



## Yalvaç Akademi Dergisi

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/yalvac>

### PİRİNÇ BİTİ SİTOPHİLUS ORYZAE POPÜLASYONLARINDA WOLBACHİA’NIN BELİRLENMESİ\*

Erhan KOÇAK<sup>1\*</sup> Kübra TÜRKMEN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Isparta, Türkiye

[erhankocak@isparta.edu.tr](mailto:erhankocak@isparta.edu.tr)

#### ÖZET

*Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) başta mısır olmak üzere tüm hububat çeşitlerinde zararlıdır. Hububat danelerinde beslenmeleri sonucunda üründe kalite ve ağırlık yönünden kayıplar meydana getirir. Endosimbiyont bakteri olan *Wolbachia*, eklembacaklıların %66’sında tespit edilmiş olup konukçularının üremesi üzerinde partenogenesis, erkek öldürücülük, feminizasyon ve sitoplazmik uyumsuzluk şeklinde üreme bozukluğuna neden olan önemli bir bakteridir. Çalışmada Ege (İzmir ve Manisa), İç Anadolu (Ankara ve Konya), Karadeniz (Samsun), Güneydoğu Anadolu (Diyarbakır ve Şanlıurfa) ve Akdeniz (Adana) bölgelerinden toplam 12 lokasyondan *S. oryzae* popülasyonları toplanmış ve moleküler yöntemler ile *Wolbachia* varlığı araştırılmıştır. Çalışmada DNA ekstrasyonunu takiben PCR reaksiyonları *wsp* primerleriyle taranmıştır. Jel görüntülerine göre, taranan 120 örnekten 118 (%98,33)’inde *Wolbachia* tespit edilmiştir. Şanlıurfa ve Adana (Çukurköprü)’da %90 oranında, Manisa, İzmir, Ankara (Haymana-Karakeçeli), Diyarbakır, Samsun, Konya (Merkez-Alibeyköy) ve Adana (Ceyhan) illerinde ise %100 oranında *Wolbachia* varlığı tespit edilmiştir. Bu çalışma ülkemizde *S. oryzae* üzerinde *Wolbachia* varlığının belirlendiği ilk çalışmadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Wolbachia*, Endosimbiyont, *wsp*, *Sitophilus oryzae*, Türkiye.

\*Bu makale “Türkiye’de Pirinç Biti (*Sitophilus oryzae*, Coleoptera: Curculionidae) Popülasyonlarında Endosimbiyont Bakteri *Wolbachia* Enfeksiyonunun Belirlenmesi” isimli Yüksek Lisans Tez çalışmasından üretilmiştir.

### DETERMINATION OF WOLBACHIA IN RICE WEEVIL *SITOPHILUS ORYZAE* POPULATIONS

#### ABSTRACT

*Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) is the harmful insect for grains and especially for corn; as a result of consuming grains, it leads to quality and weight loss in products. *Wolbachia*, an endosymbiont bacterium, has been found in %66 of arthropods, and causes various reproduction disorders including partenogenesis, male lethality, feminisation and cytoplasmic incompatibility. In the present study, *S. oryzae* populations were collected from 12 locations in Aegean Region (Izmir and Manisa), Central Anatolia Region (Ankara and Konya), Black Sea Region (Samsun), South-Eastern Anatolia Region (Diyarbakir and Şanlıurfa) and Mediterranean Region (Adana). Existence of *Wolbachia* was investigated through molecular methods. Specifically the PCR reactions following DNA extraction were scanned with *Wsp* primers. According to gel displays, *Wolbachia* was determined in 118 out of 120 samples. In particular, the samples in Şanlıurfa and Adana (Cukurkopru) contained *Wolbachia* as 90%, and the samples in Manisa, Izmir, Ankara (Haymana-Karakeceli), Diyarbakir, Samsun, Konya (Merkez-Alibeyköy) and Adana (Ceyhan) infected *Wolbachia* as 100%. This is the first study on determination of *Wolbachia* in *S. oryzae* populations in Turkey.

**Keywords:** *Wolbachia*, Endosymbiont, *wsp*, *Sitophilus oryzae*, Turkey.

## 1. GİRİŞ

Hububat, insanların temel besin kaynağını oluşturan ürünler içerisinde ilk sıradadır. Ülkemiz topraklarının yaklaşık %32'si (24.3 milyon hektar) tarım yapılabilir özelliktedir. Tarım alanlarının %67.5'i (16.4 milyon hektar) tarla ziraatına ayrılmıştır. Tarla ziraat alanının %73'üne (12 milyon hektar) hububat ekilmektedir. Hububat ekim alanı içerisinde yaklaşık %67.5'lik pay ile ilk sırada buğday, %25'lik payla ikinci sırada arpa ve %5'lik payla üçüncü sırada mısır gelmektedir. 2014 yılı TÜİK verilerine göre ülkemizde, yaklaşık 80 milyon dekar alanda, 22.6 milyon ton buğday üretimi yapılmıştır (TÜİK, 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. Genellikle depolanmış ürünlerde hayvansal kökenli organizmalar önemli oranlarda ürün kayıpları meydana getirmektedir. Dünya üzerinde genel olarak depolanmış hububatlardaki böcek zararı, modern depolama tekniklerinin kullanılmadığı ülkelerde %10-40 civarındadır (Shayaa vd., 1997). Yıldırım vd. (2001) ülkemiz depolarındaki eksiklikler nedeniyle bu oranın %100'e kadar ulaşabildiğini bildirmektedirler. Bu zarar oranı bulaşma düzeyine göre daha da artabilmektedir. Ülkemiz iklim özellikleri ve üretim çeşitliliği nedeniyle çok sayıda depolanmış ürün zararlısının gelişmesine olanak vermektedir. Beslenmeleri sonucu, üründe ağırlık kayıplarına, tohumluk özelliğinin düşmesine, kalite ve besin değerlerinde olumsuz değişimlere yol açarak ticari değerinin düşmesine neden olmaktadır (Boxall, 2001). Ürünlerdeki kayıpların engellenmesi için zararlı böcek popülasyonlarının kontrol altına alınması gerekmektedir.

Ambarlarda önemli zararlılarından birisi de pirinç biti *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae)'dir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda, *S. oryzae*'nin hemen hemen tüm illerde belirlendiği ve diğer *Sitophilus* türlerinden daha yaygın olup yoğun popülasyon oluşturduğu görülmektedir (Bağcı vd., 2014). Pirinç, buğday, arpa, mısır, sorgum ve diğer tahıllarda zararlı olmaktadır (Erakay, 1982). Zararı hem ergin hem de larvalar yapmaktadır. Larva tanenin içinde yaşamakta ve iç kısmını yemekte, erginler ise taneyi dışardan kemirerek zarar yapmaktadır. Bu zararlı, yoğun olduğunda tanenin sadece parçalanmış kabukları kalmakta, üründe kızışma ve küflenmeye sebep olmaktadır. Zarar yaptığı daneler diğer sekonder zararlılar için ortam oluşturmaktadır. Ayrıca kırma ve un mamullerinde de zarar yapabilmektedir (Yıldırım vd., 2001).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda kimyasal mücadele yerine alternatif mücadele yöntemleri ön planda tutulmaya başlanmıştır (Vigneron vd., 2012; Li vd., 2015). Bu çalışma konularından birisi de endosimbiont bakterilerdir. Üzerinde en çok çalışma yapılan bakteri ise canlılarda üreme bozukluğuna neden olan *Wolbachia* olduğu görülmektedir. *Wolbachia* alternatif mücadelede potansiyeli olan bir etmen olarak görülmektedir.

*Wolbachia* sp., ilk kez 1924 yılında Herting ve Wolbach tarafından sivrisineğin (*Culex pipiens*, Diptera: Culicidae) üreme dokularında saptanmıştır. Bunun ilk tanımlanması 1936 yılında *Wolbachia pipientis* olarak Herting tarafından yapılmıştır (Merçot ve Poinot, 2009). Sadece dişi bireylerin sitoplazmaları ile taşınan *Wolbachia* böceklerde hücre içi simbiyotik bir bakteri olup 63 Arthropod türünden (Arachnida 2, Insecta 61) 48'inde (%76), 20 filarial nematod türünün 18'inde (%90) belirlenmiştir. Bütün Arthropodların ise %20'sinde *Wolbachia*'nın bulunduğu düşünülmektedir (Hise vd., 2004; Kozek, 2005; Hilgenboecker vd., 2008).

*Wolbachia* enfeksiyonu nadiren horizontal taşınmalarına rağmen anadan yavruya vertikal olarak taşınmakta ve konukçu üremesini sitoplazmik uyumsuzluk, erkek yumurtaları öldürmek, partenogenesis, feminizasyon ve oogenesis gibi birkaç yolla değiştirmektedir (Stevens vd., 2001; Kozek, 2005). Heddi vd. (1999) yapmış oldukları çalışmada *Wolbachia*'nın *S. oryzae*'nin tüm vücuduna (foliküler hücreler, oosit, testis, bağırsak ve bakteri lenfositleri gibi) yayıldığını tespit etmişlerdir. Bununla birlikte *Wolbachia* yoğunluğunun dokudan dokuya değiştiğini, germ hücrelerinde yoğun fakat diğer dokularda az olduğunu

belirlemişlerdir. Bu bulgulara paralel olarak dokularda gözlenen zayıf floresan sinyalleri germ hücreleri ile karşılaştırıldığında, *Wolbachia*'nın ana hücreyi etkileyerek aktif olarak gelişmekte olan testislerdeki spermeleri değiştirdiğini vurgulamışlardır.

Sinkins ve O'Neill (2000) *Wolbachia*'nın coccoid veya bacilliform şeklinde olup, iki membranlı ve ortalama 0.8-1.5 µM uzunluklarda olup Rickettsiaceae familyası içinde yer aldığını, ayırıcı bir özelliklerinin de insanlarda hastalığa neden olmaması olduğunu ve bu bakterilerin endosimbiyont veya parazitlik etkileriyle omurgasız hayvanlarda bulduklarını bildirmişlerdir.

Vigneron vd. (2012) simbiyotik canlıların *S. oryzae* üzerinde endosimbiyontlar ve patojenler sayesinde böcek direncinin azaldığı mücadele yöntemlerinin artmakta olduğunu ve *Wolbachia*'nın alternatif olarak biyolojik mücadelede önemli bir yere sahip olduğunu belirtmişlerdir. İnsektisitlere dirençli popülasyonlarda *Wolbachia* oranının fazla olduğu belirlenmiştir. Böceklerde *Wolbachia* olması, insektisitlere karşı dirençli olmasını ve *Wolbachia*'nın yok edilmesi ise direncin ortadan kalkmasını sağlamaktadır (Berticat vd., 2002). Sivrisinekler ile yapılan bir çalışmada; organofosfatlı insektisitlerine karşı dirençli olanların, insektisitlere duyarlı sivrisineklere göre daha çok *Wolbachia* bulundurduğu, ergin vücut ölçülerini ve doğurganlıkta olumsuz etkilere neden olduğu belirlenmiştir (Duron vd., 2006).

Konukçu popülasyonunda hızlı şekilde yayılması ve konukçularının üremesi üzerine olan etkisi nedeniyle *Wolbachia* enfeksiyonları, bitki zararlıları ve vektör mücadelesinde güçlü bir potansiyel olarak görülmektedir (Sinkins ve O'Neill, 2000; Dunn vd., 2001). Bazı çalışmalarda depolanmış ürün zararlıları ile mücadelede *Wolbachia*'nın önemi vurgulanmış ve mücadeleye yönelik kullanılması amaçlanmıştır (Kageyama vd., 2009; Vigneron vd., 2012; Li vd., 2015). Zhang vd. (2010) *Wolbachia* enfeksiyonunun Curculionidae popülasyonları arasında üreme uyumsuzluğuna neden olabileceğini bildirmişlerdir. *Wolbachia*'nın böcek gelişimi üzerindeki sitoplazmik uyumsuzluk etkisi ile böceklerde kısırlaştırma oluşturmak için önemli bir basamaktır (Zabalou vd., 2004, Kageyama vd., 2009). Buna ek olarak bu tür zararlıların kontrol altına alınmasında alternatif yöntem olarak görülmektedir (Werren vd., 2008; Brelsfoard ve Dobson, 2009; Saridaki ve Bourtzis, 2010). *Wolbachia* enfeksiyonunun manipüle edilmesi; tıp, veterinerlik ve tarımsal alanlarda önemli olan zararlı Arthropod türlerinin biyolojik mücadelesi için kullanılabilecek önemli bir yöntemdir (Pourali vd., 2009). Heddi vd. (1999) *Sitophilus* türlerindeki *Wolbachia* varlığının çevre dostu stratejilerin geliştirilmesi için gelecekteki çalışmalarını yönlendireceğini belirtmektedirler.

Dünyada *S. oryzae*'de *Wolbachia* varlığının belirlenmesi konusunda çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Werren vd., 1995; Fein ve Perlman, 2004; Kageyama vd., 2009; Henri ve Mouton 2011; Carvalho vd., 2014; Li vd., 2015). Bu çalışma ise ülkemizde bu tür üzerinde yapılan ilk çalışma özelliğini taşımaktadır.

## 1. MATERYAL VE METOT

Çalışmanın ana materyalini pirinç biti *S. oryzae* oluşturmaktadır.

Depolardan Pirinç bitinin toplanması, bir seferde ve en uzun depolama döneminde yapılmıştır. Örnekleme için Z biçiminde gezilerek ilgili deponun üst, orta ve taban kısmı olmak üzere üç bölgeden el sondasıyla veya depolanış biçimine göre yapılmıştır. Örnekleme sonrası yaklaşık 3-5 kg hububat örneği alınmıştır (Anonim, 2013). Aşağıda belirtilen illerdeki Toprak Mahsulleri Ofisi (TMO) ve özel hububat depolarından *S. oryzae* alınmıştır.

İç Anadolu Bölgesi: Ankara (Haymana ve Karakeçeli), Konya (Merkez ve Alibeyköy)

Ege Bölgesi: Manisa (Kaldere), İzmir (Merkez)

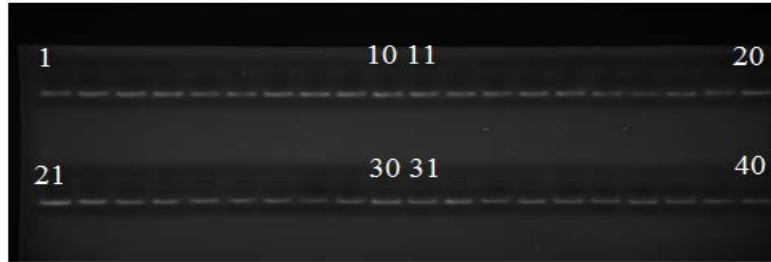
Akdeniz Bölgesi: Adana (Ceyhan ve Çukurköprü)

Karadeniz Bölgesi: Samsun (Bafra Bereket Un ve Bafra Pak Un)

Güneydoğu Anadolu Bölgesi: Şanlıurfa (Merkez), Diyarbakır (Özyıldızlar Un Fabrikası)

*Sitophilus oryzae*'nin kültüre alınmasında sağlam, beyaz yumuşak ekmeklik buğday kullanılmıştır. Buğdaylar 1 litrelik cam kavanozlara yaklaşık 300-400 g konulduktan sonra cam kavanozların kapakları yaklaşık 0.5-1 mm çapında delinerek hava sirkülasyonu sağlanmıştır. Bu kavanozlar küvetlere alınmış ve dip kenarlarına sıvı vazelin sürülmüştür. Kavanozlar  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  sıcaklık ve  $\%65\pm 5$  orantılı nem koşullarına ayarlanmış böcek yetiştirme odasına yerleştirilmiştir (Pimentel vd., 2008). İlk 10 birey elde edildikten sonra çalışmaya alınmıştır. *S. oryzae* örnekleri stereo-mikroskop yardımıyla ayrılmıştır. Toplanan böceklerin teşhisinde Hill (2002)'den yararlanılmıştır.

Genomik DNA izolasyonu için, Türkiye'nin 12 farklı lokasyonundan elde edilen *S. oryzae* popülasyonları yüzey sterilizasyonu için bir gece  $-20^{\circ}\text{C}$   $\%95$  etanolde bekletilmiştir. Her ilden 10 birey olmak üzere toplam 120 örnekte *Wolbachia* varlığı araştırılmıştır. Genomik DNA izolasyonu için Saghai-Marroof vd. (1984)'nin kullandığı CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide) solüsyonu yöntemi revize edilerek izolasyon yapılmıştır. Örnekler ependorf tüplerine alınarak 200 µl CTAB eklendikten sonra ezme çubukları ile iyice ezilmiştir. Ezme çubukları ile ezildikten sonra tekrar 200 µl CTAB eklendikten sonra içerisine 20 µl proteinaz K eklenip tüpün ağzı parafilmlelenerek  $65^{\circ}\text{C}$  sıcaklığındaki su banyosunda 24 saat bekletilmiştir. Su banyosundan çıkarılan örneklerin içerisine RNAaz eklenilerek 5dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. 14.000 devirde 5 dk santrifüje tabi tutulan 1.5 µl ependorf tüplerinde üst kısımda kalan sıvı yeni tüpe alınmıştır. Yeni tüpe alınan örneklerin üzerine 500 µl 24:1'lik Cloroformisoamylalcohol eklenilerek elle hafifçe çalkalanmıştır. 18.000 devirde 10 dk santrifüje tabi tutulan örneklerin üst kısmında kalan sıvı tekrar yeni ependorf tüplerine alınmıştır. 500 µl 24:1 Cloroformisoamylalcohol eklenmiştir. Tekrardan 18.000 devir 10 dk santrifüje tabi tutulan örneklerin üst kısmında kalan sıvı yeni ependorf tüplerine alınmıştır. 400 µl önceden soğutulmuş isopronal eklenip  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de yaklaşık olarak 60 dk bekletilmiştir.  $-80^{\circ}\text{C}$ 'den alınan örnekler 18.000 devirde 30 dk santrifüje tabi tutulmuştur.  $\%70$ 'lik soğuk etanolden 500 µl eklenip 18.000 devirde 5 dk santrifüjlenerek yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlemin iki kez uygulanmasıyla genomik DNA'nın temizlenmesi sağlanmıştır. Etanolden genomik DNA pelleti arındırılıp ve pelletin büyüklüğüne göre yaklaşık olarak 20–50 µl arasında ultrasaf su eklenmiş, böylece genomik DNA elde edilmiştir. DNA'nın uygunluğunu kontrol etmek için, genomik DNA'lar  $\%1$ 'lik agaroz jele yüklenmiştir. 80 volda 20 dk koşutularak spektrofotometre cihazı ile görüntü alınmıştır. Nanodrop cihazında da genomik DNA miktarı nanogram değerinden tespit edilmiştir. Değerlerin yaklaşık olarak 500 - 1800 nanogram arasında olduğu görülmüştür.



Şekil 1. *Sitophilus oryzae* örneklerinden elde edilen genomik DNA bant görüntüsü  
1-10: İzmir, 11-20: Ankara, 21-30 Diyarbakır ve 31-40 Konya.

PCR amplifikasyonu için *S. oryzae*'den elde edilen genomik DNA örneklerinde *Wolbachia* enfeksiyonunun taranması amacıyla evrensel *Wolbachia* primeri (Zhou vd., 1998) *wsp81F* (5'TGG TCC AAT AAG TGA TGA AGA AAC3') ve *wsp691R* (5' AAA AAT TAA ACG CTA CTC CA3') kullanılmıştır. Bu primerler tek tek *Wolbachia* türlerine bağlı olarak 590-630 bp arasında değişen DNA parçasını çoğaltmaktadır. PCR için kullanılan 0.2'lik PCR tüplere sırası ile 5 µl 2X AmpMaster Taq Mix, 0.5 µl *wsp 81 F* primer, 0.5 µl *wsp 691 R* primer, 2.5 µl distile su ve 0.5 µl genomik DNA eklenen tüpler PCR cihazına yerleştirilmiştir.  $45-55^{\circ}\text{C}$  ve  $50-60^{\circ}\text{C}$  arasında gradient PCR'ı uygulanarak,  $55^{\circ}\text{C}$ 'de primerin bağlanma derecesinin en uygun sıcaklık olduğu tespit edilmiştir. PCR işlemi Zhou vd. (1998)'nin izlediği protokole revize edilerek

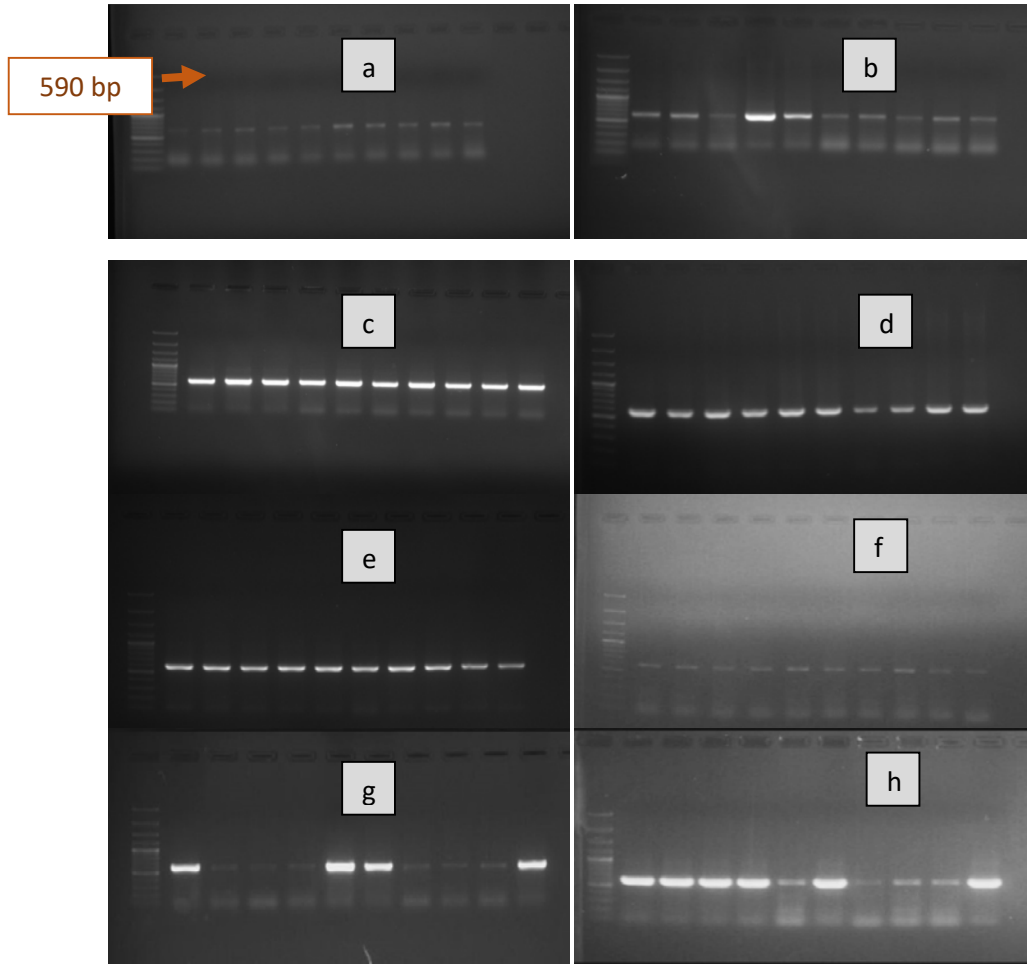
gerçekleştirilmiştir (Tablo 1). Takiben PCR ürünleri PRONASAFE ile boyalı %1.5'lik agaroz jelde yürütüldükten sonra UV transilluminatörde görüntülenmiştir.

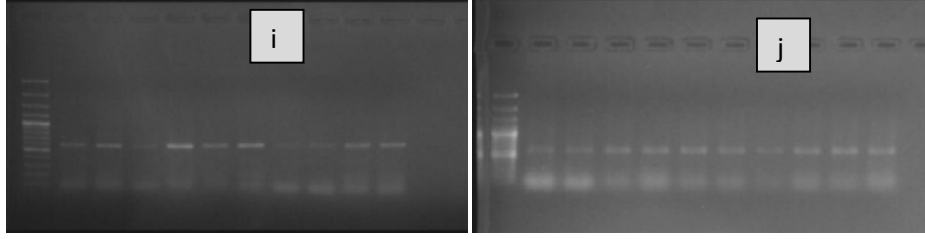
**Tablo 1. *Sitophilus oryzae* üzerinde *Wolbachia* taraması için yapılan PCR döngü programı**

PCR döngüsü	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü
Ön denatürasyon	95	2 dk	1
Denatürasyon	95	10 sn	35
Bağlanma	55	10 sn	
Uzama	72	15 sn	
Son uzama	72	2 dk	1

## 2. BULGULAR

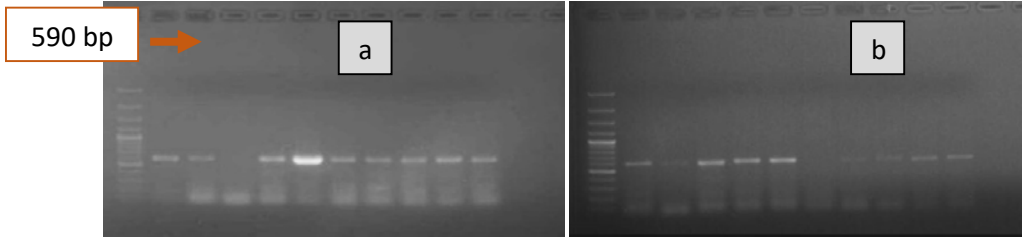
Ülkemizde Ege, İç Anadolu, Karadeniz, Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz bölgelerinden toplam 12 lokasyondan *S. oryzae* örnekleri toplanmıştır. Moleküler tekniklerin uygulanması sonucu elde edilen jel görüntülerine göre, taranan 120 örnekten 118'inde (%98,33) *Wolbachia* tespit edilmiştir. Şanlıurfa ve Adana (Çukurköprü)'da %90 oranında *Wolbachia* varlığı saptanmışken, Manisa, İzmir, Ankara, Diyarbakır, Samsun, Konya ve Adana illerinden elde edilen diğer 10 popülasyonda ise *Wolbachia* varlığı %100 oranında tespit edilmiştir (Şekil 2 ve 3).





Şekil 2. *Sitophilus oryzae* bireylerinde %100 oranındaki *Wolbachia* varlığı belirlenen iller.

- a) Manisa, b) İzmir, v) Ankara (Haymana), d) Ankara (Karakeçeli), e) Konya (Alibeyköy), f) Konya (Merkez), g) Samsun (Bafra Un), h) Samsun (Pak Un), i) Diyarbakır ve j) Adana (Ceyhan).



Şekil 3. *Sitophilus oryzae* bireylerinde %90 oranındaki *Wolbachia* varlığı belirlenen iller. a) Adana (Çukurköprü) ve b) Şanlıurfa.

Çalışmada *S. oryzae*'de cinsiyet belirlemeden rastgele örnekler seçilerek *Wolbachia* enfeksiyonu taranmıştır ve işlemlere tabii tutulmuştur. Bu nedenle bant parlaklıklarında farklılıklar söz konusudur.

### 3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Çalışma sonucunda ülke genelinde *S. oryzae*'de *Wolbachia* bulunma oranı ortalama %98.34 olarak bulunmuştur. Tunçbilek vd. (2015) ise Antalya ilinden temin ettikleri *S. granarius*'un *Wolbachia* için pozitif, *S. zeamais*'in ise negatif sonuç verdiğini belirlemişlerdir.

Dünyada *S. oryzae* üzerine yapılan çalışmalarda (Werren vd. 1995, Heddi vd. 1999 ve 2001, Shen vd. 2003, Fein ve Perlman 2004) söz konusu zararlının popülasyonlarında *Wolbachia* enfeksiyonunu tespit etmişlerdir. Henri ve Mouton (2011) *S. oryzae*'nin de bulunduğu Avustralya'dan toplanılan popülasyonlarda *wsp* geni ile *Wolbachia* enfeksiyonunun %73 - 99.7 oranları arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı gen bölgesinde tarama yapılan bir başka çalışma ise Kageyama vd. (2009)'nindir. İçerisinde *S. oryzae*'nin de bulunduğu Japonya ve İtalya popülasyonlarında *Wolbachia* varlığı tespit edememişlerken, Carvalho vd. (2014) dünyanın farklı ülkelerinden toplanan 16 *S. oryzae* popülasyonunun %43.75'inin *Wolbachia* ile enfekli olduğunu tespit etmişlerdir. Bunların bulaşık olma durumunun özellikle tropik ve subtropik bölgede *S. oryzae*'deki *Wolbachia* enfeksiyonunun bağlantılı olduğunu belirtmişlerdir. Ülkemiz iklim koşulu açısından *Wolbachia* enfeksiyonu için elverişlidir. Li vd. (2015) Kanada'dan temin edilen *S. oryzae*'de *Wolbachia* enfeksiyonu tespit ederken, Avustralya, Kanada, Yunanistan, Myanmar, İspanya ve Trinidad'dan temin edilen *S. oryzae*'de *Wolbachia* enfeksiyonu olmadığını belirlemişlerdir. Sıcaklık, besin kalitesi ve yoğunluk gibi çevresel faktörler konukçudaki simbiyot yoğunluğunu ve dışıdan larvaya simbiyot aktarımını etkilemektedir (Hoffmann vd., 1990; Sinkins vd., 1995).

Carvalho vd. (2014) dünya'nın farklı ülkelerinden toplanan 11 *S. zeamais* popülasyonu (Meksika, Panama, Peru, Hindistan, Tayland, Brezilya, Mozambik, Avustralya, Kolombiya ve Amerika) ve 16 *S. oryzae* (Brezilya, Brezilya, Peru, Avustralya, İran, Ekvator, Amerika, Birmanya, Tobago, Hindistan, Egipt, Gürcistan, Brezilya ve Peru) popülasyonunda *Wolbachia* varlığını tespiti için 16S rDNA primerini

kullanılmıştır. Sonuçlara bakıldığında *S. zeamais*'in %81.8'si *Wolbachia* ile enfekteliyken *S.oryzae*'de bulaşmanın %43.75 olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada tropik ve subtropik ortamdan temin edilen pirinç bitlerinin *Wolbachia* enfeksiyonu varlığı ile bağıntılı olduğunu bildirmişlerdir. *Wolbachia* enfeksiyonunun *S. oryzae* üzerinde horizontal olarak taşındığını belirtmişlerdir.

Henri ve Mouton (2011) *S. oryzae* üzerinde *Wolbachia*'nın üreme bozukluğuna neden olduğunu, içinde *S. oryzae*'nin de bulunduğu Avustralya'dan toplanılan popülasyonlarda *wsp* geni ile *Wolbachia* enfeksiyonunun %73 - 99.7 oranında olduğunu tespit etmişlerdir.

Kageyama vd. (2009) Coleoptera, Psocoptera, Lepidoptera ve Hymenoptera'dan 59 türden 18 türün *Wolbachia* ile enfekteli olduğu belirtmişlerdir. Çalışmada *S. oryzae*'nin Japonya ve İtalya popülasyonlarında *Wolbachia* varlığı tespit edilmemişken, *S. zeamais*'in Japonya popülasyonunda tespit edilmiştir.

*Wolbachia*'nın yok edilmesi durumunda böcek gelişimini olumsuz etkileyeceği göz önüne alınmalıdır. Chen vd. (2012)'ne göre oosit üretimi için *Wolbachia* gereklidir. Vigneron vd. (2012)'ne göre ise simbiyotik canlıların *S. oryzae* üzerinde patojenlere karşı mücadele ederken böceğin yaşam standartlarını düşürdüğünü ve konukçu bağışıklığı üzerine yeni perspektiflerin bulunduğunu ortaya koyarak, endosimbiyontlar ve patojenler sayesinde böcek direncinin azaldığı mücadele yöntemlerinin artmakta olduğunu bildirmişlerdir.

Ülkemizde Pirinç biti üzerinde *Wolbachia* ile daha önce bir çalışmanın yapılmamış olması, bu çalışmanın önemini ortaya koymaktadır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, ilerdeki çalışmalarda zararlı ile alternatif mücadele yapmaya ışık tutan bir çalışma ortaya konulmuştur. Dolayısıyla bu çalışma hem pirinç biti hem de *Wolbachia* hakkında bir kaynak teşkil etmektedir.

## KAYNAKLAR

- Anonymous, 2013. Methods Handbook Challenge Ensuring, Food Security" Australia-India Strategic Research Fund. Updated 18.03.2013, Version 1.5, 56 s.
- Bağcı, F., Yılmaz, A., Ertürk, S., 2014. Ankara İli Hububat Depolarında Bulunan Zararlı Türleri. Bitki Koruma Bülteni, 54(1), 69-78.
- Berticat, C., Rousset, F., Raymond, M., Berthomieu, A. and Weill, M., 2002. High *Wolbachia* density in insecticide-resistant mosquitoes. The Royal Society, B (2002) 269, 1413–1416.
- Boxall, R.A., 2001. Post-harvest Losses To Insect-a World Overview. International Biodeterioration and Biodegradation, 48, 137-152.
- Brelsfoard, C.L., Dobson, S.L., 2009. *Wolbachia*-based Strategies to Control Insect Pests and Disease Vectors. [Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology](#), 17, 55-63.
- Carvalho, G. A., Correa, A.S., Oliveira, L.O., Guedes, R.N.C., 2014. Evidence Of Horizontal Transmission Of Primary And Secondary Endosymbionts Between Maize And Rice Weevils (*Sitophilus zeamais* and *Sitophilus oryzae*) And The Parasitoid The Ocolax Elegans. Journal of Stored Products Research, 59, 61-65.
- Chen, S.J., Lu, F., Cheng, J.A., Jiang, M.X., and Way, M.O., 2012. Identification and Biological Role of the Endosymbionts *Wolbachia* in Rice Water Weevil (Coleoptera: Curculionidae). Environmental Entomology, 41(3), 469-477.
- Dunn, A.M., Hurst, G.D.D., Rigaud, T., 2001. Inherited Microorganisms, Sex-specific Virulence and Reproductive Parasitism. Trends in Parasitology 17,2.
- Duron, O., Labbe, P., Berticat, C., Rousset, F., Guillot, S., Raymond, M., et al. 2006. High *Wolbachia* Density Correlates With Cost of Infection For Insecticide Resistant *Culex pipiens* Mosquitoes. Evolution, 60, 303–314.
- Erakay, S., 1982. Ambar Böcekleri ve Savaş Yöntemleri T.O. ve Köy İşleri Bakanlığı Zirai Mücadele Ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü İzmir Bölge Zirai Mücadele Araştırma Enstitü Müdürlüğü Mesleki Kitaplar, Serisi No: 16 Ankara.
- Fein, E. Z., Perlman, S. J., 2004. Distribution of the Bacterial Symbiont *Cardinium* in Arthropods. Molecular Ecology, 13, 2009–2016.

- Heddi, A., Grenier, A.M., Khatchadourian, C., Charles, H., Nardon, P., 1999. Four Intracellular Genomes Direct Weevil Biology: Nuclear, Mitochondrial, Principal Endosymbiont, and *Wolbachia*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 96, 6814–6819.
- Heddi, A., Charles, H., Khatchadourian, C., 2001. Intracellular Bacterial Symbiosis in the Genus *Sitophilus*: The ‘Biological Individual’ Concept Revisited. Research in Microbiology, 152, 431–437.
- Henri, H., Mouton, L., 2011. High-Resolution Melting Technology: A New Tool For Studying the *Wolbachia* Endosymbiont Diversity in the Field. Molecular Ecology Resources, 12, 75–81.
- Hise, A.G., Ferguson, I.G., Pearlman, E., 2004. The Role Endosymbiotic *Wolbachia* Bacteria in Filarial Disease. Cellular Microbiology, 6, 97-104.
- Hilgenboecker, K., Hammerstein, P., Schlattmann, P., Telschow, A., Werren, J.H., 2008. How Many Species are Infected With *Wolbachia*? A Statistical Analysis of Current Data. FEMS Microbiology Letters, 281, 215-220.
- [Hill, D., 2002. Pests of Stored Product Foodstuffs and Their Control. Springer Publisher, the Netherlands, 478.](#)
- Hoffmann, A.A., Turelli, M. and Harshman, L.G., 1990. Factors Affecting The Sistribution of Cytoplasmic Incompatibility in *Drosophila simulans*. Genetics 126, 933–948.
- Kageyama, D., Narita, S., Imamura, T., Miyanoshta, A., 2009. Detection and Identification of *Wolbachia* Endosymbionts From Laboratory Stocks of Stored-product Insect Pests and Their Parasitoids. Journal of Stored Products Research, 46, 13–19.
- Kozek, W.J., 2005. What is in the *Wolbachia*/Dirofilaria Interaction?. Veterinary Parasitology, 133, 127-132.
- Li, Y.Y., Fields, P.G., Pang, B.P., Coghlin, P.C., Floate, K.D., 2015. Prevalence and Diversity of *Wolbachia* Bacteria Infecting Insect Pests of Stored Products. Journal of Stored Products Research, 62, 93-100.
- Merçot, H., Poinso, D., 2009. Infection by *Wolbachia*: From Passengers to Residents. [Comptes Rendus Biologies](#), 332, 284-297.
- Pimentel, M.A.G., Faroni, L.R.D., Batista, M.D., Silva, F. H., 2008. Resistance of stored-product insects to phosphine”. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 43(12), 1671-1676.
- Pourali, P., Roayaei, Ardakani, M., Jolodar, A. and Razi, Jalali, M. H., 2009. PCR Screening of the *Wolbachia* in Some Arthropods and Nematodes in Khuzestan Province. Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University, Vol. 10, No. 3, Ser. No. 28.
- Saridaki, A., Bourtzis, K., 2010. *Wolbachia*: more Than Just a Bug in Insects Genitals. [Current Opinion in Microbiology](#), 13, 67-72.
- Shen, Z., Denton, M., Mutti, N., Pappan, K., Kanost, M.R., Reese, J.R., Reeck, G.R., 2003. Polygalacturonase From *Sitophilus oryzae*: Possible Horizontal Transfer of a Pectinase Gene From Fungi to Weevils. Journal of Insect Science, 3-24.
- Sinkins, S. P., Braig, H. R. and O’Neill, S. L. 1995. *Wolbachia* Superinfections and the Expression of Cytoplasmic Incompatibility. Proceedings of the Royal Society of London, Series B, 261, 325–330.
- Sinkins, S.P., O’neill, L.S., 2000. *Wolbachia* as a Vehicle to Modify Insect Populations. In: Insect Transgenesis - Methods and Applications (Eds: Handler, A. M., James, A. A.). Boca Raton, CRC Press. 271-284.
- Stevens, L., Giordano, R., Fialho, R.F., 2001. Male-Killing, Nematode Infection, Bacteriophage Infection, and Virulence of Cytoplasmic Bacteria in the Genus *Wolbachia*. Annual Review of Ecology and Systematics, 32, 519-545.
- Tunçbilek, A.S., Bakir, S., Derin, I., Bilbil, H., 2015. Screening of Reproductive Symbionts of *Sitophilus granarius*, *Sitophilus zeamais* and Their Parasitoid *Lariophagus distinguendus*. Integrated Protection of Stored Products IOBC-WPRS Bulletin, Vol. 111, 511-517.
- TÜİK. 2014. Türkiye’de Toplam Buğday Üretim Alanı ve Toplam Ürün Miktarı. Erişim Tarihi: 08.05.2017. [http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt\\_id=1001](http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001).
- Vigneron, A., Charif, D., Vincent-Monégat, C., Vallier, A., Gavory, F., Wincker, P., Heddi, A., 2012. Host Gene Response to Endosymbiont and Pathogen in the Cereal Weevil *Sitophilus oryzae*. BMC Microbiology, 12-14.
- Werren, J.H., Zhang, W., Guo, L., 1995. Evolution and Phylogeny of *Wolbachia*: Reproductive Parasites of Arthropods. Proceedings of the Royal Society of London, Series B, 261, 55-63.
- Werren, J.H., Baldo, L. and Clark, M. E., 2008. *Wolbachia*: Master Manipulators of Invertebrate Biology, Biology Department, University of Rochester, New York, Nature Reviews Microbiology, 6, 741–751.
- Yıldırım, E., Özbek, H., Aslan, İ., 2001. Depolanmış Ürün Zararlıları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:191.
- Zhang, X., Luckhart, S., Tu, Z., Pfeiffer, D.G., 2010. Analysis of *Wolbachia* Strains Associated With *Conotrachelus nenuphar* (Coleoptera: Curculionidae) in the Eastern United States. Environ. Entomol. 39(2), 396-405.
- Zhou, W., Rousset, F., O’neill, S., 1998. Phylogeny and PCR-based Classification of *Wolbachia* Strains Using *Wsp* Gene Sequences. Proceedings of the Royal Society Publishing, 265, 509-515.