

## Türkiye’de Testereli Böcek (*Oryzaephilus surinamensis* L. Coleoptera, Silvanidae) Popülasyonlarında Endosimbiyont Bakterilerin Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi

Erhan KOÇAK<sup>1\*</sup> Şevki ERTÜRK

<sup>1</sup>Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Isparta

\*Sorumlu yazar: [erhankocak@isparta.edu.tr](mailto:erhankocak@isparta.edu.tr)

Geliş tarihi: 20.11.2018, Yayına kabul tarihi: 21.07.2019

**Özet:** Böcek mikrobiyal florasının en önemli üyelerini bakteriler oluşturmakta ve bu mikroorganizmalar böcekler için uygun gıda oluşturmak, besin sindirimine yardımcı olmak, faydalı enzimler üretmek, vitamin sentezlemek, azot bağlamak, feromon üretmek ve böcek patojenleri ile rekabet etmek suretiyle böceklerin yaşamına önemli katkılar sağlamaktadırlar. Ancak bütün bu yararlı etkilerine rağmen böcekleri öldüren, hastalandıran, pasifize ve kontrol eden bakteriler de bulunmaktadır. Çalışma kapsamında ülkemizde bulunan farklı hububat depolarından *Oryzaephilus surinamensis* L. popülasyonu toplanmıştır. Söz konusu böcek türünde ülkemizde ilk kez *Wolbachia* sp., dünyada ilk kez *Rickettsia* sp. ve *Spiroplasma* sp. endosimbiyont bakterileri, sentetik primerler ve PCR metodu uygulanarak yoğunlukları belirlenmiştir. Buna göre; Türkiye genelinde %49 oranında bir bulaşma yoğunluğu olduğu; Bu oranın ise %28’i *Wolbachia* sp., %14’ü *Rickettsia* sp. ve %7’sinin *Spiroplasma* sp.’ye ait olduğu saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Oryzaephilus surinamensis*, *Wolbachia*, *Rickettsia*, *Spiroplasma*, Endosimbiyont Bakteri.

### Determination of Endosymbiont Bacteria With Molecular Methods in Sawtoothed Grain Beetle (*Oryzaephilus surinamensis* L. Coleoptera, Silvanidae) Populations in Turkey

**Abstract:** Bacteria constitute the most important members of the insect microbial flora and these microorganisms provide important contributions to the life of insects by creating suitable food for insects, helping food digestion, producing useful enzymes, synthesizing vitamins, nitrogen binding, producing pheromones and competing with insect pathogens. Despite all these beneficial effects, however, there are bacteria that kill, sick, inactivate and control insects. In this study, *Oryzaephilus surinamensis* L. population was collected from different cereal stores in Turkey. For the first time in our country in this type of insect, *Wolbachia* sp., for the first time in the world *Rickettsia* sp. and *Spiroplasma* sp. endosymbiont bacteria, synthetic primers and PCR method was determined by applying the density. According to this; In Turkey, which is a transmission intensity by 49%; It was found that 28% of these were *Wolbachia* sp., 14% of *Rickettsia* sp. and 7% of *Spiroplasma* sp.

**Keywords:** *Oryzaephilus surinamensis*, *Wolbachia*, *Rickettsia*, *Spiroplasma*, Endosymbiont Bacteria.

#### Giriş

Dünya üzerinde genel olarak depolanmış hububatlardaki böcek zararı, modern depolama tekniklerinin kullanılmadığı ülkelerde %10-40 civarındadır (Güz ve ark., 2015). Birim

alandan elde edilen ürün miktarının artırılması birinci derecede önemli olmakla birlikte; üretimden tüketime kadar ürünün uygun bir şekilde korunması da büyük önem taşımaktadır. Testereli böcekler (*Oryzaephilus surinamensis* L.); Hasar görmemiş

tohumlarla beslenemezler (sekonder zararlıdır). Zararlı olduğu ürünler depolanmış hububatlar, pirinç, un ve ürünleri, kurutulmuş meyve, tütün ve sebzelerdir. Depolanmış ürün zararlıları gömlek kalıntıları, pislikleri ve salgıladıkları ağ maddeleri nedeniyle, üründe nitelik kayıplarına neden olurlar. Ayrıca yoğun bulaşmalarda depoda ısının yükselmesine, ürünün küflenmesine, kızılaşmasına ve kokuşmasına neden olurlar (Zawalska ve ark., 2016). Düzenli olarak zararlıya karşı kimyasal mücadele yapılmaz ise depolanmış hububatta önemli düzeyde kalite ve kantite kaybına neden olurlar (Güz ve ark., 2015).

Böcek mikrobiyal florasının en önemli üyelerini bakteriler oluşturmaktadır. Bu mikroorganizmalar böcekler için uygun gıda oluşturma, besin sindirimine yardımcı olmak, faydalı enzimler üretmek, vitaminleri sentezlemek, azotu bağlama, feromonları üretmek ve böcek patojenleri ile rekabet etmek suretiyle böceklerin yaşamına önemli katkılar sağlamaktadırlar. Ancak bütün bu yararlı etkilerine rağmen böcekleri öldüren, hastalandıran, pasifize ve kontrol eden bakteriler de bulunmaktadır (Stouthamer ve ark., 1999).

Mikroorganizmaların tanı ve karakterizasyonunun yapılması için karbonhidratlar, lipitler, proteinler ve genetik materyaller (DNA ve RNA) çalışma materyali olarak kullanılmakta ve bunlardan birinin veya kombinasyonlarının kullanımı ile tanı ve karakterizasyon yapılmaktadır. Depolanmış ürün zararlıları türler ile yapılan, endosimbiyotik bakteri analizleri incelendiğinde ise yaygın olarak *Wolbachia*, *Rickettsia* ve *Spiroplasma* bakterilerinin tanısı yapılmıştır (Gündüz ve Douglas, 2009).

*Wolbachia* arthropodların %80'ine yakın bir kısmında sitoplazmik uyumsuzluk, erkek bireylerin ölümü,

dişileşme (feminizasyon) ve partenogenik bireylerde telytokinin artışı gibi bir takım üreme değişimlerine yol açmaktadır (Breeuwer ve ark., 1992; Stouthamer ve ark., 1999). *Wolbachia*'nın saptandığı böcek takımları Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Hemiptera, Lepidoptera ve Orthoptera olarak belirtilmiştir (Dedeine ve ark., 2001).

*Rickettsia* üzerine son yıllarda yapılan çalışmalar çok farklı böcek türlerinde bulunduğunu doğrulamaktadır. Araştırmacılar *Rickettsia* ile enfekteli olan ve olmayan *Bemisia tabaci* Genn. örneklerini karşılaştırdıklarında enfekteli olanların iki kat daha fazla ürediğini ve popülasyonda dişi birey oranının arttığını ayrıca bu yavruların daha çabuk geliştiğini bildirmişlerdir (Himler ve ark., 2011).

*Spiroplasma* hücre duvarı olmayan heliks veya spiral şekilli hücrelerden ibarettir. Sarmal yapıda hareketli ve gram-pozitif bir bakteri türüdür. *Spiroplasma* endoselüler ve ekstraselüler olarak çeşitli böcek türleri ile etkileşime girer. Böceklerin bağırsağında veya hemolimfide bulunurlar. Genelde *Drosophila* spp.'de görülürler. Ancak *Wolbachia* gibi çeşitli konukçu değiştirme mekanizmalarına sahiptir.

*Spiroplasma*, böceklerde anneden yavruya dikey geçiş gösterir. Araştırmacılar *Drosophila melanogaster* ile *Spiroplasma*'nın ikili ilişkisini incelemiştir. *Spiroplasma* ile enfekteli böceklerde cinsiyet genlerini etkileyerek popülasyonda sadece dişi birey oluşumuna (feminizasyon) neden olduğunu belirtmişlerdir (Martin ve ark., 2013). *Wolbachia*, *Rickettsia* ve *Spiroplasma*'nın bu özellikleri kullanılarak zararlı böcek popülasyonları kontrol altına alınabilir (Alexeeva ve ark., 2006).

Son yıllarda böcek vücudunun mikroflorası, özellikle de bağırsak

mikroflorası üzerinde yapılan araştırmalar yoğunluk kazanmıştır. Bunun temelinde iki sebebi olduğu görülmektedir:

A) Büyük bir çeşitlilik gösteren bu mikroflora, antibakteriyel, antifungal, antimalariyal, antitümöral ve antiviral peptidler gibi yeni ve çok kıymetli biyoaktif bileşiklerin üretimi için çok iyi bir kaynak olabilir.

B) Bu mikrofloranın böcek patojeni olanları zararlı böceklerin biyolojik kontrolünde kullanılabilir (Dillon ve ark., 1997).

Son 10 yılda endosimbiont bakterilerin konukçularında meydana getirdikleri yaşamsal olayların açığa çıkarılmasıyla birlikte bu bakterilerin tanı ve karakterizasyon çalışmalarında artış meydana gelmiştir. Özellikle sekonder simbiyont olan bakterilerin bu önemli özelliklerinden faydalanarak yeni, çevreye duyarlı ve daha etkili zararlı böcek mücadelesi yapılabilir. Ancak öncelikle ülkemizde bulunan zararlı böcek türlerinin, nasıl bir endosimbiont bakteri kompozisyonuna sahip olduğu belirlendikten sonra; bu bakteri türlerinin özellikleri göz önünde bulundurularak, yapılacak deneyler yeni bir mücadele stratejisini mümkün kılabilir.

Konu ile ilgili literatür taramaları incelendiğinde özetle üç noktaya vurgu yaptıkları görülmektedir. Bunlar;

A) Yapılan çalışmalarda aynı tür böceğin farklı bölge ve/veya ülke popülasyonlarında, endosimbiont kompozisyonu ciddi oranda farklılaşmaktadır.

B) Endosimbiont bakteriler böceklerin yaşamsal birçok faaliyetinde olumlu ve/veya olumsuz olarak doğrudan rol oynamaktadırlar.

C) Bu bakterilerin özellikleri dikkate alınarak çok daha etkin bir zararlı böcek mücadelesi geliştirilebilir.

## Materyal ve Yöntem

Ülkemizde Akdeniz, Ege, Marmara ve İç Anadolu Bölgeleri'nden Adana, Ankara, Burdur, Bursa, İstanbul, İzmir, Konya ve Manisa illerinde bulunan 10 farklı hububat deposundan *O. surinamensis* popülasyonlarından örnekler toplanmış ve uygun besin ortamı ve koşullar sağlanarak laboratuvara getirilmişlerdir. Her popülasyondan altı adet ergin birey rastgele seçilerek -80°C'de derin dondurucuda DNA'ları zarar görmeyecek şekilde toplam 60 birey muhafazaya alınmıştır. Toplam 60 bireyin DNA ekstraksiyonları Roche marka ticari kit protokolüne uyularak yapılmıştır (Schröder ve ark., 2011).

### DNA ekstraksiyon protokolü

A) 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne bir adet böcek örneği atılmıştır. İçerisine 200µl Tissue Lysis Buffer eklenmiştir. Ardından 40µl Proteinaz K ekleyip vakit kaybetmeden vortekslenmiştir.

B) Böcek örnekleri 1 saat 55°C'de su banyosunda inkübe edilmiştir.

C) İnkübasyondan sonra 200µl Binding Buffer eklenerek vorteks de karıştırılmıştır.

D) 10 dk 70°C'de su banyosunda inkübe edilmiştir.

E) 100µl İzopropanol eklenerek vakit kaybetmeden vorteks de karıştırılmıştır.

F) Hazırlanan karışımı mikropipet yardımıyla altında toplama tüpü bulunan filtre tüpe transfer edilmiştir.

G) İç içe geçmiş olan bu tüpleri mikrosantrifüj cihazında 1 dk 8000g'de santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sonrası altta bulunan toplama tüpü atılmıştır.

H) Filtre tüpü yeni bir toplama tüpünün içine yerleştirilmiştir. Filtre tüpün içine 500µl İnhibitör Removal Buffer ekleyip 1 dk 8000g'de santrifüj yapılmıştır.

I) Santrifüj sonrası toplama tüpünü atılmıştır. Filtre tüpü yeni bir toplama tüpüne yerleştirip, içerisine 500µl Wash Buffer eklenmiştir. Ardından 1 dk 8000g'de santrifüj yapılmıştır.

J) Santrifüj sonrası toplama tüpü atıldı. Filtre tüpünü yeni bir toplama tüpüne yerleştirip, içerisine 500µl Wash Buffer eklenmiştir. Ardından 1 dk 8000g'de santrifüj yapılmıştır.

K) Toplama tüpünün içinde bulunan sıvı akışkanı atıp aynı tüpü tekrar kullanarak 10 sn son hızda santrifüj yapılmıştır. Burada amaç yıkama bufferının kalıntısını uzaklaştırmaktır.

L) Filtre tüpünü temiz steril bir 1.5ml'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilmiştir. Filtre tüpüne 100µl önceden ısıtılmış olan Elution Buffer ekleyip, 1 dk 8000g'de santrifüj yapılmıştır.

M) Mikrosantrifüj tüpde artık saf DNA bulunmaktadır. Kısa süreli muhafaza edilecek ise +4°C'de, uzun süreli muhafaza edilecek ise -20°C'de muhafaza edilmiştir.

DNA'nın kalitesi için A (260 /280) değerine bakılmaktadır. Saf bir DNA' da A (260 /280) oranı 1.80 ile 2.00 arasında olmalıdır. Çünkü 1.8'in altında elde edilen A (260 /280) değeri protein kontaminasyonunu, 2'nin üzerinde elde edilen A (260/280) değeri de RNA kontaminasyonunu işaret etmektedir. Ekstraksiyondan sonra elde edilen DNA'lar kalite ve miktar analizine (Nanodrop) tabii tutulmuş ve yaklaşık olarak 1.7-1.9 arasında değerler belirlenmiştir.

### Kademeli sıcaklık düşürme PCR (touchdown PCR) protokolü

Bu teknik, standart PCR çalışmalarına çok benzemektedir. Bu PCR'da farklı olarak primer sıcaklıkları ilk önce çok yüksek tutularak primerlerin spesifik

şekilde hedef diziye bağlanması amaçlanmaktadır. Primerin bağlanma sıcaklığı ilk önce 60°C tutulmakta ve her döngüde 1°C azaltılarak (10 döngü) 50°C'ye kadar düşürülmektedir. 50°C'den sonra ise derece standard olan 55°C'ye gerilip 25 döngü yapılarak PCR tamamlanmaktadır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Touchdown PCR analizi için cihaz ayarlaması

Table 1. Device setup for touchdown PCR analysis

Touchdown PCR Analizi
Initial Denaturation: 94°C 3dk
Denaturation 94°C 1dk
Annealing 60°C 1dk (11x: -1°C) (60°C---50°C)
Extension 72°C 1 dk
11x
Denaturation 94°C 1dk
Annealing 55°C 1dk
Extension 72°C 1 dk
25x
Final Extension 72°C 10 dk
4°C ∞

Bu PCR tekniği, DNA dizileri üzerindeki belirli bir bölgenin spesifik olarak tespit edilmesinde kullanılmaktadır (Don ve ark., 1991).

Literatür taraması sonucunda en yaygın görülen *Wolbachia*, *Rickettsia* ve *Spiroplasma* endosimbiyont bakterilerin primer dizileri incelenip uygun olan primerler HPLC saflıkta sentezletirilmiştir (Çizelge 2).

HPLC saflıkta kurutulmuş olarak gönderilen primerler 100µM stok haline getirilmek için belirtilen miktarda (508-675µL) nuclease-free water ile çözdürülmüştür. Çözdürülen primerler -20°C'de muhafaza edilmiştir. PCR uygulaması için QIAGEN marka ticari kit'in malzemeleri ve protokolü kullanılmıştır (Çizelge 3).

Çizelge 2. *Wolbachia*, *Rickettsia* ve *Spiroplasma*'nın primer bilgileri  
Table 2. *Wolbachia*, *Rickettsia* and *Spiroplasma* primer information

1) 25µl Taq PCR Master Mix (2.5 units Taq DNA Polymerase, 1x PCR Buffer, 200µM dNTP, 1,5mM MgCl <sub>2</sub> )
2) 5µl 10x Primer Mix (2µM of each primer) (2,5µl F- 2,5µl R)
3) 15µl RNase-free water
4) 5µl Template DNA
Son hacim; 50µl

Çizelge 3. PCR örneklerinin hazırlanması  
Table 3. Preparation of PCR samples

Bakteri suşları	Primerler
<i>Wolbachia</i> F	5'TGGTCCAATAAGTGA AGAAACTAGCTA-3'
<i>Wolbachia</i> R	5'- AAAAATTAAACGCTACT CCAGCTTCTGCAC-3'
<i>Rickettsia</i> F	5'- AGAGTTTGATCATGGCT CAG-3'
<i>Rickettsia</i> R	5'- CATCCATCAGCGATAAA TCTTTC-3'
<i>Spiroplasma</i> F	5'- GCGCAGACGGTTTAAC AAG-3'
<i>Spiroplasma</i> R	5'- TCCGCCACTGGTGTTC TC-3'

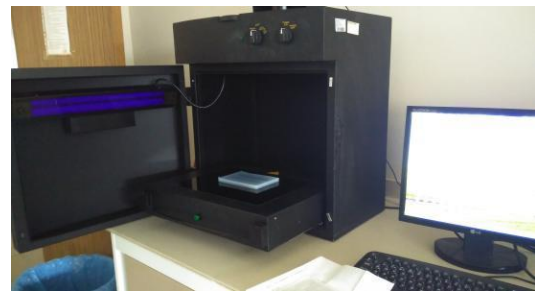
PCR işleminden sonra örneklerin bulunduğu her PCR tüpüne 5µl 6x bromophenol blue (Yürütme Boyası) eklenmiştir. Mikropipetler ile karışması sağlanmıştır.

### Jel elektroforez protokolü

10x TBE tamponu hazırlanışı; Tris 54 gr, Borik asit 27.5 gr, EDTA 7.5 gr. Tartılan kimyasalları deiyonize saf suda çözdürülmüş ve pH 8.3'e ayarlanmış olup, son hacmi 1 litreye tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Agaroz jel (%2) hazırlanışı; 20ml TBE+180ml saf su eklenmiştir. 4.8 gr Agaroz eklenmiştir. Çözündükten 5 dk sonra 10µl Ethidium Bromür ekleyip, karıştırılmıştır. Ethidium Bromürü eklendikten 5 dk sonra ise tarağı takılı ve etrafı kapatılmış olan Jel tankına kabarcık oluşturmadan yavaş bir şekilde dökülmüştür. Jel tankın içinde donana kadar 10dk beklenilmiştir.

Jel tamamen donduktan sonra önce tarak çıkartılmıştır. Ardından jel tankının etrafını saran bantlar çıkartılıp jel tank ile birlikte elektroforez cihazına yerleştirilmiştir. 70ml TBE + 630ml Saf su eklenmiş olan jel suyu elektroforez cihazında jelin üstünü kaplayacak seviyeye gelinceye kadar yavaşca ilave edilmiştir. PCR'dan çıkan örneklerin son hacmi 50µl'dir. 5µl Bromophenol Blue her tüpe eklenmiştir ve son hacim 55µl olmuştur. Sağ ve sol uçlarda bulunan 2 kuyucuğa 2µl markör yüklemesi yapılmıştır. Arada kalan 18 kuyucuğun her birine 55µl PCR ürünü yüklenmiştir. 90 Volt, 150mA'de 90 dk boyunca Jel elektroforezi cihazında koşturma işlemi gerçekleştirilmiştir. Jel elektroforezi biten popülasyonlar UV kabin kullanılarak görüntülenmiştir.



Şekil 1: Sonuçların görüntülediği UV kabin

Figure 1: UV unite

### Bulgular

Elde edilen verilere göre, 60 örneğin 28'inde üç endosimbionttan en az bir tanesi belirlenmiştir.

Çizelge 4. Araştırma alanındaki illere göre bulunan endosimbiont bakteriler ve sayıları

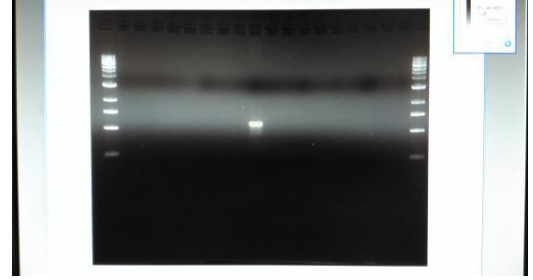
Table 4. The numbers of endosymbiont bacteria found in the research area by province

İLLER	<i>Wolbachia</i> sp.	<i>Rickettsia</i> sp.	<i>Spiroplasma</i> sp.
Adana (6 Ergin)	1	-	-
Ankara (6 Ergin)	1	-	-
Burdur1 (6 Ergin)	5	3	2
Burdur2 (6 Ergin)	1	1	1
Bursa (6 Ergin)	2	-	-
İstanbul (6 Ergin)	-	1	-
İzmir (6 Ergin)	1	-	-
Konya 1 (6 Ergin)	2	2	1
Konya 2 (6 Ergin)	3	-	-
Manisa (6 Ergin)	-	1	-
<b>60</b>	<b>16</b>	<b>8</b>	<b>4</b>

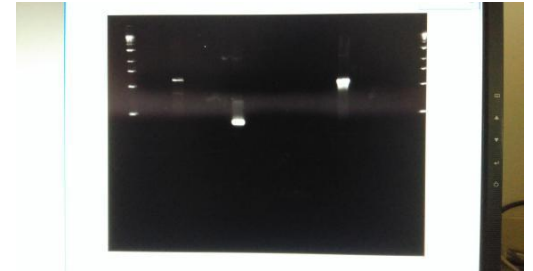
Türkiye genelinde bu üç endosimbiont bakteri türünün %49 oranında bir bulaşma yoğunluğu gözlemlenmiş olup bu oranın %28'i *Wolbachia*, %14'ü *Rickettsia* ve %7'sinin *Spiroplasma* tarafından gerçekleştirildiği belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışma, farklı popülasyonlarda çok ciddi bir bulaşma farkı olduğunu da ortaya koymuştur. Örneğin; düşük düzeyde, orta düzeyde ve yüksek düzeyde bulaşma oranı gösteren popülasyonlar belirlenmiştir. Burdur 1 ve Konya 1 popülasyonları en yüksek bulaşma gösteren hububat depolarıdır. Bu iki siloda endosimbiont bakterilerin

elemine edilmesi üzerine çalışmalar yürütülebilir.

Çalışma kapsamında Türkiye'nin farklı lokasyonlarında bulunan böcek örnekleri kullanılmıştır. Bölgeler arası önemli düzeyde farklı bulaşma oranları belirlenmiştir. Bu durum literatürdeki diğer endosimbiont bakteri teşhis çalışmaları ile benzer bir sonuç tablosudur.



Şekil 2: Bir popülasyonda üç farklı bakteri analizi ve elde edilen düşük düzeyde bulaşma görüntüsü



Şekil 3: Bir popülasyonda üç farklı bakteri analizi ve elde edilen orta düzeyde bulaşma görüntüsü



Şekil 4: Bir popülasyonda üç farklı bakteri analizi ve elde edilen yüksek düzeyde bulaşma görüntüsü

## Tartışma ve Sonuç

*O. surinamensis* ile *Wolbachia* sp. arasındaki etkileşim neredeyse 50 yıl önce belirlenmiştir. Ayrıca farklı coğrafyalarda bu konukçunun varlığı teyit edilmiştir. İsrail’de *O. surinamensis* popülasyonlarında *Wolbachia* sp. oranı %24 olarak saptanmıştır (Fein ve Perlman, 2004). İsrail’de farklı depolardan 94 adet *O. surinamensis* örneğinde *Wolbachia* sp. yoğunluğu %69-86 oranında belirlenmiştir (Sharaf ve ark., 2010, 2013). Japonya’da yapılan bir çalışmada *O. surinamensis* popülasyonlarında *Wolbachia* sp. oranı %30 olarak saptanmıştır (Kageyama ve ark., 2010). Çin ve Kanada merkezli geniş kapsamlı bir çalışmada 38 böcek türü (88 popülasyon, 16 ülke) *Wolbachia* analizine tabii tutulmuştur. Kanada’da bulunan iki farklı hububat deposundan toplanan *O. surinamensis* popülasyonlarında *Wolbachia* analizi pozitif sonuç vermiştir. Ancak bulaşma düzeyi hakkında bilgi verilmemiştir (Li ve ark., 2015).

Depolanmış ürün zararlıları *Tribolium castaneum* ve *T. confusum* popülasyonlarında *Wolbachia*, *Spiroplasma* ve *Rickettsia* analizleri yapılmıştır. *T. castaneum* örneklerinde *Spiroplasma* ve *Rickettsia* belirlenirken *T. confusum* örneklerinde *Wolbachia* saptanmıştır (Goodacre ve ark., 2015).

Literatürde *O. surinamensis* ile endosimbiont bakteri analizleri incelendiğinde *Wolbachia* ön plana çıkmaktadır. Ancak depolanmış ürün zararlısı diğer türler ile yapılan çalışmalar incelendiğinde özellikle

*Rickettsia* ve *Spiroplasma* da *Wolbachia* kadar göze çarpmaktadır. Bu sebeple bu üç bakteri de çalışma konusuna dahil edilmiştir. *O. surinamensis*’de *Rickettsia* ve *Spiroplasma* varlığı dünyada ilk defa bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Sonuç olarak, Ülkemizde *O. surinamensis* popülasyonları arasında ciddi bir bakteri yoğunluk farkı bulunmaktadır. Araştırma sonucunda 10 *O. surinamensis* popülasyonu, bakteri yoğunluk derecesi olarak beş adet düşük yoğunluklu popülasyon, üç adet orta yoğunluklu popülasyon ve iki adet yüksek yoğunluklu bulaşma düzeyi gösteren popülasyon olarak belirlenmiştir.

Elde edilen verilere göre, 60 örneğin 28’inde üç endosimbionttan en az bir tanesi belirlenmiştir. Türkiye genelinde bu üç endosimbiont bakteri türünün %49 oranında bir bulaşma yoğunluğu gözlemlenmiş olup bu oranın %28’i *Wolbachia*, %14’ü *Rickettsia* ve %7’sinin *Spiroplasma* tarafından gerçekleştirildiği belirlenmiştir.

## Kaynaklar

- Alexeeva, I., Elliott, E.J., Rollins, S., Gasparich, G.E., Lazar, J., Rohwer, R.G., 2006. Absence of *Spiroplasma* or other bacterial 16S rRNA genes in brain tissue of hamsters with scrapie. *J Clin Microbiol*, 44(1),91-7.
- Breeuwer, J.A.J., Stouthamer, R., Barns, S.M., Pelletier, D.A., Weisburg, W.G., Werren, J.H., 1992. Phylogeny of cytoplasmic incompatibility microorganisms in the parasitoid wasp genus *Nasonia* (Hymenoptera: Pteromalidae) based on 16S ribosomal DNA sequences. *Insect Molecular Biology* 1(1), 25-36.
- Dedeine, F., Vavre, F., Fleury, F., Loppin, B., Hochberg, M.E., Bouletreau M., 2001. Removing symbiotic *Wolbachia* bacteria specifically inhibits oogenesis in a parasitic wasp. *PNAS* 98(11), 6247-6252.

- Dillon, N., Austin, A.D., Bartowsky, E., 1997. Comparison of preservation techniques for DNA extraction from hymenopterous insects. *Insect Molecular Biology*, 5, 21–24.
- Don, R.H., Cox, P.T., Wainwright, B.J., Baker K., Mattick, J.S., 1991. 'Touchdown' PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acids Research* 19(14), 4008.
- Fein, E.Z., Perlman, S.J., 2004. Distribution of the Bacterial Symbiont *Cardinium* in Arthropods. *Molecular Ecology*, 13, 2009–2016.
- Goodacre, S.L., Fricke, C., Martin, O.Y., 2015. A screen for bacterial endosymbionts in the model organisms *Tribolium castaneum*, *T. confusum*, *Callosobruchus maculatus*, and related species. *Insect science*, 22(2), 165-177.
- Gündüz, A.E., Douglas, A.E., 2009. Symbiotic bacteria enable insect to use a nutritionally inadequate diet. *Proceedings of the Royal Society B*, 276, 987-991.
- Güz, N., Dağeri, A., Aksoy, S., 2015. Endosimbiyotik Bakterilerin Böcekler Üzerine Etkisi. (Derleme) *Türk. entomol. bült.*, 5(2), 101-113.
- Himler, A.G., Hagimori, T.A., Bergen, J.E., Kozuch, A., Kelly, S.E., Tabashnik, B.E., Chiel, E., Duckworth, V.E., Dennehy, T.J., Fein, E.Z., Hunter, M.S., 2011. Rapid Spread of a Bacterial Symbiont in an Invasive Whitefly Is Driven by Fitness Benefits and Female Bias. *Science*, 332(6026), 254-256.
- Kageyama, D., Narita, S., Imamura, T., Miyanoshta, A., 2010. Detection and identification of *Wolbachia* endosymbionts from laboratory stocks of stored-product insect pest and their parasitoids. *Journal of Stored Products Research* 46, 13-19.
- Li, Y.Y., Fields, P.G., Pang, B.P., Coghlin, P.C., Floate K.D., 2015. Prevalence and diversity of *Wolbachia* bacteria infecting insect pests of stored products. *Stored Products Research*, 62, 93-100.
- Martin, J., Chong, T., Ferree, P.M., 2013. Male Killing *Spiroplasma* Preferentially Disrupts Neural Development in the *Drosophila melanogaster* Embryo. *PLoS ONE* 8(11), 1-8.
- Schröder, G.D., Wingfield, M.J., Klem H., Slippers B., 2011. DNA extraction techniques for DNA barcoding of minute gall-inhabiting wasps. *Molecular Ecology Resources*, 12(1), 109-115.
- Sharaf, K., Horova, L., Pavlicek, T., Nevo, E., Bures, P., 2010. Genome size and base composition in *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera:Sylvanidae) and differences between native(feral) and silo pest populations in Israel. *Journal of Stored Products Research*, 46, 34-37.
- Stouthamer, R., Breeuwer, J.A.J., Hurst, G.D.D., 1999. *Wolbachia pipientis*: Microbial Manipulator of Arthropod Reproduction. *Annual Review of Microbiology*, 53(1), 71-102.
- Zawalska, J.J., Asman, M., Klys, M., Solarz, K., 2016. Prevalence of sensitization to extracts from particular life stages of the saw-toothed grain beetle (*Oryzaephilus surinamensis*) in citizens of selected suburban areas of Southern Poland. *Journal of Stored Products Research*, 69, 252-256.