., Le Ralec, A., Plantegenest, M., Chaubet, B., Cruaau, C., Cruaud, A., and Rasplus, J. Y., 2012. Identification of molecular markers for DNA barcoding in the Aphidiinae (Hym. Braconidae). *Mol. Ecol. Res.* 12: 197–208.
- Dixon, A.F.G., 1985. Structure of aphid populations. *Ann. Rev. Entomol.* 30: 155–174.
- Dixon, A.F.G., 1998. *Aphid Ecology*. Second edition. Chapman and Hall, 2-6 Boundary Row. London SE1 8 HN, UK.
- Dong, Z., Y., Li, S., Liu, and Zhang, Z., 2018. Genetic diversity of the melon aphid *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) in a diversified vegetable growing area. *Appl. Entomol. Zool.* 53: 259–266.
- Düzgüneş, Z. ve Tuatay, N., 1956. Türkiye Aphid'leri, Ziraat Vekaleri. Ankara Ziraat Mücadele Enstitüsü Müdürlüğü, Yayın no: 4-63, Ankara.

- Elibüyük, İ.Ö., 2005. Ankara’da Şeftali Ağaçlarında Görülen Sharka Hastalığı Üzerinde Araştırmalar. Tarım Bilimleri Dergisi, 11(3): 236-243.
- Erkin, E., 1983. Investigations on the Hosts, Distribution and Efficiency on the Natural Enemies of the Family Aphididae (Homoptera) Harmful to Pome and Stone Fruit Trees in İzmir Province of Aegean Region. Türkiye Bitki Koruma Dergisi, 7(1): 29-49.
- Eser, S.İ., 2009. İzmir İli Urla İlçesindeki Bitkilerde Zarar Yapan Afit (Hemiptera: Aphidoidea) Türlerinin Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Niğde Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde.
- Eser, S.İ., Görür, G., Tepecik, İ. and Akyıldırım, H., 2009. Aphid (Hemiptera: Aphidoidea) species of the Urla District of İzmir Region. JABS, 3(1): 99-102.
- Footitt, R.G., Maw, H.E.L. and Pike, K.S., 2009. DNA barcodes to explore diversity in aphids (Hemiptera Aphididae and Adelgidae). REDIA, 92: 87-91.
- Footitt, R.G., Maw, H.E.L., Dohlen, C.D.V. and Herbert, P.D.N., 2008. Species identification of aphids (Insecta: Hemiptera: Aphididae) through DNA barcodes. Molecular Ecology Resources, 8: 1189-1201.
- Geboloğlu, N., Cangi, R., Edizer, Y., Sayılı, M. ve Yağcı, A., 2011. Tokat İli Meyve ve Sebze Sektörü Rekabet Analizi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, https://www.kalkinmakutuphanesi.gov.tr/assets/upload/dosyalar/84tokat-ili-yas-sebze-ve-meyve-sektoru-rekabet-analizi_v2.pdf (06.03.2022).
- Giray, H., 1974. İzmir ili ve çevresinde Aphididae familyası türlerine ait ilk liste ile bunların konukçu ve zarar şekilleri hakkında notlar. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 11(1): 39-69.
- Golfari, L., 1947. Appunti sulla etologia di alcuni afidi del pesco. Boll. Ist. Entomol. Bologna, 16: 115-128.
- Görür, G., 2014. İç Batı Anadolu Bölümü Afit (Hemiptera: Aphidoidea) Faunasının Belirlenmesi. TÜBİTAK Projesi (111T866), Niğde.
- Görür, G., 2018. Adıyaman, Malatya ve Şanlıurfa İlleri Afit (Hemiptera: Aphidoidea) Faunasının Belirlenmesi. TÜBİTAK 1001 Projesi, Niğde.
- Görür, G., Şenol, Ö. ve Akyıldırım Beğen, H., 2019. Adıyaman, Malatya ve Şanlıurfa İllerinden Belirlenen Afit Türlerinin Türkiye Afit Faunasına Katkıları Açısından Değerlendirilmesi. Selçuk Üniversitesi. Fen Fakültesi Dergisi, 45(2): 103-115.
- Görür, G., Zeybekoğlu, Ü., Akyürek, B., Işık, M. ve Akyıldırım, H., 2009. Trabzon, Rize ve Artvin İllerinin Afit (Homoptera: Aphididae) Faunasının Belirlenmesi. TÜBİTAK Projesi (107T450), Niğde.
- Güçlü, C., 2014. Çoruh Vadisi’nde, Meyvelerde Zarar Yapan Afit (Aphididae: Hemiptera) Türleri ve bunların Parazitoidlerinin DNA Barcoding Yöntemi ile Belirlenmesi. TÜBİTAK 1001 Projesi, Eskişehir.

- Güleç, G., 2011. Antalya Şehri Park Alanlarında Aphidoidea (Hemiptera) Türlerinin Saptanması ve Doğal Düşmanlarının Belirlenmesi. (Doktora Tezi), Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, s.325. Ankara.
- Güncan, A., Yoldaş, Z. ve Madanlar, N., 2010. İzmir’de şeftali bahçelerinde bulunan yaprakbiti (Hemiptera: Aphididae) türleri ve doğal düşmanları üzerinde araştırmalar. Türk Entomoloji Dergisi, 34(3): 299-408.
- Gürkan, İ., 2010. Tokat Kazova Domates Ekim Alanlarında Görülen Zararlılar ve Bunlar Üzerinde Yaşayan Faydalı Grupların Tespiti Üzerine Araştırmalar. Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat.
- Hazır, A. ve Ulusoy, M.R., 2012. Adana ve Mersin illeri şeftali ve nektarin alanlarında saptanan zararlılar ile predatör ve parazitoit türleri. Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 3(2): 157-168.
- Hebert, P. D., Cywinska, A. and Ball, S. L., 2003. Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 270(1512): 313-321.
- Heie, O.E. and Wegierek, P.A., 2009. Classification of the Aphidomorpha (Hemiptera: Sternorrhyncha) Under Consideration of The Fossil Taxa,. Redia, 92: 69-77.
- Hill, D.S., 1987. Agricultural Insect Pests of Temperate Regions and Their Control. Cambridge University Press, 659 p, Cambridge, United Kingdom.
- Hill, L., 2012. The currant lettuce aphid, *Nasonovia ribisnigri* arrives in Tasmania: Part 1. *Victorian Entomologist*, 42 (2): 29–31.
- Hoy, M. A., 2003. Insect molecular genetics: an introduction to principles and applications. Academic Press, s.538.
- Isard, Scott A., Irwin, Michael E. and Hollinger, Steven E., 1990. Vertical Distribution of Aphids (Homoptera: Aphididae) in the Planetary Boundary Layer. *Environmental Entomology*, 19 (5): 1473–1484.
- İnal, B. and Kandemir, İ., 2020. DNA barcoding of black cherry aphid *Myzus cerasi* (Fabricus, 1775) (Hemiptera: Aphididae) populations collected from *Prunus avium* and *Prunus cerasus*. *Turkish Journal of Zoology*, 44: 146-155.
- İnal, B., 2018. Kiraz Siyah Yaprakbiti [*Myzus cerasi* (Fabricus, 1775) (Hemiptera: Aphididae)]’nin Farklı Popülasyonlarında Genetik Varyasyonun ve Endosimbiyontlarının Belirlenmesi. (Doktora Tezi), Ankara Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Jousselin, E., Desdèvises, Y. and Coeur d’acier, A., 2009. Fine-scale cospeciation between *Brachycaudus* and *Buchnera aphidicola*: bacterial genome helps define species and evolutionary relationships in aphids. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276:187-196.
- Jousselin, E., Genson, G. and Coeur d’acier, A., 2010. Evolutionary lability of a complex life cycle in the aphid genus *Brachycaudus*. *BMC Evolutionary Biology*, 10:295.

- Karakaya, İ.S., 2014. Aydın İlinde Yumuşak ve Sert Çekirdekli Meyve Ağaçlarında Zararlı Yaprakbiti (Hemiptera: Aphidoidea) Türleri ile Parazitoit ve Predatörlerinin Saptanması. (Yüksek Lisans Tezi), Adnan Menderes Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Kılıç, M. ve Aykaç, M.K., 1989. Karadeniz bölgesi şeftali bahçelerindeki zararlılarla mücadelenin yönetimi üzerinde araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni, 29(3-4): 211-241.
- Kindlmann, P., and Dixon, A. F. G., 1989. Developmental Constraints in the Evolution of Reproductive Strategies: Telescoping of Generations in Parthenogenetic Aphids. Functional Ecology, 3(5), 531–537.
- Knoblauch, M. and van Bel, A. J. E., 1998. Sieve tubes in action. The Plant Cell 10, 35–50.
- Knowlton, N. and Weigt, L. A., 1998. New dates and new rates for divergence across the Isthmus of Panama. Proc. R. Soc. Lond. B **265**, 2257–2263.
- Kök, Ş. and Kasap, İ., 2019. Aphid (Hemiptera: Aphididae) species of the South Marmara Region of Turkey including the first record of *Dysaphis radicola meridialis* Shaposhnikov, 1964 for the aphid fauna of Turkey. Turkish Journal of Entomology, 43(1): 63-78.
- Kök, Ş. ve Özdemir, I., 2021. Annotated Systematic Checklist of the Aphids (Hemiptera: Aphidomorpha) of Turkey. Zootaxa, 4925(1): 001-074.
- Kök, Ş., Kasap, I. and Özdemir, I., 2016. Aphid (Hemiptera: Aphididae) species determined in Çanakkale Province with a new record for the aphid fauna of Turkey. Turk J. Entomol., 40: 397-412.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K., 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology and Evolution 33: 1870-1874.
- Kumar, S., 2020. Aphid-Plant Interactions: Implications for pest Management. Plant Communities and Their Environment (Chapter 7)(Eds: Oliveira, M. T., Candan, F. and Fernandes-Silva, A.). IntechOpen, s.1-10.
- Lee, W. and Akimoto, S.I., 2015. Development of new barcoding loci in gall-forming aphids (Eriosomatinae: Eriosomatini): comparing three mitochondrial genes, ATP6, ATP8, and COI. Journal of Asia-Pacific Entomology, 18(2): 267-275.
- Lee, W., Kim, H., Lim, J., Choi, H .R., Kim, Y., Kim, Y.S., Ji, J. Y. and Foottit, R. G., 2011. Barcoding aphids (Hemiptera: Aphididae) of the Korean Peninsula: updating the global data set. Mol. Ecol. Resour. 11, 32–37.
- Lodos, N., 1986. Türkiye Entomolojisi II (Genel Uygulamalı ve Faunistik), Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını, Yayın no:429, İzmir, s.580.
- Mille, C., Jourdan, H., Cazères, S., Maw, E. and Foottit, R., 2020. New data on the aphid (Hemiptera, Aphididae) fauna of New Caledonia: some new biosecurity threats in a biodiversity hotspot. ZooKeys, 943: 53–89.

- Moran, N. A., Kaplan, M. E., Gelsey, M. J., Murphy, T. G. and Scholes, E. A., 1999. Phylogenetics and evolution of the aphid genus *Uroleucon* based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Systematic Entomology*, 24:85-93.
- Nalam, V., Louis, J. and Shah, J., 2019. Plant defense against aphids, the pest extraordinaire. *Plant Science*, 279, 96-107.
- Narmanlıoğlu, H.K. ve Güçlü, Ş., 2008. İspir (Erzurum) İlçesi'nde Meyve Ağaçlarında Bulunan Yaprakbiti Türleri (Homoptera: Aphididae) ve Doğal Düşmanları. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 39(2): 225-229.
- Nault, L. R., 1997. Arthropod transmission of plant viruses a new synthesis. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 90, 521-541.
- Olcabey, G., 2012. Kayseri ve Niğde illerinde *populus* spp.'de gal oluşturan pemphigus spyrothecae afit türünün ortamdan kaynaklanabilecek genetik farklılıklarının analizi. (Yüksek Lisans Tezi), Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde.
- Ölmez Bayhan, S., Ulusoy, M.R. and Bayhan E., 2006. Aphids and their predators in Malatya Region and around Turkey. *Journal of Biological Sciences*, 6(5): 954-957.
- Ölmez Bayhan, S., Ulusoy, M.R. and Toros, S., 2003. Determination of Aphididae (Homoptera) fauna of Diyarbakır province of Turkey. *Turkish Journal of Entomology*, 27(4): 253-268.
- Özdemir, I., 2020. Some New Records on Aphid (Hemiptera: Aphididae) Fauna of Turkey and Aphid Host Plant Interactions. *Journal of the Entomological Research Society*, 22(2): 191-201.
- Parmaksız Durmaz, D., 2019. Atatürk Barajı Çevresinin Afıt Faunasının Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde.
- Patwardhan, A., Ray, S. and Roy, A., 2014. Molecular markers in phylogenetics studies. *Journal of Phylogenetics & Evolution Biology*, 2(2): 131.
- Petrović, A., Mitrović, M. Ghaliow, M.E., Ivanović, A., Kavallieratos, N.G., Starý, P. and Tomanović, Ž., 2019. Resolving the taxonomic status of biocontrol agents belonging to the *Aphidius eadyi* species group (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae): an integrative approach. *Cambridge University Press*, 109: 342-355.
- Podsiadlowski, L., 2016. Phylogeny of the Aphids, *Biology and Ecology of Aphids* (Eds: Andreas Vilcinskis). CRC Press, Germany.
- Rakauskas, R., and Turčinavičienė, J., 2006. *Brachycaudus divaricatae* Shaposhnikov, 1956 in Europe: biology, morphology and distribution, with comments on its taxonomic position (Hemiptera, Sternorrhyncha: Aphididae). *Zoosystematics and Evolution*, 82(2), 248-260.
- Rakauskas, R., Bašilova, J. and Bernotienė, R., 2015. *Aphis pomi* and *Aphis spiraecola* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aphididae) in Europa – new information on their distribution, molecular and morphological peculiarities. *European Journal of Entomology*, 112(2): 270-280.

- Rakauskas, R., Havelka, J., Zaremba, A. and Bernotienė, R., 2014. Mitochondrial COI and morphological evidence for host specificity of the black cherry aphids *Myzus cerasi* (Fabricius, 1775) collected from different cherry tree species in Europe (Hemiptera, Aphididae). *ZooKeys*, 388: 1-16.
- Rebijith, K.B., Asokan, R., Kumar, N.K., Krishna, V., Chaitanya, B.N. and Ramamurthy, V.V., 2013. DNA barcoding and elucidation of cryptic aphid species (Hemiptera: Aphididae) in India. *Bulletin of Entomological Research*, 103(5): 601-10.
- Remaudière, G. and Remaudière, M., 1997. Catalogue des Aphididae du monde (of the World's Aphididae) Homoptera Aphidoidea. INRA Éditions, Techniques et Pratiques, Paris, 475 p.
- Remaudière G., Toros, S. and Özdemir, I., 2006. New contribution to the aphid fauna of Turkey (Hemiptera: Aphidoidea). *Rev. Fr. Entomol.*, 28(2): 75-96.
- Sarıbal, Ç., 2019. Bursa İli Şeftali Bahçelerinde Görülen Yaprakbiti Türleri (Homoptera: Aphididae) Üzerine Araştırmalar. (Yüksek Lisans Tezi), Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Savolainen, V., Cowan, R.S., Vogler, A.P., Roderick, G.K. and Lane, R., 2005. Towards writing the encyclopedia of life: an introduction to DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 360: 1805-1811.
- Schmidtberg, H. and Vicinskas, A., 2016. The Ontogenesis of the Pea Aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Biology and Ecology of Aphids* (Vicinskas A.). CRC Press, s.14-51.
- Sievers, F., Wilm, A., Dineen, D., Gibson, T.J., Karplus, K., Li, W., Lopez, R., McWilliam, H., Remmert, M., Söding, J., Thompson, J.D., & Higgins D.G., 2011. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Molecular Systems Biology*, 7: 539.
- Sorensen, J. T., 2009. Aphids. *Encyclopedia of Insects* (Second Edition), (Eds: Resh, V. H. and Cardé, R. T.) ELSEVIER, 27-31.
- Szelegiewicz, H., 1968. Mszyce-Aphidoidea. Catalogous faunae Poloniae. Polska Akademy Nauk, Warsaw, 316 pp.
- Şenol, Ö., 2017. Afyonkarahisar, Uşak, Kütahya ve Niğde illerinde Dağılım Gösteren *Hyalopterus* (Hemiptera: Aphidoidea: Aphididae) Cinsi Üyelerinin Morfometrik ve Genetik Varyasyonlarının Belirlenmesi. (Doktora Tezi), Ömer Halisdemir Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde.
- Şenol, Ö., Akyıldırım Beğen, H., Görür, G. and Demirtaş, E., 2015a. New additions and invasive Aphid to Turkey aphidofauna (Hemiptera: Aphidoidea). *Turk J. Zool.*, 39: 39-45.
- Şenol, Ö., Akyıldırım Beğen, H., Görür, G. and Gezici, G., 2015b. Some new aphid for the Turkish aphidofauna (Hemiptera: Aphidoidea). *Zool. Middle East*, 61(1): 90-92.

- Şenol, Ö., Akyıldırım, H., Görür, G. and Demirtaş, E., 2014. New Records for the Aphid Fauna (Hemiptera: Aphidoidea) of Turkey. ACTA ZOOLOGICA BULGARICA, 66(1): 133-136.
- Taanman, J.W., 1999. The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication. Biochim Biophys Acta, 1410(2): 103-123.
- Tamura K, Nei M., 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees, Mol Biol Evol, vol. 10, pg. 512-526)
- Thomas, K. H., 1962. Die Blattläuse des Formenkreises *Brachycaudus prunicola* (Kalt.). Wissenschaftliche Zeitschrift der Universität Rostock 11: 325-342.
- Tilmon, K. J., Hodgson, E. W., O'Neal, M. E. and Ragsdale, D. W., 2011. Biology of the Soybean Aphid, *Aphis glycines*(Hemiptera: Aphididae) in the United States. Journal of Integrated Pest Management, 2(2).
- Toros, S., Uygun, N., Ulusoy, R., Satar, S. ve Özdemir, I., 2002. Doğu Akdeniz Bölgesi Aphidoidea Türleri. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Yayınları, s.108. Ankara.
- Tuatay, N., 1988. Türkiye yaprakbitleri (Homoptera: Aphididae) I. Aphidinae: Macropsophini (I. Kısım). Bitki Koruma Bülteni, 28(1-2): 1-28.
- Tuatay, N., 1991. Türkiye yaprakbitleri (Homoptera: Aphididae) III. Aphidinae: Macropsophini (III. Kısım). Bitki Koruma Bülteni, 31(1-4): 3-18.
- Tuatay, N., 1993. Türkiye yaprakbitleri (Homoptera: Aphididae) IV. Aphidinae: Aphidini (I. Kısım). Bitki Koruma Bülteni, 33(3-4): 83-106.
- Valenzuela, I., Hoffmann, A.A., Malipatil, M.B., Ridland, P.M. and Weeks, A.R., 2007. Identification of aphid species (Hemiptera: Aphididae: Aphidinae) using a rapid polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism method based on the cytochrome oxidase subunit I gene. Austrilian Journal of Entomology, 46(4): 305-312.
- Van Emden, H.F. and Harrington, R., 2007. Aphids as crop pests, Eds. CABI, Wallingford, U.K.
- Wang, J. F., Jiang, L. Y. and Qiao, G. X., 2011. Use of mitochondrial COI sequence to identify species of subtribe Aphidina. ZooKeys 122: 1-17
- Will, T. and van Bel, A. J. E., 2006. Physical and chemical interactions between aphids and plants. Journal of Experimental Botany, 57:729-737.
- Wool, D., 2004. Gallling aphids: Specialization, biological complexity and variation. Annual Review of Entomology, 49:75-192.
- Yanar, D., Yanar, Y. ve Çankaya, M., 2018. Entomopatojen *Beauveria bassiana* Balls. (Vull.) İzolatlarının Kırmızı Gal Yaprakbiti (*Gysaphis devector* Walk.) (Hemiptera: Aphididae) Üzerine Etkisi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 35: 97-101.

Zhu, X. C., Chen, J., Chen, R., Jiang, L. Y. and Qiao, G. X., 2017. DNA barcoding and species delimitation of Chaitophorinae (Hemiptera, Aphididae). Zookeys, 656, 25–50.



7. EKLER

7.1. PZR Ürünlerinin DNA Dizileri

>1A CATAAAGATATTGGAACCTTTATACTTTTTATTTGGTATTTGATCAGGTATAATTGGATCATCCCTTAGAATTTTAATTCGTTTAGAATTAAGACAAATTAATTCAATTATTAATAATAATCAATTATACAATGTAATTGTAACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAACTATACCAATCGTTATTGGTGGATTCGGAAATTGATTAATTCCTATAATAATAGGATGTCCTGATATATCTTTTCCACGATTAAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCATCATTAAATAATAATAATTTGTAGTTTTTAATTAATAATGGAACAGGAACAGGATGAACTATTTACCCTCCTTTATCAAATAATATTGCTCACAATAATATTCAGTTGACTTAACTATTTTTCTTTACATCTAGCAGGAATTCATCAATTTTAGGAGCTATTAATTTTATTTGTACTATTTTAAATATAATACCAAATAATATAAAATTAAATCAAATTCCTCTTTTCCCATGATCAATTTAATTACAGCTATTTTATTAATTTTATCTTTACCTGTATTAGCAGGTGCTATTACAATATTATTAAGTATCGTAATTTAAATACATCATTTTTTTGATCCAGCAGGAGGAGGAGATCCAATCTTATATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGTCACCT
>1B AAGATATTGGAACCTTTATACTTTTTATTTGGTATTTGATCAGGTATAATTGGATCATCCCTTAGAATTTTAATTCGTTTAGAATTAAGACAAATTAATTCAATTATTAATAATAATCAATTATACAAATGTAATTGTAACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAACTATACCAATCGTTATTGGTGGATTCGGAAATTGATTAATTCCTATAATAATAGGATGTCCTGATATATCTTTTCCACGATTAAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCATCATTAAATAATAATAATTTGTAGTTTTTTAATTAATAATGGAACAGGAACAGGATGAACTATTTACCCTCCTTTATCAAATAATATTGCTCAACAATAATATTCAGTTGACTTAACTATTTTTCTTTACATCTAGCAGGAATTCATCAATTTTAGGAGCTATTAATTTTATTTGTACTATTTTAAATATAATACCAAATAATATAAAATTAAATCAAATTCCTCTTTTCCCATGATCAATTTAATTACAGCTATTTTATTAATTTTATCTTTACCTGTATTAGCAGGTGCTATTACAATATTATTAAGTATCGTAATTTAAATACATCATTTTTTTGATCCAGCAGGAGGAGGAGATCCAATCTTATATCAACATTTATTTTGATTTTTT
>2A ATAAAGATATTGGAACCTTTATACTTTTTATTTGGTATTTGATCAGGTATAATTGGATCATCCCTTAGAATTTTAATTCGTTTAGAATTAAGACAAATTAATTCAATTATTAATAATAATCAATTATACAATGTAATTGTAACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAACTATACCAATCGTTATTGGTGGATTCGGAAATTGATTAATTCCTATAATAATAGGATGTCCTGATATATCTTTTCCACGATTAAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCATCATTAAATAATAATAATTTGTAGTTTTTTAATTAATAATGGAACAGGAACAGGATGAACTATTTACCCTCCTTTATCAAATAATATTGCTCACAATAATATTCAGTTGACTTAACTATTTTTCTTTACATCTAGCAGGAATTCATCAATTTTAGGAGCTATTAATTTTATTTGTACTATTTTAAATATAATACCAAATAATATAAAATTAAATCAAATTCCTCTTTTCCCATGATCAATTTAATTACAGCTATTTTATTAATTTTATCTTTACCTGTATTAGCAGGTGCTATTACAATATTATTAAGTATCGTAATTTAAATACATCATTTTTTTGATCCAGCAGGAGGAGGAGATCCAATCTTATATCAACATTTATTTTGATTTTTT

>2B

ATAAAGATATTGGAACCTTTATACTTTTTATTTGGTATTTGATCAGGTATAAATTGGATCATCCC
TTAGAATTTTAATTCGTTTAGAATTAAGACAAATTAATTCAATTATTAATAATAATCAATTAT
ACAATGTAATTGTAACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTTATAACTATACCAATCGTTA
TTGGTGGATTTCGGAAATTGATTAATTCCTATAATAATAGGATGTCCTGATATATCTTTTCCAC
GATTAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCATCATTAATAATAATAAATTGTAGTTTTT
TAATTAATAATGGAACAGGAACAGGATGAACTATTTACCCTCCTTTATCAAATAATATTGCT
CACAATAATATTTTCAGTTGACTTAACTATTTTTCTTTACATCTAGCAGGAATTCATCAATT
TTAGGAGCTATTAATTTTATTTGTACTATTTTAAATATAATACCAAATAATATAAAATTAAT
CAAATTCCTCTTTTCCCATGATCAATTTTAATTACAGCTATTTTATTAATTTTATCTTTACCTG
TATTAGCAGGTGCTATTACAATATTATTAAGTATCGTAATTTAAATACATCATTTTTTTGATC
CAGCAGGAGGAGGAGATCCAATCTTATATCAACATTTATTTTGATTTTTTG

>3A

ATAAAGATATTGGAACCTTTATACTTTTTATTTGGTATTTGATCAGGTATAAATTGGATCATCCC
TTAGAATTTTAATTCGTTTAGAATTAAGACAAATTAATTCAATTATTAATAATAATCAATTAT
ACAATGTAATTGTAACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTTATAACTATACCAATCGTTA
TTGGTGGATTTCGGAAATTGATTAATTCCTATAATAATAGGATGTCCTGATATATCTTTTCCAC
GATTAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCATCATTAATAATAATAAATTGTAGTTTTT
TAATTAATAATGGAACAGGAACAGGATGAACTATTTACCCTCCTTTATCAAATAATATTGCT
CACAATAATATTTTCAGTTGACTTAACTATTTTTCTTTACATCTAGCAGGAATTCATCAATT
TTAGGAGCTATTAATTTTATTTGTACTATTTTAAATATAATACCAAATAATATAAAATTAAT
CAAATTCCTCTTTTCCCATGATCAATTTTAATTACAGCTATTTTATTAATTTTATCTTTACCTG
TATTAGCAGGTGCTATTACAATATTATTAAGTATCGTAATTTAAATACATCATTTTTTTGATC
CAGCAGGAGGAGGAGATCCAATCTTATATCAACATTTATTTTGATTTTTTG

>3B

ATAAAGATATTGGAACCTTTATACTTTTTATTTGGTATTTGATCAGGTATAAATTGGATCATCCC
TTAGAATTTTAATTCGTTTAGAATTAAGACAAATTAATTCAATTATTAATAATAATCAATTAT
ACAATGTAATTGTAACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTTATAACTATACCAATCGTTA
TTGGTGGATTTCGGAAATTGATTAATTCCTATAATAATAGGATGTCCTGATATATCTTTTCCAC
GATTAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCATCATTAATAATAATAAATTGTAGTTTTT
TAATTAATAATGGAACAGGAACAGGATGAACTATTTACCCTCCTTTATCAAATAATATTGCT
CACAATAATATTTTCAGTTGACTTAACTATTTTTCTTTACATCTAGCAGGAATTCATCAATT
TTAGGAGCTATTAATTTTATTTGTACTATTTTAAATATAATACCAAATAATATAAAATTAAT
CAAATTCCTCTTTTCCCATGATCAATTTTAATTACAGCTATTTTATTAATTTTATCTTTACCTG
TATTAGCAGGTGCTATTACAATATTATTAAGTATCGTAATTTAAATACATCATTTTTTTGATC
CAGCAGGAGGAGGAGATCCAATCTTATATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGTCACCC

>4A

ATAAAGATATTGGAACCTTTATACTTTTTATTTGGTATTTGATCAGGTATAAATTGGATCATCCC
TTAGAATTTTAATTCGTTTAGAATTAAGACAAATTAATTCAATTATTAATAATAATCAATTAT
ACAATGTAATTGTAACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTTATAACTATACCAATCGTTA
TTGGTGGATTTCGGAAATTGATTAATTCCTATAATAATAGGATGTCCTGATATATCTTTTCCAC
GATTAAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCATCATTAATAATAATAAATTTGTAGTTTTT
TAATTAATAATGGAACAGGAACAGGATGAACTATTTACCCTCCTTTATCAAATAATATTGCT
CACAATAATATTTTCAGTTGACTTAACTATTTTTTCTTTACATCTAGCAGGAATTCATCAATT
TTAGGAGCTATTAATTTTATTTGTACTATTTTAAATATAATACCAAATAATATAAAATTAAT
CAAATTCCTCTTTTCCCATGATCAATTTTAATTACAGCTATTTTATTAATTTTATCTTTACCTG
TATTAGCAGGTGCTATTACAATATTATTAAGTATCGTAATTTAAATACATCATTTTTTTGATC
CAGCAGGAGGAGGAGATCCAATCTTATATCAACATTTATTTTGATTTTTTGT

>4B

ATAAAGATATTGGAACCTTTATACTTTTTATTTGGTATTTGATCAGGTATAAATTGGATCATCCC
TTAGAATTTTAATTCGTTTAGAATTAAGACAAATTAATTCAATTATTAATAATAATCAATTAT
ACAATGTAATTGTAACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTTATAACTATACCAATCGTTA
TTGGTGGATTTCGGAAATTGATTAATTCCTATAATAATAGGATGTCCTGATATATCTTTTCCAC
GATTAAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCATCATTAATAATAATAAATTTGTAGTTTTT
TAATTAATAATGGAACAGGAACAGGATGAACTATTTACCCTCCTTTATCAAATAATATTGCT
CACAATAATATTTTCAGTTGACTTAACTATTTTTTCTTTACATCTAGCAGGAATTCATCAATT
TTAGGAGCTATTAATTTTATTTGTACTATTTTAAATATAATACCAAATAATATAAAATTAAT
CAAATTCCTCTTTTCCCATGATCAATTTTAATTACAGCTATTTTATTAATTTTATCTTTACCTG
TATTAGCAGGTGCTATTACAATATTATTAAGTATCGTAATTTAAATACATCATTTTTTTGATC
CAGCAGGAGGAGGAGATCCAATCTTATATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGT

>5A

TGGTCAACAAAATCATAAAGATATTGGAACCTTTATACTTTTTATTTGGTATTTGATCAGGTAT
AATTGGATCATCCCTTAGAATTTTAATTCGTTTAGAATTAAGACAAATTAATTCAATTATTA
ATAATAATCAATTATACAATGTAATTGTAACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTTATAA
CTATACCAATCGTTATTGGTGGATTTCGGAAATTGATTAATTCCTATAATAATAGGATGTCCT
GATATATCTTTTCCACGATTAAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCATCATTAATAATA
ATAATTTGTAGTTTTTTAATTAATAATGGAACAGGAACAGGATGAACTATTTACCCTCCTTT
ATCAAATAATATTGCTCACAATAATATTTTCAGTTGACTTAACTATTTTTTCTTTACATCTAGC
AGGAATTTTCATCAATTTTAGGAGCTATTAATTTTATTTGTACTATTTTAAATATAATACCAA
TAATATAAAATTAATCAAATTCCTCTTTTCCCATGATCAATTTTAATTACAGCTATTTTATT
AATTTTATCTTTACCTGTATTAGCAGGTGCTATTACAATATTATTAAGTATCGTAATTTAAA
TACATCATTTTTTTGATCCAGCAGGAGGAGGAGATCCAATCTTATATCAACATTTATTTTGATT
TTTTGGTCACCCTGGAAGTTTAA

>5B

AAAAGATATTGGAAC TTTATACTTTTTATTTGGTATTTGATCAGGTATAAATTGGATCATCCCT
TAGAATTTTAATTCGTTTAGAATTAAGACAAATTAATTCAATTATTAATAATAATCAATTAT
ACAATGTAATTGTAACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAACTATACCAATCGTTA
TTGGTGGATTTCGGAAATTGATTAATTCCTATAATAATAGGATGTCCTGATATATCTTTTCCAC
GATTAAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCATCATTAATAATAATAAATTTGTAGTTTTT
TAATTAATAATGGAACAGGAACAGGATGAACTATTTACCCTCCTTTATCAAATAATATTGCT
CACAATAATATTTTCAGTTGACTTAACTATTTTTTCTTTACATCTAGCAGGAATTTTCATCAATT
TTAGGAGCTATTAATTTTATTTGTACTATTTTAAATATAATACCAAATAATATAAAATTAAT
CAAATTCCTCTTTTCCCATGATCAATTTTAATTACAGCTATTTTATTAATTTTATCTTTACCTG
TATTAGCAGGTGCTATTACAATATTATTAAGTATCGTAATTTAAATACATCATTTTTTTGATC
CAGCAGGAGGAGGAGATCCAATCTTATATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGCC

>6A

AAAGATATTGGAAC TTTATACTTTTTATTTGGTATTTGATCAGGTATAAATTGGATCATCCCTT
AGAATTTTAATTCGTTTAGAATTAAGACAAATTAATTCAATTATTAATAATAATCAATTATA
CAATGTAATTGTAACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAACTATACCAATCGTTAT
TGGTGGATTTCGGAAATTGATTAATTCCTATAATAATAGGATGTCCTGATATATCTTTTCCAC
GATTAAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCATCATTAATAATAATAAATTTGTAGTTTTT
TAATTAATAATGGAACAGGAACAGGATGAACTATTTACCCTCCTTTATCAAATAATATTGCT
CACAATAATATTTTCAGTTGACTTAACTATTTTTTCTTTACATCTAGCAGGAATTTTCATCAATT
TTAGGAGCTATTAATTTTATTTGTACTATTTTAAATATAATACCAAATAATATAAAATTAAT
CAAATTCCTCTTTTCCCATGATCAATTTTAATTACAGCTATTTTATTAATTTTATCTTTACCTG
TATTAGCAGGTGCTATTACAATATTATTAAGTATCGTAATTTAAATACATCATTTTTTTGATC
CAGCAGGAGGAGGAGATCCAATCTTATATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGCC

>6C

ATAAAGATATTGGAAC TTTATACTTTTTATTTGGTATTTGATCAGGTATAAATTGGATCATCCC
TTAGAATTTTAATTCGTTTAGAATTAAGACAAATTAATTCAATTATTAATAATAATCAATTAT
ACAATGTAATTGTAACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAACTATACCAATCGTTA
TTGGTGGATTTCGGAAATTGATTAATTCCTATAATAATAGGATGTCCTGATATATCTTTTCCAC
GATTAAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCATCATTAATAATAATAAATTTGTAGTTTTT
TAATTAATAATGGAACAGGAACAGGATGAACTATTTACCCTCCTTTATCAAATAATATTGCT
CACAATAATATTTTCAGTTGACTTAACTATTTTTTCTTTACATCTAGCAGGAATTTTCATCAATT
TTAGGAGCTATTAATTTTATTTGTACTATTTTAAATATAATACCAAATAATATAAAATTAAT
CAAATTCCTCTTTTCCCATGATCAATTTTAATTACAGCTATTTTATTAATTTTATCTTTACCTG
TATTAGCAGGTGCTATTACAATATTATTAAGTATCGTAATTTAAATACATCATTTTTTTGATC
CAGCAGGAGGAGGAGATCCAATCTTATATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGTCAC

>7A

ATAAAGATATTGGAAC TTTATACTTTTTATTTGGTATTTGATCAGGTATAATTGGATCATCCC
TTAGAATTTTAATTCGTTT TAGAATTAAGACAAATTAATTCAATTATTAATAATAATCAATTAT
ACAATGTAATTGTAACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTTATAACTATACCAATCGTTA
TTGGTGGATTTCGGAAATTGATTAATTCCTATAATAATAGGATGTCCTGATATATCTTTTCCAC
GATTAAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCATCATTAATAATAATAAATTTGTAGTTTTT
TAATTAATAATGGAACAGGAACAGGATGAACTATTTACCCTCCTTTATCAAATAATATTGCT
CACAATAATATTTTCAGTTGACTTAACTATTTTTTCTTTACATCTAGCAGGAATTTTCATCAATT
TTAGGAGCTATTAATTTTATTTGTACTATTTTAAATATAATACCAAATAATATAAAATTAAT
CAAATTCCTCTTTTCCCATGATCAATTTTAATTACAGCTATTTTATTAATTTTATCTTTACCTG
TATTAGCAGGTGCTATTACAATATTATTAAGTATCGTAATTTAAATACATCATTTTTTTGATC
CAGCAGGAGGAGGAGATCCAATCTTATATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGTCAC

>8A

ATAAAGATATTGGAAC TTTATACTTTTTATTTGGTATTTGATCAGGTATAATTGGATCATCCC
TTAGAATTTTAATTCGTTT TAGAATTAAGACAAATTAATTCAATTATTAATAATAATCAATTAT
ACAATGTAATTGTAACAATTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTTATAACTATACCAATCGTTA
TTGGTGGATTTCGGAAATTGATTAATTCCTATAATAATAGGATGTCCTGATATATCTTTTCCAC
GATTAAATAATATTAGATTTTGATTATTACCACCATCATTAATAATAATAAATTTGTAGTTTTT
TAATTAATAATGGAACAGGAACAGGATGAACTATTTACCCTCCTTTATCAAATAATATTGCT
CACAATAATATTTTCAGTTGACTTAACTATTTTTTCTTTACATCTAGCAGGAATTTTCATCAATT
TTAGGAGCTATTAATTTTATTTGTACTATTTTAAATATAATACCAAATAATATAAAATTAAT
CAAATTCCTCTTTTCCCATGATCAATTTTAATTACAGCTATTTTATTAATTTTATCTTTACCTG
TATTAGCAGGTGCTATTACAATATTATTAAGTATCGTAATTTAAATACATCATTTTTTTGATC
CAGCAGGAGGAGGAGATCCAATCTTATATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGCC