

WOLBACHIA BAKTERİLERİ VE ENTOMOLOJİDEKİ YERİ¹

Nurdan TOPAKCI²

Hüseyin GÖÇMEN³

ÖZET

Wolbachia spp. (Rickettsiaceae), yatay ve dikey olarak taşınan obligat, hücre içi bakteriyel parazitler olup böcek türlerinin %16'dan fazlasında ayrıca Crustaceae, Acarina, ve nematodları da içeren birçok omurgasız konukçuda bulunur. Konukçularının üremesi üzerine partenogenesis, erkek öldürücülük, feminizasyon ve sitoplazmik uyumsuzluk şeklinde anormal üreme değişikliklerine neden olmaktadır. Bununla birlikte verimsiz döllerin oluşumuna ve popülasyonda cinsiyet oranının bozulmasına da etkilidir. Konukçularının üremesi ile ilgili bu etkilerinden dolayı, *Wolbachia*, zararlı böcek ve hastalık vektörlerinin mücadelesinde kullanılabilir potansiyele sahiptir.

Anahtar Kelimeler: *Wolbachia*, Erkek Öldürücülük, Sitoplazmik Uyumsuzluk

SUMMARY

WOLBACHIA BACTERIA AND THEIR ENTOMOLOGICAL IMPORTANCE

Wolbachia species are maternally and horizontally inherited, obligate, intracellular bacterial parasites that infect an extremely wide range of invertebrates, including many insect species, crustaceans, arachnids and nematodes. Infections with *Wolbachia* have been associated with various reproductive abnormalities in the host, such as parthenogenesis, feminization, male-killing and cytoplasmic incompatibility. It has been proposed that the changes in host reproduction induced by these bacteria could be used to control pests and disease vector.

Keywords: *Wolbachia*, Male-killing, Cytoplasmic Incompatibility

GİRİŞ

Wolbachia, Rickettsiaceae familyasına ait, gram negatif bakterilerdir. Bunlar obligat, hücre

içi organizmalar olup, arthropodların üreme ile ilgili dokularında bulunurlar. Yatay ve dikey olarak taşınırlar (15). Dünyadaki en yaygın bakterisi grubu olduğu düşünülmektedir.

¹Yayın Kuruluna geliş tarihi: Ocak, 2004

²Araş. Gör., Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü ANTAKYA

³Doç. Dr., Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü ANTAKYA

Rickettsiaceae familyasında bulunan ve önemli insan patojenleri olan birçok türün aksine *Wolbachia* türleri, insanlarda hastalığa neden olmaz. Bu bakterilerin neden olduğu sendromlar, yalnızca omurgasızlarda görülmektedir. Konukçularının üremesi üzerine müdahale ederek, sitoplazmik uyumsuzluk, partenogenesis, erkek öldürücülük, virülenslik ve feminizasyon şeklinde üreme değişikliklerine neden olurlar (6). Halihazırda *Wolbachia* genusuna ait *Wolbachia melophagi* Nöller, *W. persica* Suitor and Weiss, ve *W. pipiens* Hertig türleri belirlenmiştir (9,16).

Coccoid veya bacilliform şeklinde olan bu bakteriler, iki membranlıdır ve ortalama uzunluğu 0.8-1.5 µm dir (13).

Wolbachia sp, ilk kez 1924 yılında Hertig ve Wolbach tarafından sivrisineğin (*Culex pipiens* L.) (Diptera:Culicidae) üreme dokularında saptanmıştır. Bunun ilk tanımlanması aynı böcekte 1936 yılında *W. pipiens* olarak Hertig tarafından yapılmıştır (15).

Konukçu Dizisi ve Yayılışı

Sadece dişi sitoplazması ile taşınan *Wolbachia*'nın somatik dokularda da varlığına rastlanmıştır (4). *Wolbachia*'nın farklı konukçularda yer almasına bağlı olarak bulunduğu somatik dokular da değişiklik göstermektedir. Örneğin çeşitli *Drosophila* türleri, *C. pipiens* L., *Ephesia cautella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae), *Aedes albopictus* Huston (Dip: Culicidae)'un erkek ve dişileri ile *Glossina morsitans* Westwood (Dip: Glossinidae) erkeğinde, somatik *Wolbachia* enfeksiyonu görülmüştür. Bu konukçulardaki enfekteli dokular; beyin, kas, ortabağırsak, salgıbezleri, malpigi boruları, yağ dokuları, kanatlar, hemolenf, testis ve ovarilerdir (4). Son yıllarda yapılan çalışmalar, *Wolbachia* spp'nin böcek türlerinin %16'sında bulunduğunu göstermektedir (15). *Wolbachia*'nın saptandığı böcek takımları Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Hemiptera, Homoptera, Lepidoptera ve Orthoptera olarak belirtilmiştir (14).

Yapılan surveylere göre *Wolbachia*, böceklerle ek olarak, akar ve nematodlarda da yaygın olarak görülmüştür (8,15). *Wolbachia* ile enfekteli türlerin sayısının her geçen gün arttığı bilinmektedir. Konukçuları şu ana kadar tam olarak belirlenememiştir (8,14,15).

1990'lı yıllarda Polymerase Chain Reaction (PCR)'daki gelişmelerle birlikte, araştırmacılar, konukçu dışında kolayca kültüre alınamayan *Wolbachia*'yı moleküler olarak belirlemeye çalışmışlardır (16).

Wolbachia'nın yayılması ve yoğunluğunun sistematik surveyi, PCR'a dayalı metotlarla mümkün olmaktadır. 16S rDNA ve *ftsZ* (bakteriyel hücre döngüsü geni) çalışmaları ve spesifik primerlerle yapılan PCR denemeleri, *Wolbachia*'nın konukçu dizisi surveyi için hızlıca bilgi edinilmesine olanak vermektedir. *Wolbachia*, *ftsZ* gen sekansına bağlı olarak A'dan F'ye kadar altı gruba ayrılmıştır. *Wolbachia*'nın A ve B ırkları böceklerin büyük bir kısmını, C ve D ırkı nematodları, E ırkı Collembolaları, F ırkı da termitleri enfekte etmektedir (8).

Konukçusunun Üremesi Üzerine Etkileri

Konukçularının üreme sistemleri içinde yaşayan bakteri, bir generasyondan diğerine, dişi yumurta sitoplazması yoluyla taşınmaktadır. Nadiren yatay taşındığının kanıtının olmasına rağmen *Wolbachia* bakterileri, öncelikli olarak anadan yavruya dikey olarak taşınmakta ve konukçu üremesine müdahale ederek konukçu üremesini birkaç yolla değiştirmektedirler. Daha önce yapılan çalışmalar, bu grup üyelerinin nematodlarla mutualistik bir ilişkileri olduğunu göstermesine rağmen, arthropodlarda tersine konukçuya bir faydasının olmadığını, konukçu üremesini etkileyerek değişik fenotipleri teşvik ettiğini ortaya koymaktadır (12). Bunlar, feminizasyon, partenogenesis induksiyon, erkek öldürücülük, virülenslik ve sitoplazmik uyumsuzluktur.

1. Feminizasyon (F)

Karasal isopodlarda, (tesbih böcekleri) farklı familyalara ait türlerin yaklaşık yarısında, *Wolbachia*'nın feminizasyonu teşvik ettiği görülmektedir. Bununla ilgili en iyi çalışılan örnek *Armadillidium vulgare* Latreille (Isopoda: Armadillidiidae)'dir. Bu bakteriler, cinsiyet belirlenmesini bozmakta ve genetik erkekler, fonksiyonel fenotipik dişilere dönüşmektedir (3,6,15). Crustaceelerde, cinsiyet farklılığı androjen bezler tarafından üretilen erkeklik hormonları ile kontrol edilmektedir. Eğer

androjen bezleri farklılaşması varsa, hormon, erkek gelişimini teşvik etmektedir. Androjen bez farklılaşması yoksa, dişi gelişmesi gerçekleşmektedir. *Wolbachia*, konukçunun feminizasyonunu teşvik eden bezlerin gelişimini baskılayarak erkekleri dişilere dönüştürmektedir. Bazı *Wolbachia* ırkları, androjen bezler ve androjen hormon üzerinde etkili olarak feminizasyona neden olurken, bazı ırklar sadece androjen bez gelişimini engelleyerek etkili olmaktadır. *Wolbachia*, konukçu hormonlarını dişi gibi değiştirerek yumurta üretmektedir (2,6,15).

2. Partenogenesisin Teşvik Edilmesi (PI)

Partenogenesisi teşvik eden *Wolbachia* ırkları, parazitik hymenopterlerde yaygın bir şekilde bulunur. Bunlar *Trichogramma*, *Aphytis*, *Encarsia*, *Leptopilina*, ve *Muscidifurax* cinsleri olarak belirtilmiştir (15). Fakat son yıllarda aralarda ve thripslerde de bulunduğu belirtilmiştir (6). *Wolbachia*, çiftleşmeye gerek olmadan, sadece dişilerin doğmasına izin verecek şekilde, konukçuya müdahale etmekte ve döllenmemiş yumurtalardan dişilerin gelişimi (thelytokie), ergin dişiler tarafından taşınan mikroorganizmaların varlığı ile artmaktadır. Haplodiploid böcek konukçularında, cinsiyet belirleme ploidiye bağlı olmakta ve döllenmiş yumurtalar diploid dişi üretirken, döllenmemiş yumurtalar haploid erkek üretmektedir. *Wolbachia*, çekirdekte kromozom duplikasyonu sayesinde, döllenmemiş yumurtalardan dişilerin gelişimine izin vermektedir. Böylece partenogenetik dişilerin üretilmesini teşvik etmektedir. Bu partenogenetik dişiler, seksüel erkeklerle çiftleştiklerinde, diploid dişiler meydana gelmektedir (2,6,15). *Wolbachia*'nın gamet duplikasyonuna nasıl neden olduğunun belirlenmesi ise detaylı moleküler ve sitogenetik çalışmaları gerektirmektedir (15).

3. Erkek Öldürücülük (MK)

Bugüne kadar erkek öldürücü *Wolbachia*, *Adalia bipunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae) ve *Acraea encedon* L. (Lepidoptera: Nymphalidae) olmak üzere iki türde bulunmuştur (6). Bakteri, selektif olarak enfekte ettiği erkek yumurtaları öldürmektedir.

Erkek embriyo öldürücü bakteriler, yumurtadan çıkan bireylerin henüz açılmayan kardeş yumurtalarla beslendiği türlerde, ya da açılan yumurtadan çıkan kardeşler arasında, besin açısından rekabet olan böceklerde etkili ve yaygındır. Bunlarda dişi konukçular yumurtadan çıktığı zaman erkeklerle besin açısından rekabete girmemektedirler. Çünkü dişiler, erkekleri oluşturacak yumurtalarda beslenirler. Bu durumda erkek konukçuların ölümü, dişi olan kardeşlerinin hayatta kalma oranını artırmakta ve *Wolbachia* ile enfekteli dişilerin hayatta kalma şansı da artmaktadır (6,16).

4. Virulenslik (Öldürücülük)

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, *Wolbachia* enfeksiyonunun neden olduğu yeni bir fenotip de, laboratuvarında *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) üzerinde gösterilmiştir (6). Bu sinekler virulent *Wolbachia* ile enfekte edildiklerinde, dokularında dejenerasyon meydana gelmiş ve zamanından önce ölmüşlerdir. *Popcorn* olarak isimlendirilen bu ırkın karakteristik etkisi, beyin hücreleri üzerinde olmaktadır. Ancak bu ırk, enfekte edilmiş *Drosophila* ile enfekte edilmiş dişiler çiftleştiğinde CI'ya neden olmamaktadır (6).

5. Sitoplazmik Uyumsuzluk (CI)

1950'li yıllarda *Culex* spp'de tür içi çaprazlamalarda uyumsuzluk olduğu ve ya çok az nesil üretebildikleri, ya da hiç üretemedikleri keşfedilmiştir. Bu durum, daha sonra sitoplazmik uyumsuzluk olarak isimlendirilmiştir (15). İlk kez 1920'li yıllarda *Culex* spp'de saptanan *Wolbachia* ile bu durum arasında bir ilişki olduğu, 1970'li yıllarda belirlenebilmiştir. Bu çalışmalarda, sitoplazmik uyumsuzluk ile, antibiyotik tedavisi yapılarak elemine edilen *Wolbachia* arasında bağlantı olduğu saptanmıştır (15).

Wolbachia'nın konukçu üremesi üzerine olan en yaygın etkisi sitoplazmik uyumsuzluk olup, bu konuda yapılmış olan çalışmalar çok daha fazladır. *Drosophila*'yı da içeren bazı türlerde, sitoplazmik uyumsuzluğa rastlanmaktadır. Sitoplazmik uyumsuzluk, enfekteli erkek ve enfekteli olmayan dişiler arasında görülen bir

embriyo (dölleniş yumurta) ölümüdür. Embriyo ölümünün nedeni sperm ve yumurta arasındaki uyumsuzluktan kaynaklanmaktadır (12). Sitoplazmik uyumsuzluğun tek yönlü ve iki yönlü olmak üzere iki formu vardır. Tek yönlü uyumsuzluk, *Wolbachia* enfekteli spermin, enfekteli olmayan yumurtayı döllemesiyle olmaktadır. Karşıt bir çaprazlanmada, enfekteli dişi ile enfektesiz erkek çiftleşmesi ise uyumludur. Diğer bir deyişle, enfekteli dişiler, enfektesiz olanlarla yarış dışında olmakta ve *Wolbachia* taşıyanların oranı popülasyonda artmaktadır. İki yönlü uyumsuzluk ise, erkek ve dişi farklı *Wolbachia* ırkları bulundurduğunda olmaktadır (15).

Biyokimyasal esasları tam anlaşılamamasına rağmen enfekteli erkeklerin *Wolbachia* içermeyen olgun sperm ürettikleri, bakterinin kendini sperme bağlayamamasına rağmen bilinmeyen bir mekanizma ile bir toksin ürettiği ve bu toksinin konukçu spermini değiştirdiği bilinmektedir (5). Sperm sadece aynı *Wolbachia* ırkını içeren yumurtaları döllemektedir. Böylece enfekteli olmayan dişilerle olan üreme azalmaktadır. Tersine *Wolbachia* taşıyan dişi ile enfekteli, ya da enfektesiz erkekler çiftleşirlerse, yaşayabilir yumurtalar üretilmektedir. Çünkü dişide yaşayan *Wolbachia*, spermlerin tam yaşayabilmesi için her nasılsa eski haline getiren bir antidot üretmektedir (16).

CI'nın etkinliğinin belirlenmesinde bakteriyel ırk, konukçu genotipi ve bakteriyel yoğunluk olmak üzere birkaç faktör bulunmaktadır.

Bazı durumlarda bir grupta birden fazla fenotip görülebilmektedir. Örneğin, Lepidoptera'da CI, F ve MK, Tetranychidlerde CI ve PI gözlenir. CI, ilk kez kırmızı örümceklerden *Tetranychus urticae* Koch'de (Acarina: Tetranychidae) saptanmıştır (3,7,8,11,16,17).

Dikey ve Yatay Taşınma

Arthropodlarda, tür içindeki yeni *Wolbachia* enfeksiyonları yatay taşınma ile olmaktadır. Aynı türün, enfekteli ve enfekteli olmayan parazitoidleri aynı yumurtayı parazitleyebilir ve enfekteliden enfekteli olmayan parazitoid larvaya %30 dan daha yüksek oranda *Wolbachia* taşınması olabilmektedir. Bu sonuç parazitik arılarda yatay taşınmanın sık olduğunu göstermektedir (3).

FtsZ geni çalışmaları, *Wolbachia*'nın türler arasında yatay taşındığını açıkça göstermektedir. Parazitik arı *Nasonia giraulti* (Hymenoptera: Pteromalidae) ve konukçusu et-sineği (*Protocallifora*)'ndeki her bir *Wolbachia* ırkının, filogenetik olarak yakın akraba olduğu belirlenmiştir. Bu bulgu parazitler ve konukçular arasında taxonlararası taşınma olduğunu ortaya koymaktadır (15).

A. vulgare'de bireyler arasında kandan kana olan temas, yatay taşınmayı sağlamaktadır. Ancak diğer türlerdeki yatay taşınma yolu bilinmemektedir. Laboratuvar denemeleri, *A. vulgare*'de yaralanmanın arkasından hemolenfe temas yolu ile veya *Wolbachia*'nın mikroenjeksiyonu ile yatay taşınmanın olduğunu göstermiştir (6).

Bakterinin dişi sitoplazması vasıtasıyla dikey olarak taşındığı ve erkek konukçuları öldürdüğü ile ilgili ilk kayıt 1950'li yıllardır (10).

Gotoh ve ark. (8) yaptıkları çalışmada, *Wolbachia*'nın iki kırmızı örümcek türündeki dikey taşınmasını araştırmışlardır. Dişileri *Wolbachia* ile enfekteli *T. kanzawai* Kishida bireylerinin, enfekteli veya enfektesiz olup olmasına bakılmadan erkek bireylerle çiftleştirildiğinde, enfekteli nesil ürettikleri, enfektesiz dişilerin ise *Wolbachia*'sız nesil ürettikleri görülmüştür.

Wolbachia ve Yeni Tür Oluşumu

Bazı biyologlar, böcek konukçularının üremeleri üzerine önemli bir etkiye sahip olan bu endosimbiontların, yeni böcek türlerinin ortaya çıkmasında (speciation) katkısı olduğunu belirtmektedirler (16). *Wolbachia* ile enfekteli erkek, enfektesiz dişi ile çiftleştiğinde döl üretmemektedir. Çünkü enfekteli sperm sitoplazması ile enfektesiz yumurta sitoplazması uyumsuzdur. Ancak diğer çiftleşmeler verimli dölleri üretmektedir. Bu düzenleme, sadece dişi ile yeni döllere geçen *Wolbachia*'nın konukçularda hızlıca yayılmasını sağlar. Bazı bilim adamları konukçu böcek popülasyonu farklı *Wolbachia* ırkları ile enfekte edilirse, yeni tür oluşumunun sağlanacağını savunmaktadırlar (16).

Bu konu ile ilgili olarak farklı *Wolbachia* ırkı taşıyan iki yakın akraba parazitik arı türü *N. longicornis* (Hym: Pteromalidae) ve *N. giraulti*

(Hym: Pteromalidae) ile çalışılmıştır. *N. longicornis* erkeği ile *N. giraulti* dişisi arasında ve *N. longicornis* dişisi ile *N. giraulti* erkeği arasında olan çiftleşmelerde, ya çok az hibrit döl üretilmekte, ya da hiç üretilmemektedir. Fakat bu türler, antibiyotik ile muamele edildiklerinde normal sayıda hibrit döl üretilmektedir. Bu da yeni bir tür olarak değerlendirilmektedir. Kimi araştırmacılar da bu çalışmanın *Wolbachia*'nın spesiasyona neden olduğunu kanıtlamayacağını bildirmektedirler (16).

Wolbachia ve Zararlı Böceklerle Mücadele

Konukçu popülasyonunda hızlı şekilde yayılması ve konukçularının üremesi üzerine olan etkisi nedeniyle *Wolbachia* bakterileri, bitki zararlılarının veya vektörlerin mücadelesinde güçlü bir potansiyel olarak görülmektedir. Bu bakterilerin zararlı mücadelesinde kullanımları doğrudan ve dolaylı şekilde olabilir. Doğrudan olarak, parazitoit ve predatörlerin etkinliğini artırmada, lokal zararlı mücadelesinde ve SIT tekniğinin etkinliğini artırmada; dolaylı olarak ise vektör olarak kullanılabilir (2,13).

Parazit ve Predatörlerin Etkinliğinin Artırılması:

Birçok Hymenoptera, biyolojik mücadelede zaten kullanılmaktadır. Çoğu parazitoitlerde partenogenesisi teşvik eden *Wolbachia*'nın da bulunuyor olması, oluşan döllerin dişi olma oranını artırarak, popülasyon büyüme oranının genişlemesinde etkili olacaktır. Böylece, bu parazitik hymenopterler, enfekteli olmayanlara göre mücadelede daha başarılı olabilecektir. Kısaca, sadece dişilerin parazitlenme kabiliyetinin olmasından dolayı *Wolbachia*'nın etkisi ile iki kat parazitik etki sağlanmış olacaktır (2).

Wolbachia, lokal zararlı popülasyonunu baskılamada kullanışlı bir araç olarak görülmektedir (2).

SIT Tekniğinin Etkinliğinin Artırılması:

CI, steril böcek tekniğinin (SIT) kapasitesini artıran doğal kısırlık üreten bir sistem olarak görülmektedir. Kısırlık üretimine alternatif bir metot olduğu söylenebilir. Kısır böcek salımlarda gerekli sayılar azaltılarak SIT prog-

ramının maliyeti önemli oranda düşürülebilir. İzole edilmiş küçük popülasyonlar haricinde SIT tekniğinin uygulanması lojistik olarak zor olmaktadır. Bu açıdan Afrika'da CI, radyasyona dayalı SIT programlarının tamamlayıcısı olarak görülmektedir (13).

Dolaylı yöntem, *Wolbachia*'nın konukçularında gen vektörü olarak kullanımınıdır. Başka bir deyişle vektör olan böcekte mikrobiyal bir hastalığın taşınmasını baskılayan bir gen *Wolbachia* içine sokulabilirse, değiştirilmiş *Wolbachia*'nın vektör popülasyonunda yayılmasının sağlanması ile hastalığın taşınması sınırlandırılabilir. Bu teknik birkaç adımı içerir. Bunlar:

- *Wolbachia*'nın hücre kültürüne alınması,
- Vektör böcek içine sokulması,
- Bu organizmaların zararlı popülasyonunda yayılmasının sağlanmasıdır (2).

SONUÇ

Wolbachia ve konukçuları, konukçu/parazit ilişkisinin mekanizmasını, hastalık gelişimini, parazitoit virülensliğini ve taşınma dinamiğini çalışmak için ideal adaylar olarak görülmektedir.

Bu bakterilerin genomlarının çalışılması ve karşılaştırılması sadece *Wolbachia*'nın farklı fenotipleri nasıl belirlediğine değil, aynı zamanda cinsiyet belirleme, üreme izolasyonu ve mutualistik simbiyosinin temel biyolojisinin anlaşılmasına da ışık tutmaktadır (1).

Wolbachia ile ilgili olarak halen yaygın şekilde ayrıntılı çalışmalar yapılmaktadır. Ancak cevaplandırılmayı bekleyen birçok soru vardır. Örneğin; CI, PI, MK ve F'nin biyokimyasal mekanizması tam olarak nedir? *Wolbachia*'nın geniş bir şekilde yayılmasının sınırı nedir? MK'de bakteri, erkeğe spesifik toksin mi üretir? Eğer böyle ise bu proteinler insektisit olarak geliştirilebilir mi? Biyolojik mücadelede etkin şekilde nasıl kullanılabilir? Şu an kimi zararlıların mevcut biyotipleri, *Wolbachia* ile enfekteli midir? Ya da tür ve biyotiplerin oluşumunda *Wolbachia* rol oynamakta mıdır? Sıtma mikro-bunu taşıyan vektörler, *Wolbachia* ile enfekteli olduğunda yaşam süresinin %50 azaldığı, bu da

hastalığın taşınmasını %80-100 oranında azalttığına göre, *Wolbachia* ile bulaştırılacak olan vektörlerin patojen taşıma oranı azaltılabilir mi?

KAYNAKLAR

1. Bandi, C., B. Slatko and S. L. O'neill, 1999. *Wolbachia* Genomes and the Many Faces of Symbiosis. *Parasitology Today* 15(11):428-429.
2. _____, A. M. Dunn, G. D. D., Hurst and T. Rigaud, 2001. Inherited Microorganisms, Sex-specific Virulence and Reproductive Parasitism. *Trends in Parasitology* 17(2)
3. Charlat, S. and H. Merçot, 2000. News and Comment Trends. *Trends in ecology and evolution* 15(11): 438-440.
4. Dobson, S. L., K. Bourtris, H. R. Braig., B. F. Jones, W. Zhou, F. Rousset, and S. O'neill, 1999. *Wolbachia* Infections are Distributed Throughout Insect Somatic and Germ Line Tissues. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 29: 153-160.
5. _____, E.J. Marsland, Z. Veneti., K. Bourtzis and S.L. O'Neill, 2002. Characterization of *Wolbachia* Host Cell Range Via the in Vitro Establishment of Infections. *Applied and Environ. Microbiology* 68(2):656-660.
6. Doran T. and R. Moore, 2001. Application of the Reproductive Parasite *Wolbachia* to the Biological Control of Flystrike. *Proceedings of the FLICS Conference, Launceston.*
7. Gorham, C. and Q. Fang, 2001. The Prevalence of *Wolbachia* in the Lone Star Tick, *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) In Coastal Georgia and the Temporal Infection Rate at One Location. *65th Annual Meeting of Georgia Entomological Society, April 4-6, 2001, Gainesville, GA.*
8. Gotoh, T., H. Noda and X. Y. Hong, 2003. *Wolbachia* Distribution and Sitoplasmic Incompatibility Based on a Survey of 42 Spider Mite Species (Acari: Tetranychidae) in Japan. *Heredity* 91: 208-216.
9. Hong, X. Y., T. Gotoh and H. Noda, 2002. Sensitivity Comparison of PCR for Detecting *Wolbachia* in Spider Mites. *App. Entomol. Zool.* 37(3): 379-383.
10. Hurst, G.D.D. and F.M. Jiggins, 2000. Male-killing Bacteria in Insects: Mechanisms, Incidence, and Implications. *Emerging Infectious Diseases* 6(4):329-336.
11. Kaiser, J.O., 2002. Timing is Everything for *Wolbachia* Hosts. *Science* 296:999.
12. McGraw, E. A. and S. L. O'neill, 1999. Evolution of *Wolbachia* Pipientis Transmission Dynamics in Insects. *Trends in Microbiology* 7(7): 297-302.
13. Sinkins S. P. and L. S. O'neill, 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. pp: 271-284.
14. Werren, J. H., D. Windsor and L. Guo, 1995. Distribution of *Wolbachia* Among Neotropical Arthropods. *Proceedings of the Royal Society of London Ser. B. Biol.Sci.* 262: 197-204.
15. Werren, J.H., 1997. Biology of *Wolbachia*. *Annual Review of Entomology* 42: 587-609.
16. Zimmer. C., 2001. *Wolbachia*: A Tale of Sex and Survival. *Science* 292: 1092-1095.
17. <http://130.102.150.4/about.cfm>