

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**RADYASYONLA KISIRLAŞTIRILMIŞ *CERATITIS*
CAPITATA (WIEDEMANN) (DIPTERA: TEPHRITIDAE)
ERGİNLERİNİN MİKROFLORASI VE BAZI BİYOLOJİK
ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE RADYASYONUN ETKİSİ**

**Hazırlayan
Sevgi BAKIR**

**Danışman
Prof. Dr. Aydın TUNÇBİLEK**

Doktora Tezi

**Mart 2018
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**RADYASYONLA KISIRLAŞTIRILMIŞ *CERATITIS*
CAPITATA (WIEDEMANN) (DIPTERA: TEPHRITIDAE)
ERGİNLERİNİN MİKROFLORASI VE BAZI BİYOLOJİK
ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE RADYASYONUN ETKİSİ
(Doktora Tezi)**

**Hazırlayan
Sevgi BAKIR**

**Danışman
Prof. Dr. Aydın TUNÇBİLEK**

**Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından FDK-2015-5757 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Mart 2018
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Sevgi BAKIR



YÖNERGEYE UYGUNLUK

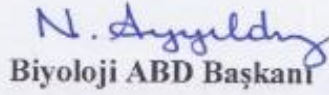
“Radyasyonla Kısırlaştırılmış *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) Erginlerinin Mikroflorası ve Bazı Biyolojik Özellikleri Üzerine Radyasyonun Etkisi” adlı Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

**Hazırlayan**

Sevgi BAKIR

**Danışman**

Prof. Dr. Aydın TUNÇBİLEK

**Biyoloji ABD Başkanı**

Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ

KABUL VE ONAY

Prof. Dr. Aydın TUNÇBİLEK danışmanlığında Sevgi BAKIR tarafından hazırlanan “Radyasyonla Kısırlaştırılmış *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) Erginlerinin Mikroflorası ve Bazı Biyolojik Özellikleri Üzerine Radyasyonun Etkisi” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji** Anabilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

Gün / Ay / Yıl

JÜRİ:

Danışman : Prof. Dr. Aydın Ş. TUNÇBİLEK
 Üye : Prof. Dr. Abdurrahman AYVAZ
 Üye : Yrd. Doç. Dr. Ebru SAATÇİ
 Üye : Prof. Dr. Gazi GÖRÜR
 Üye : Doç. Dr. Fahriye ERCAN



ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 13/03/2018 tarih ve 2018/12-20 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



13/03/2018
 Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ/TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca farklı bakış açıları ve bilimsel katkılarıyla beni aydınlatan, danışman hocam Sayın Prof. Dr. Aydın TUNÇBİLEK'e teşekkür ederim.

Tez İzleme Komitesi toplantılarında bilgi ve desteklerinden faydalandığım Prof. Dr. Abdurrahman AYVAZ ve Yrd. Doç. Dr. Ebru SAATÇI'ye, her türlü destek ve yardımlarından dolayı ERÜ Veterinerlik Fakültesi Öğretim Üyeleri Prof.Dr. Fuat AYDIN ve Doç. Dr. Seçil ABAY'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında yardımlarından dolayı Sayın Yrd. Doç. Dr. Tayfun KAYA'ya, sevgili İlhan DERİN, Hasne BİLBİL, Güler TOPRAK ve Dr. Dilek KAAAN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca ihmal ettiğim, beni anlayışla ve sabırla karşılayan eşim Orhan ve minik adamım Tark ile tatlı kızım İnci'ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca eğitim ve öğretim hayatım boyunca bana güvenen, inanan ve her türlü desteğini esirgemeyen canım annem Hacer, babam Mustafa ve kardeşim Serap Övünç KAHRAMAN'a saygı, sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Bu tez çalışması Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (Proje No:

FDK-2015-5757) ve Uluslar Arası Atom Enerjisi (IAEA) - Dünya Gıda Örgütü (FAO) (CRP), (Proje No:TUR 17071)'nın maddi destekleri ile gerçekleştirilmiştir.

Sevgi BAKIR

Mart 2018, KAYSERİ

**RADYASYONLA KISIRLAŞTIRILMIŞ *CERATITIS CAPITATA*
(WIEDEMANN)(DIPTERA: TEPHRITIDAE) ERGİNLERİNİN
MİKROFLORASI VE BAZI BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE
RADYASYONUN ETKİSİ**

Sevgi BAKIR

**Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Doktora Tezi, Şubat 2018
Danışman: Prof. Dr. Aydın TUNÇBİLEK**

ÖZET

Ceratitis capitata (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), Akdeniz meyve sineği (AMS) dünya üzerinde çok geniş bir alana yayılmış, önemli meyve zararlılarından biridir. Kısır Böcek Salıverme Tekniği (KBT), *C. capitata* mücadelesinde yaygın olarak kullanılan çevre dostu bir yöntemdir. Fakat bununla birlikte radyasyon ile kısırlaştırma böceklerin bazı özelliklerini olumsuz yönde etkilemektedir. Bunların en önemlilerinden biri sineğin mikrobiyotasıdır.

Çalışmamızda *C. capitata* bağırsak bakterileri kültüre dayalı yöntemle belirlenmiştir. Bağırsak florasında Proteobacteria ve Firmicutes şubelerine ait türler tespit edilmiştir. Enterobacteriaceae erginlerde en yoğun görülen familya olarak bulunmuştur. Doğal ergin popülasyonu mikrobiyotasının laboratuvar erginlerine göre tür bakımından daha zengin olduğu saptanmıştır. Işınlanmamış ve ışınlanmış (100 Gy) erginlerde ise radyasyonun bağırsak florasına etkileri belirgin olarak ortaya konulamamıştır. Ömür uzadıkça tür sayısı ve türlerin birbirine oranı değişiklik göstermiştir. Sonuç olarak *C. capitata* bağırsaklarında toplamda sekiz cinse ait dokuz bakteri türü belirlenmiştir. Bunlar; *Klebsiella oxytoca*, *K. pneumoniae*, *Pantoea dispersa*, *Providencia vermicola*, *Morganella morganii*, *Enterobacter* sp., *Lactococcus lactis*, *Acinetobacter calcoeticus* ve *Stenotrophomonas maltophilia*’dır.

C. capitata popülasyonlarının hiçbirinde *Wolbachia*, *Arshenophonus*, *Cardinium*, *Rickettsia* ve *Spiroplasma* gibi üreme organı endosimbiyontlarına rastlanmamıştır.

Anahtar Kelimeler: *Ceratitis capitata*, KBT, radyasyon, endosimbiyontlar, bağırsak bakterileri, üreme organı bakterileri, *Wolbachia*.

**EFFECT OF RADIATION ON STERIL *CERATITIS CAPITATA* WIEDEMANN
(DIPTERA: TEPHRITIDAE) ADULTS MICROFLORA AND SOME
BIOLOGICAL CHARACTERISTICS**

Sevgi BAKIR

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

PhD Thesis, February 2018

Supervisor: Prof. Dr. Aydın Ş. TUNCBILEK

ABSTRACT

Ceratitis capitata (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), the Mediterranean fruit fly (Medfly) is known to be the most important fruit pest and it is widely spread in the world. The sterile insect technique (SIT) is an environmentally friendly method widely used in *C. capitata* control. Radiation-induced sterilization adversely effects certain properties of insects. The most important of which is the microbiota of flies.

In our study, *C. capitata* gut bacteria were determined by cultere-based method. It was found that the gut flora contained the species belonging to Proteobacteria and Firmicutes. The most abundant family in adults was Enterobacteriaceae. The wild population microbiota was found to be richer than the laboratory population. The effects of radiation on the gut flora of adults were not clearly evident in the unirradiated and irradiated (100 Gy). The number of bacteria species and the ratio of species varied as the lifespan increased. Totally eight genera and nine species were identified in *C. capitata* samples. These are *Klebsiella oxytoca*, *K. pneumoniae*, *Pantoea dispersa*, *Providencia vermicola*, *Morganella morganii*, *Enterobacter* sp., *Lactococcus lactis*, *Acinetobacter calcoaeticus* and *Stenotrophomonas maltophilia*.

None of the *C. capitata* populations had reproductive endosymbionts such as *Wolbachia*, *Arshenophonus*, *Cardinium*, *Rickettsia* and *Spiroplasma*.

Keywords: *Ceratitis capitata*, SIT, radiation, endosymbionts, gut bacteria, reproductive bacteria.

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK.....	ii
KABUL VE ONAY	iii
ÖNSÖZ/TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
GİRİŞ	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Karantina Zararlısı <i>Ceratitidis capitata</i> (Wiedemann), Akdeniz Meyve Sineği	3
1.1.1. <i>C. capitata</i> 'nın Taksonomik Sınıflandırması.....	4
1.1.2. <i>C. capitata</i> 'nın Biyolojisi ve Zararları	5
1.1.3. <i>C. capitata</i> 'nın Türkiye' deki Dağılımı	8
1.2. <i>C. capitata</i> ile Mücadele	10
1.2.1. <i>C. capitata</i> ile Mücadelede Kullanılan Yöntemler	10
1.2.1.1. Fiziksel Mücadele Yöntemleri	10
1.2.1.2. Kimyasal Mücadele Yöntemleri	10
1.2.1.3. Biyolojik Mücadele Yöntemleri.....	11
1.2.1.3.1. Kısır Böcek Salıverme Tekniği (KBT) (Sterile Insect Technique, SIT).....	11
1.2.1.3.1.1. KBT' de Klasik Genetik Uygulamaları	14
1.2.1.3.1.2. KBT' de Modern Genetik Uygulamaları	16
1.2.1.3.1.3. Kısır Böcek Salıverme Tekniği ve Simbiyotik Bakteriler	17
1.2.1.4. <i>C. capitata</i> ile Mücadelede Yeni Yaklaşımlar	18

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2.1. <i>Ceratitis capitata</i> Kültürü	21
2.1.1. <i>C. capitata</i> 'nın Toplanması.....	21
2.1.2. Larva Besiyeri	22
2.1.3. Böceklerin Işınlanması.....	22
2.2. Bağırsağın Çıkarılması.....	23
2.3. Kültüre Dayalı Yöntemle Bakterilerin Belirlenmesi	23
2.4. Üreme organı Simbiyontlarının Taranması.....	24
2.4.1. Total DNA İzolasyonu.....	24
2.4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	25
2.4.3. Agaroz Jel Elektrophorezi ile Görüntüleme	26

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Radyasyonun Ergin Çıkışına Etkisi	27
3.2. Bağırsak Bakterileri	28
3.2.1. Laboratuvarıda Yetiştirilen <i>C. capitata</i> Örneklerinin Bağırsak Bakterileri Taraması	28
3.2.2. Mersin ve Antalya Doğal Popölasyonlarına ait <i>C. capitata</i> Örneklerinin Bağırsak Bakterileri Taraması	36
3.2.3. <i>C. capitata</i> ergin Bağırsaklarından İzole Edilen Bakteri 16S rDNADizilerinin Filogenetik Analizi	52
3.2.4. <i>C. capitata</i> Ergin Bağırsaklarından İzole Edilen Bakteriler Arasındaki Genetik Uzaklığın Hesaplanması	54
3.3. Üreme organı Bakterileri	58
3.3.1. <i>Wolbachia</i> Taraması	58
3.3.2. <i>Spiroplasma</i> Taraması.....	59
3.3.3. <i>Cardinium</i> Taraması	60

3.3.4. <i>Arsenophonus</i> Taraması	61
3.3.5. <i>Rickettsia</i> Taraması	63

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1. Tartışma	64
4.2. Sonuç ve Öneriler.....	71
KAYNAKÇA.....	73
ÖZGEÇMİŞ	88



KISALTMALAR ve SİMGELER

AMS:	Akdeniz meyve sineği, <i>Ceratitis capitata</i> (Wied.)
CTAB:	Cetil trimetil amonium bromide
°C:	Santigrat derece
DNA:	Deoksiribonükleik asit
dNTP:	deoksiribo-Nükleotid Tri-Fosfat
EDTA:	Etilen diamin tetra asetik asit
FAO:	Food and agriculture organization
GSS:	Genetic sexing strains
gr:	Gram
KBT:	Kısır böcek salıverme tekniği (Sterile insect technique, SIT)
K2P:	Kimura-2-parametre
l:	Litre
µl:	Mikrolitre
ml:	Mililitre
mg:	Miligram
ML:	Maksimum Likelihood
NCBI:	National center for biotechnology information
NJ:	Neighbor Joining metodu
PBS:	Phosphate buffer saline
PCR:	Polimeraz zincir reaksiyonu
tsl:	temperature-sensitive lethal gene
TAE:	Tris, Glasial Asetik Asit, EDTA
UBT:	Uyumsuz böcek tekniği (Incompatible insect technique, IIT)

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. <i>C. capitata</i> örneklerinin toplandığı lokasyonlar ve koordinatları.....	21
Tablo 2.2. <i>C. capitata</i> örneklerinde üreme organı simbiyont taramasında kullanılan primerler.	26
Tablo 3. 2.1 <i>Wolbachia</i> taraması yapılan <i>C. capitata</i> örnekleri.	58
Tablo 3. 3. <i>Spiroplasma</i> taraması yapılan <i>C. capitata</i> örnekleri.....	59
Tablo 3.4. <i>Cardinium</i> taraması yapılan <i>C. capitata</i> örnekleri.	61
Tablo 3.6. <i>Rickettsia</i> taraması yapılan <i>C. capitata</i> örnekleri	63



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Dünya’da <i>C. capitata</i> dağılımı [14].	3
Şekil 1.2. <i>C. capitata</i> ergini A) Erkek B) Dişi.	5
Şekil 1.3. <i>C. capitata</i> yumurtası.	5
Şekil 1.4. <i>C. capitata</i> larvası.	6
Şekil 1.5. <i>C. capitata</i> pupası.	6
Şekil 1.6. <i>C. capitata</i> ’nın yaşam döngüsü ve mikrobiyota değişimi.	8
Şekil 1.7. Türkiye’de turunçgil üretimi ve <i>C. capitata</i> dağılımı [23, 26].	9
Şekil 1.8. GSS erkek pupaları doğal kahverengi renkte iken dişi pupalar mutant beyaz fenotiptedir.	15
Şekil 1.9. Sıcaklık hassas öldürücü mutasyon (tsl). [54].	15
Şekil 1.10. Dominant öldürücü mutasyonlar (RIDL) [63].	17
Şekil 1.11. Uyumsuz Böcek Tekniğinin şematik gösterimi [88].	20
Şekil 2.1. Ekim yapılmış kanlı agar petripleri.	23
Şekil 2.2. Saf kolonilerden elde edilen DNA izolatları.	24
Şekil 2.3. PCR çalışmaları için reaksiyon karışımının yapıldığı steril kabin.	25
Şekil 3.1. Farklı dozlardaki radyasyonun <i>C. capitata</i> pupalarından ergin çıkışı ve cinsiyet oranı üzerine etkisi.	27
Şekil 3.2. Laboratuvarda yetiştirilen <i>C. capitata</i> erginlerinin şube düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu.	28
Şekil 3.3. Laboratuvarda yetiştirilen <i>C. capitata</i> erginlerinin bağırsak bakteri yoğunluğu.	29
Şekil 3.4. <i>C. capitata</i> laboratuvar ırkı ışınlanmamış 1 günlük erginlerinin aile düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu(%).	29
Şekil 3.5. <i>C. capitata</i> laboratuvar ırkı ışınlanmış 1 günlük erginlerinin aile düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	30
Şekil 3.6. <i>C. capitata</i> laboratuvar ırkı ışınlanmamış 1 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	30

Şekil 3.7. <i>C. capitata</i> laboratuvar ırkı ısıtılmış 1 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	31
Şekil 3.8. <i>C. capitata</i> laboratuvar ırkı ısıtılmamış 5 günlük erginlerinin ailya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	31
Şekil 3.9. <i>C. capitata</i> laboratuvar ırkı ısıtılmış 5 günlük erginlerinin ailya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	32
Şekil 3.10. <i>C. capitata</i> laboratuvar ırkı ısıtılmamış 5 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	32
Şekil 3.11. <i>C. capitata</i> laboratuvar ırkı ısıtılmış 5 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	33
Şekil 3.12. <i>C. capitata</i> laboratuvar ırkı ısıtılmamış 15 günlük erginlerinin ailya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	33
Şekil 3.13. <i>C. capitata</i> laboratuvar ırkı ısıtılmamış 15 günlük erginlerinin ailya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	34
Şekil 3.14. <i>C. capitata</i> laboratuvar ırkı ısıtılmamış 15 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	34
Şekil 3.15. <i>C. capitata</i> laboratuvar ırkı ısıtılmış 15 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	35
Şekil 3.16. <i>C. capitata</i> laboratuvar erginlerinin tür düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	36
Şekil 3.17. Mersin ve Antalya popölasyonları ısıtılmamış ve ısıtılmış <i>C. capitata</i> erginlerinin Şube düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu.	36
Şekil 3.18. Mersin ve Antalya popölasyonu <i>C. capitata</i> erginlerinin bağırsak bakteri yoğunluğu.	37
Şekil 3.19. <i>C. capitata</i> Mersin popölasyonu ısıtılmamış 1 günlük erginlerinin ailya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	37
Şekil 3.20. <i>C. capitata</i> Mersin popölasyonu ısıtılmış 1 günlük erginlerinin ailya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	38
Şekil 3.21. <i>C. capitata</i> Mersin popölasyonu ısıtılmamış 1 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	38
Şekil 3.22. <i>C. capitata</i> Mersin popölasyonu ısıtılmış 1 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	39

Şekil 3.23. <i>C. capitata</i> Mersin popülasyonu ışınlanmamış 5 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	39
Şekil 3.24. <i>C. capitata</i> Mersin popülasyonu ışınlanmış 5 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	40
Şekil 3.25. <i>C. capitata</i> Mersin popülasyonu ışınlanmamış 5 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	40
Şekil 3.26. <i>C. capitata</i> Mersin popülasyonu ışınlanmış 5 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	41
Şekil 3.27. <i>C. capitata</i> Mersin popülasyonu ışınlanmamış 15 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	41
Şekil 3.28. <i>C. capitata</i> Mersin popülasyonu ışınlanmış 15 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	42
Şekil 3.29. <i>C. capitata</i> Mersin popülasyonu ışınlanmamış 15 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	42
Şekil 3.30. <i>C. capitata</i> Mersin popülasyonu ışınlanmış 15 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	43
Şekil 3.31. <i>C. capitata</i> Mersin popülasyonu erginlerinin tür düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	44
Şekil 3.32. <i>C. capitata</i> Antalya popülasyonu ışınlanmamış 1 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	44
Şekil 3.33. <i>C. capitata</i> Antalya popülasyonu ışınlanmış 1 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	45
Şekil 3.34. <i>C. capitata</i> Antalya popülasyonu ışınlanmamış 1 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	45
Şekil 3.35. <i>C. capitata</i> Antalya popülasyonu ışınlanmış 1 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	46
Şekil 3.36. <i>C. capitata</i> Antalya popülasyonu ışınlanmamış 5 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	46
Şekil 3.37. <i>C. capitata</i> Antalya popülasyonu ışınlanmış 5 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	47
Şekil 3.38. <i>C. capitata</i> Antalya popülasyonu ışınlanmamış 5 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	47

Şekil 3.39. <i>C. capitata</i> Antalya popülasyonu ısıtılmış 5 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	48
Şekil 3.40. <i>C. capitata</i> Antalya popülasyonu ısıtılmamış 15 günlük erginlerinin ailesi düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	48
Şekil 3.41. <i>C. capitata</i> Antalya popülasyonu ısıtılmış 15 günlük dişilerinin ailesi düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	49
Şekil 3.42. <i>C. capitata</i> Antalya popülasyonu ısıtılmamış 15 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	49
Şekil 3.43. <i>C. capitata</i> Antalya popülasyonu ısıtılmış 15 günlük dişilerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	50
Şekil 3.44. <i>C. capitata</i> Antalya popülasyonu erginlerinin tür düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).	51
Şekil 3.45. <i>C. capitata</i> erginlerinden izole edilen bakterilerin kanlı agar petri görüntüleri.	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Şekil 3.46. <i>C. capitata</i> ergin bağırsaklarından izole edilen bakterilere ait filogenetik ilişkiyi gösteren K2P model ve NJ metodu ile oluşturulan ağaç.	53
Şekil 3.47. <i>C. capitata</i> ergin bağırsaklarından izole edilen bakterilere ait filogenetik ilişkiyi gösteren K2P model ve MLmetodu ile oluşturulan ağaç.	54
Şekil 3. 48. <i>Wolbachia</i> primerleri ile gerçekleştirilen amplifikasyon sonrasında elde edilen PCR ürünlerinin jel görüntüsü.	59
Şekil 3.49. <i>Spiroplasma</i> primerleri ile gerçekleştirilen amplifikasyon sonrasında elde edilen PCR ürünlerinin jel görüntüleri.	60
Şekil 3.50. <i>Cardinium</i> primerleri ile gerçekleştirilen amplifikasyon sonrasında elde edilen PCR ürünlerinin jel görüntüleri.	61
Şekil 3.51. <i>Arsenophonus</i> primerleri ile gerçekleştirilen amplifikasyon sonrasında elde edilen PCR ürünlerinin jel görüntüsü.	62
Şekil 3.52. <i>Rickettsia</i> primerleri ile gerçekleştirilen amplifikasyon sonrasında elde edilen PCR ürünlerinin jel görüntüsü.	63

GİRİŞ

Akdeniz meyve sineği, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera; Tephritidae), dünyada tropikal ve ılıman kuşaktaki ülkelerde yayılış gösteren, ekonomik öneme sahip yaklaşık 300 konukçusu olan polifag bir karantina zararlısıdır [1]. *C. capitata*'nın bu biyolojik başarısı, konukçu aralığının ve diğer meyve sineklerine nispeten sıcaklık toleransının geniş olmasına bağlıdır [2]. Akdeniz meyve sineğinin ekonomik önemi, ürün verimi ve kalitesini etkileyerek meyve ihracatını tehdit etmesinden kaynaklanmaktadır. Zararlıının ülkemizdeki en önemli konukçusu limon haricindeki diğer turunçgillerdir. Ayrıca, Trabzon hurması, kayısı, ayva, şeftali, incir, nar ve avokado zarar yaptığı diğer konukçularıdır [3, 4].

C. capitata mücadelesinde kimyasal yöntemler oldukça fazla kullanılmaktadır [5]. Çevre ve insan sağlığına olumsuz etkileri sebebiyle araştırmacılar kimyasal mücadeleye alternatif olabilecek diğer mücadele yöntemleri geliştirmeye yönelmiştir. Bu yöntemlerin en önemlisi biyolojik mücadeledir [6]. Biyolojik mücadele kapsamında uygulanan kısır böcek salıverme tekniği, kısırlaştırılan zararlı böceklerin kitle halinde üretilerek doğaya salıverilmesi olarak özetlenebilir. Salıverilen kısır böcekler doğal erginlerle çiftleşerek döl veriminin azalmasına hatta zararlıının yok olmasına neden olmaktadır [7]. Kısır böcek salıverme tekniği, *C. capitata*'nın da içinde olduğu, birçok böceğe başarılı bir şekilde uygulanmaktadır. Böceklerin kısırlaştırılmasında gama radyasyon kaynağı kullanılmaktadır. Işınlama, kısır erkek bireylerin çiftleşme performansı ve bazı özelliklerinde azalmaya neden olmaktadır [8]. Bu değişikliklerin, radyasyonun böcek mikroflorasını etkilemesinden ileri geldiği düşünülmektedir. Zararlıının mikroflorasında bulunan simbiyotik bakteriler, üreme ve beslenmeyi etkileyerek, doğrudan veya dolaylı olarak konukçu biyolojisine etki edebilmektedir [9]. Kısır böcek salıverme tekniği kapsamında simbiyotik organizmaların kullanımı değişik basamaklarda gerçekleştirilebilmektedir. Üremeyi

etkileyen simbiyontlarla kısırlık oluşturularak radyasyonun etkilerinden kaçınılması; bağırsaktaki simbiyontların kısır böceklerin yetiştirilmesinde probiyotik olarak kullanılması bunlara örnek verilebilir [10].

Çalışmamızda, doğadan toplanan ve laboratuvarında yetiştirilen *C. capitata* erginlerinin üreme ve sindirim sistemlerindeki bakteri florası ve ışınlamanın bağırsak florasına etkileri araştırılmıştır. *C. capitata* bağırsak bakterilerinin karakterizasyonu ve bunların radyasyon etkisiyle değişimi açısından Türkiye’de daha önce çalışma yapılmamıştır ve dünyada ise bu alanda çalışmalara yakın zamanda başlanmıştır.

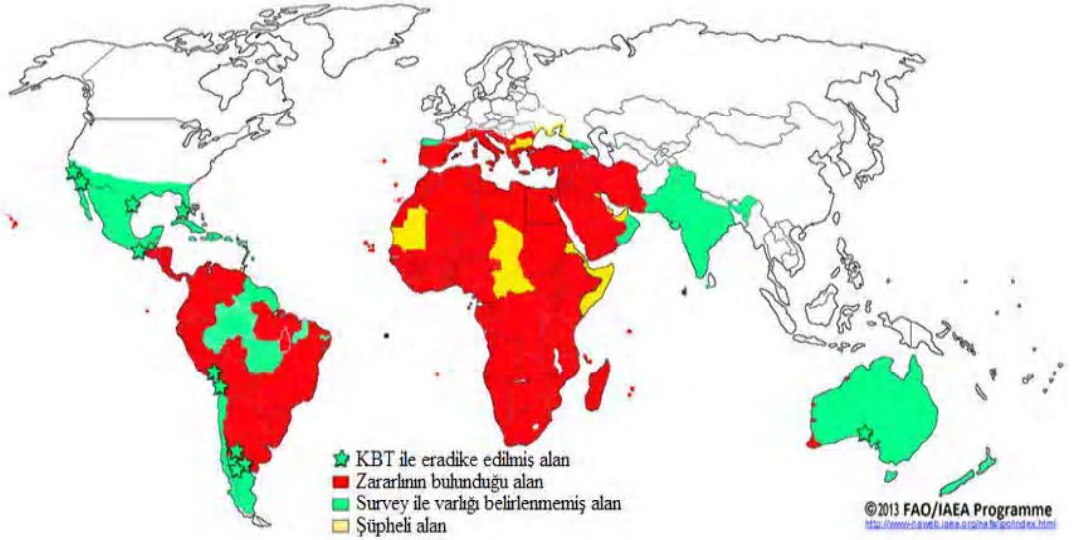
Çalışmamızdan elde edilen verilerin *C. capitata*’nın kitle üretiminde ve ışınlama sonrasında bakteri değişikliğini belirleyerek doğal bireylerle rekabet edebilir duruma getirebilmek için yapılacak çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Karantina Zararlısı *Ceratitis capitata* (Wiedemann), Akdeniz Meyve Sineği

Akdeniz Meyve Sineği (AMS) *Ceratitis capitata* (Wiedemann)'nın anavatanı sahra-altı Afrika olarak bilinmektedir. Buradan Asya, Avusturalya ve Amerika'ya kadar yayılmıştır [11]. Başlıca konukçuları Myrtaceae, Rosaceae, Rutaceae, Sapotaceae ve Solanaceae familyalarına ait bitkilerdir. Ülkemizdeki konukçuları ise turunçgiller, kayısı, incir, Trabzon hurması, ayva, elma, şeftali, nar ve avokadodur [3, 4, 12,13].



Şekil 1.1. Dünya’da *C. capitata* dağılımı [14].

Günümüzde, doğal ve organik yiyecekler ile beslenmeye olan yönelim dikkat çekmektedir. Bundan dolayı anti kanserojen, lif ve C vitamini içeriği yüksek, mineral madde yönünden zengin meyvelere ilgi oldukça yüksektir. Ülkemizde öncelikle turunçgiller olmak üzere bu özelliğe sahip Trabzon hurması, nar, incir ve avokado gibi meyvelerin üretimi ve ihracatı gerçekleştirilmektedir. *C. capitata* ticari değeri yüksek buna benzer meyveleri enfekte edebilmektedir. Diğer meyve sinekleri ile karşılaştırıldığında sıcaklık toleransı daha yüksektir. Bu özelliklerinden dolayı Dünya genelinde birinci derecede ekonomik öneme sahip bir zararlıdır. Enfekte bir meyvenin görülmesi ürün ihracatının gerçekleştirilememesine sebep olmaktadır. İhracat ürünleri için mevcut rekabet gücünü korumak ve daha da arttırmak, iç piyasaya sağlıklı ürün sunmak için bu karantina zararlısı ile etkin bir şekilde mücadele gerçekleştirilmelidir [2, 15].

1.1.1. *C. capitata*'nın Sınıflandırması

C. capitata Diptera takımına ait Tephritidae familyasının bir üyesidir.

Domain: Eukaryota

Alem: Animalia

Bölüm: Arthropoda

Alt Bölüm: Uniramia

Sınıf: Insecta

Takım: Diptera

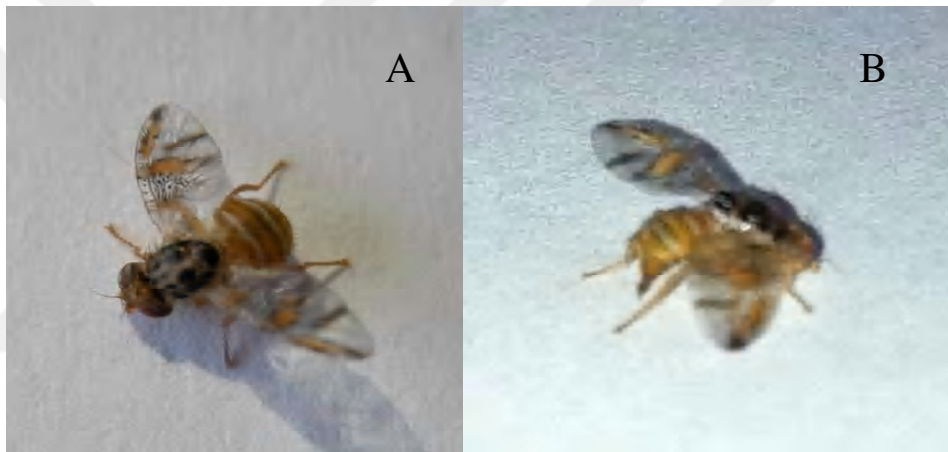
Familya: Tephritidae

Cins: *Ceratitis*

Tür: *Ceratitis capitata* [2]

1.1.2. *C. capitata*'nın Biyolojisi ve Zararları

Ergin bireyler 3,5–6 mm boyundadır. Vücut rengi sarı-kahverengidir. Baş kısmı sarı, parlak yeşil gözlerin kenarları kırmızıdır. Bacakları kırmızı-sarıdır, üzerinde kıllar bulunur[2].Toraks bölgesi abdomene göre daha açık renktedir. Toraksın ikinci segmentinin alt yarısı ile dördüncü segmentin alt kısmının üçte ikisini kapsayan gri renkte iki şerit vardır [16]. Kanatları üzerinde siyah ve mat kahverengi çizgiler ve lekeler bulunmaktadır (Şekil 1.2). Dişilerin baş kısmında ocellar seta bulunurken erkeklerde spatulat orbital seta bulunur. Dişilerde abdomen sonunda ovipozitor vardır. Erkeklerin abdomen sonu ise küttür [2, 17].



Şekil 1.2. *C. capitata* ergini A) Erkek B) Dişi.

Yumurtalar yaklaşık 1 mm uzunluğunda, parlak beyaz renkte, silindirik, mekik şeklindedir (Şekil 1.3). Yumurtalar bırakıldıktan sonra 1-4 gün içinde açılır. Optimum açılma sıcaklığı 25 °C'dir [18].



Şekil 1.3. *C. capitata* yumurtası.

Larvaları beyaz sarımtırak renklidir. Yaklaşık 4-8 mm boyunda olup üye taşımazlar. Baş bölgesi abdomen bölgesinin son kısmına oranla göre daha ince ve hafif kıvrıktır (Şekil 1.4). Pupa açık veya koyu kahverengi, fıçı tiplidir. Yaklaşık 4-4,5 mm boyundadır (Şekil 1.5) [18].



Şekil 1.4. *C. capitata* larvası.



Şekil 1.5. *C. capitata* pupası.

C. capitata kış mevsimini genellikle toprakta pupa halinde geçirir. dir fakat ılıman yerlerde ağaç üzerindeki meyveler içerisinde larva veya ergin olarak kışlayabilir. Erginler iklim koşullarına göre bahar sonu-yaz başlangıcında sabah saatlerinde pupadan

çıkar ve rüzgârın da etkisiyle yaklaşık 2 kilometre gidebilirler. Erginler pupadan çıktıktan sonra 4-8 gün içinde eşeyssel olgunluğa erişirler fakat besin bulamazlarsa, çıkıştan 2-4 gün sonra ölürlür. Besin varlığında ve iklim koşulları uygun olduğunda bazı erginler 6-12 ay kadar yaşayabilir. Bulundukları alanda yaklaşık 3-4 ay boyunca konukçu meyvelerin olmadığı durumlarda, popülasyonları azalır. Konukçu varlığı ve iklim şartlarının devamlılığı, *C. capitata* popülasyonlarında artışa neden olmaktadır. Ergin dişiler pupadan çıktıktan yaklaşık 5-10 gün sonra yumurta koymaya başlar. Hava sıcaklığının 16°C'nin üzerinde olduğu günlerde, yumurtalarını olgun meyve kabuğunun 1-5 mm altına bırakır. Bir dişi tek seferde 1-10 tane olmak üzere, günde iki kere yumurtlar. Ömrü boyunca ortalama 300 yumurta bırakır. Koyulan yumurtalar ılıman hava şartlarında (25°C'de) 1,5-3 gün içerisinde açılır. Embriyo gelişimi 10°C'nin altında durur [16].

Larvalar yumurtadan çıkınca, meyvenin mezokarpına doğru ilerler ve burada beslenerek 3 larva dönemi geçirirler. Larva dönemleri meyve çeşidi ve ortam sıcaklığına bağlı olarak 6-26 (25°C'de yaklaşık 15 gün) gün sürer. 10°C'nin altında larval gelişim gerçekleşmez. Su oranının yüksek olması nedeniyle, olgunlaşmış meyvelerde yarı ham meyvelere göre yumurta ve larvalarda daha yüksek oranda ölümler meydana gelir. 3. dönemin sonundaki larvalar meyveden ayrılarak toprağa atlar ve 2-7 cm derinlikte pupa haline dönüşür. Pupaların açılması büyük oranda toprak nemi ve sıcaklığına bağlıdır. Pupa dönemi 25°C'de 6-13 gün sürer. Pupalar 10°C'nin altında gelişemez ve 2°C'nin altındaki sıcaklıklarda ise bir haftadan daha uzun süre canlı kalmaz. Ergin çıkışı toprak sıcaklığı 20°C'nin üzerine çıktığında ve nem oranı yaklaşık %70 olduğunda görülmektedir [18].

Akdeniz meyve sineği bir döngüsünü konukçu ve sıcaklığa bağlı olarak 2-4 haftada tamamlar. Ergin gelişimi için en uygun iklim şartları 16-32°C sıcaklık ve %75-85 nisbi nemdir. Eşeyssel olgunluğa ulaşmış dişiler 16°C'nin altındaki sıcaklıklarda yumurta bırakmazlar. İklim şartlarına bağlı olarak yılda 4-9 döl verebilen *C. capitata* erginlerinin dişi:erkek oranı 1:1 olarak bildirilmiştir [17-19].

C. capitata'nın yaşam döngüsünde bağırsak bakteri çeşitliliği ve sayısının en yüksek olduğu dönem larva ve ergin evreleridir. Pupa evresinde beslenme olmamasına bağlı olarak bağırsakta bakteri çeşitliliği ve sayısı diğer evrelere oranla daha azdır [20].



Şekil 1.6. *C. capitata*'nın yaşam döngüsü ve mikrobiyota değişimi.

C. capitata konukçularında, larvaların meyve mezokarpında beslenmesi, enfekte meyveleri sekonder enfeksiyonlara açık hale getirmesi, sonuçta meyve dokularında çürüme gerçekleşmesi şeklinde zararlara neden olmaktadır [16, 18, 19].

1.1.3. *C. capitata*'nın Türkiye'deki Dağılımı

Ülkemiz, kaliteli turunçgil üretim bakımından uygun ekolojik koşullara sahiptir [21]. Turunçgil üretiminde ilk sırayı 32 milyon tonla Çin almakta olup, bu ülkeyi Brezilya ve A.B.D izlemektedir. Ülkemiz FAO 2014 yılı verilerine göre 3,7 milyon tonla turunçgil üretiminde 8. sırada yer almaktadır. Ürün bazında; mandarin üretiminde 2014 FAO verilerine göre ülkemiz 4.sırada, greyfurt ve limonda 8. ve portakalda ise 10. sırada yer almaktadır [22]. İhracatta ise ülkemiz limonda ikinci sırada, mandarin ve greyfurtta üçüncü, portakalda ise dördüncü sırada gelmektedir. Ülkemizde turunçgillerin % 99'u Ege ve Akdeniz kıyılarında üretilmektedir. Turunçgil üretiminin; % 85'i Çukurova ve Antalya yöresinde, % 14'ü İzmir ve civarında, % 1'lik kısmı da Karadeniz'de yapılmaktadır [23].

Türkiye geneli yaş meyve sebze ihracı içinde turunçgil ihracatı miktar olarak yaş meyve sebze ürünleri içinde % 45'lik bir payla en önemli alt grubu oluşturmaktadır. 2015

yılında en fazla turunçgil % 33'lük bir pay ile Rusya Federasyonu'na ihraç edilmiştir. Rusya Federasyonu'nu sırası ile Irak, Ukrayna, Suudi Arabistan, Romanya, Almanya, Polonya, Gürcistan, Sırbistan ve Bulgaristan takip etmektedir[24].

Turunçgil üretimi ve ihracatı verileri incelendiğinde ürünün büyük bir kısmının ihraç edilemediği görülmektedir. İhracatın gerçekleşememe sebeplerinden biri *C. capitata*'dır. *C. capitata* ihracatta toleransı '0' olan bir dış karantina zararlısıdır. İhraç edilecek ürünlerden birinin enfekte olması tüm ürünün geri çevrilmesine sebep olmaktadır. Turunçgiller olgunlaşmadan önce Trabzon hurması, şeftali, nektarin, nar, avokado, incir, yenidünya ve kayısıyı enfekte ederek döngüsünü tamamlamaktadır. Bu sebeple diğer yaş meyve ihracatını da kötü etkilemektedir [25].

C. capitata'nın ana konukçusu olan turunçgillerin ve diğer bazı konukçularının yetiştirilebildiği Karadeniz bölgesinde, iklimi sebebiyle zararlının gelişemediği bildirilmiştir [26]. Kaya *et al.* [27] yaptıkları çalışmada Doğu Karadeniz bölgesinde *C. capitata* varlığını belirlemiş ve geliştirdikleri modelleme sonucunda Karadeniz havzasında gelecekte *C. capitata* için uygun alanların oluşacağını belirtmişlerdir.



Şekil 1.7. Türkiye'de turunçgil üretimi ve *C. capitata* dağılımı [23, 26].

1.2. *C. capitata* ile Mücadele

C. capitata, yukarıda bahsedildiği gibi yaş meyve ihracatını büyük oranda etkilemektedir. Bu sebeple zararlıyla mücadele oldukça önem kazanmaktadır. Yapılan kimyasal mücadele çalışmalarıyla etkin sonuç alınamamakta dolayısıyla daha farklı ve çevre dostu yöntemlerin kullanımı ön plana çıkmaktadır. Bu amaçla, mücadele için farklı yaklaşımlar geliştirilerek, zararlıların bakteri floraları tespit edilmektedir. Belirlenen mikroorganizmaların biyolojik mücadelede kapsamında kullanılması için stratejiler oluşturulmaktadır.

1.2.1. *C. capitata* ile Mücadelede Kullanılan Yöntemler

1.2.1.1. Fiziksel Mücadele Yöntemleri

C. capitata ile mücadelede zararlının yaz mevsimi başında ilk tespiti ve erginlerin faaliyete geçişinin saptanması oldukça önemlidir. Kültürel önlem olarak meyve bahçelerinin farklı çeşitlerden kurulması, özellikle turuncgil bahçeleri içine veya çevresine dikilen diğer konukçu meyve ağaçlarının uzaklaştırılması lazımdır. Meyveler olgunluğa erişir erişmez toplanmalıdır [28]. Ağaç üzerinde veya dökülmüş enfekte meyveler ile hasat artığı meyveler, besin kaynağı olduğu için toplanıp yok edilmelidir. Ergin çıkışını engellemek için kış sonu-ilkbahar başında toprak işlemesi yapılarak pupalar uzaklaştırılmalıdır [29].

1.2.1.2. Kimyasal Mücadele Yöntemleri

Dünya genelinde *C. capitata* mücadelesinde kimyasal yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Kimyasal yöntemler pek çok avantaja sahiptir. Ancak, pestisitlerin insan sağlığı ve çevreye zararlı etkileri gün geçtikçe daha iyi anlaşılmakta ve endişe yaratmaktadır [30, 31]. Kimyasal mücadele için geliştirilen değişik cezbediciler, insektisitlerle birlikte denenmiş ve zararlıya karşı etkili olanlar çeşitli çalışmalar ile ortaya çıkarılmıştır [30, 32]. Son zamanlarda *C. capitata* ile kimyasal mücadelede Ziray adlı yerli üretim cezbedici veya ithal cezbedicilerin, malathion 25 WP ile karıştırılarak kullanıldığı “zehirli yem-kısmi dal” ilaçlama metodu uygulanmaya başlanmıştır [33].

Yoğun ve bilinçsiz pestisit kullanımı sonucunda kimyasal maddeler gıda, toprak, su ve havaya bulaşmaktadır. Toprak ve bitkilere atılan pestisitler, yağmur suları ile yüzey akışıyla veya toprak içerisinde yıkanmak suretiyle taban suyu ve diğer su kaynaklarını kirletmektedir [34]. Ayrıca zararlılarda direnç gelişimi ve faydalı böcekleri yok etmesi diğer önemli dezavantajıdır. Örneğin, DDT'nin keşfinden önceki üründe meydana gelen kayıp % 7 iken, 1980'lerin sonunda bu oran % 13'e yükselmiştir [33]. Kullanılan pestisitlerin olumsuz etkileri sebebiyle [35] kimyasal mücadeleye karşı alternatif mücadele programlarının kullanımı yaygınlaşmıştır.

1.2.1.3. Biyolojik Mücadele Yöntemleri

Farklı ülkelerde *C. capitata* ile yapılan biyolojik mücadele çalışmalarında daha çok zararlının parazitoitleri kullanılmıştır. *C. capitata* parazitoitleri arasında *Fopius arisanus*, *Diachasma tryonii*, *D. kraussii*, *D. fullawayi*, *Opius longicandatus* var *malasiaensis*, *O. concolor*, *O. hirtus*, *O. perproximus*, *O. humilis*, *O. oophilus*, *O. vandenboshi*, *Coptera occidentalis* bulunmaktadır. Ayrıca entomopatojen fungus, *Metarhizium anisopliae* zararlının pupalarında patojendir [36, 37].

C. capitata'nın yayılışı, konukçuları, zararı ve mücadelesine yönelik pek çok çalışma yapılmıştır. Araştırmacılar kısır böcek salımı, kitlesel tuzaklama ve çiftleşmeyi önlemek amacıyla feromon tuzaklarının kullanılması gibi çeşitli mücadele yöntemlerini denemişlerdir [38-42].

Günümüzde biyolojik mücadele kapsamında zararlılara karşı böceklerde oldukça yaygın görülen endosimbiyontların kullanılması fikri dikkat çekmektedir. Böcekler ile mikroorganizmalar arasında patojeniteden mutualizme kadar değişen bir simbiyotik ilişki görülmektedir. Bakterilerin böcek metabolizması üzerindeki etkileri düşünülerek biyolojik mücadele kapsamında kullanımı üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Geliştirilen biyolojik mücadele esaslı entegre mücadele yöntemlerden biri de Kısır Böcek Salıverme Tekniği (KBT) (Sterile Insect Technique, SIT)'dir [43,44].

1.2.1.3.1. Kısır Böcek Salıverme Tekniği (KBT) (Sterile Insect Technique, SIT)

Bu teknik doğada bulunan zararlı popülasyonu içerisine kısırlaştırılmış çok sayıda birey salınması ve bu bireylerin doğal erginler ile çiftleştiğinde yeni döl verememesi sonucunda popülasyonun zarar eşiği altında tutulması esasına dayanır [45].

Böceklerin kısırlaştırılması fikri modern insektisitlerin ortaya çıkarılıp kullanmaya başlanmasından daha eskilere kadar uzanmaktadır. Kısırlaştırma ilk defa 1916'da *Lasioderma serricornis* (F.) (Sigara Böceği) üzerinde denenmiştir [46]. Daha sonraki yıllarda Knippling Amerikan Burgulu Yara Sineği (*Cochliomyia hominivorax*)'nin biyolojisi ve çiftleşme davranışlarını incelemiş ve dişi böceğin sadece bir defa çiftleştiğini tespit ettikten sonra erkek kısırlaştırma yöntemi ile bu böceğin kontrol altına alınabileceği sonucuna varmıştır. Knippling, belli ekolojik koşullarda böcek popülasyonunun her generasyonda her dişinin 5 dişi birey meydana getirebileceği varsayımından hareket ederek teorik modeller ortaya koymuştur. Bu modeller, iki uygulamayı içermektedir. Birincisi böceğin laboratuvar koşullarında yetiştirilmesi, kısırlaştırılması ve kısır böceklerin doğal popülasyondaki bireylerle rekabet edecek şekilde doğaya salınmasıdır. İkincisi ise doğal popülasyonun kısırlaştırılmasıdır [47,48]. Erkek kısırlaştırma tekniği ancak belirli böcekler, belirli koşullarda uygulanabilmektedir. Bu metodun arazide kullanılabilmesi için bazı temel konuların tam olarak bilinmesi gerekmektedir. Bunlar; böceğin ayrıntılı bir şekilde biyolojisinin; özellikle çiftleşme davranışlarının çok iyi belirlenmesi, böceğin popülasyonunun belirlenmesi için uygun bir yöntem saptanması, kitle halinde üretilen kısır böceklerin doğal bireyler ile rekabet edebilecek yeterlilikte olmasının sağlanması gibi konulardır [47].

Böcek kısırlaştırmada esas olarak kemosterilantlar ve radyasyon olmak üzere iki kaynak mevcuttur. Kemosterilantlar böcek türüne ve kimyasala bağlı olarak böceğin değişik evrelerinde etki göstermektedir. Kemosterilant uygulanan bir böcek yumurta koyamayabilir, bırakılan yumurtalar açılmayabilir, pupa meydana gelemeyebilir veya pupa ergine dönüşemeyebilir. Şimdiye kadar başarılı bir şekilde kullanılan kısırlaştırma, erkeğin sperminde dominant öldürücü mutasyonlar meydana getirilmesi esasına dayanmaktadır. Bu şekilde kısırlaştırılmış, fakat biyolojik aktivitesinde hiçbir değişikliğe uğramamış erkekler, normal erkekler gibi dişiye bulup çiftleşmekte, ancak döl verememektedir [49].

Böcekleri kısırlaştırmada X veya gamma ışınları gibi elektromanyetik radyasyon ile nötron ve beta partikülleri gibi partiküler radyasyon kullanılmaktadır. Kobalt-60 ve Sezyum-137, bu amaçla yararlanılan en yaygın kaynaklardır [46]. Radyasyon, böceklerin gametlerinde dominant öldürücü mutasyonlar meydana getirmektedir. Bu

öldürücü mutasyonlar, zigotun olgunlaşmasını engellemektedirler. Radyasyon, erkeklerde spermatogenesis olayını sekteye uğratarak spermaların meydana gelişini durdurmakta veya spermaların aktivitesini iyice azaltmakta sonuçta çiftleşme gücünün kaybolmasına neden olmaktadır. Bu durumda erkek çiftleşmemekte veya çiftleşme pozisyonunda yeterince kalamadığı için döllenme olmamaktadır. Dişilerde ise besleyici hücrelere zarar verdiği için yumurta oluşumu çok az olmakta veya hiç olmamaktadır. Böcekler, yumurtadan çıktıktan itibaren hayat devrelerinin değişik dönemlerinde ve ergin safhada, eşey hücrelerini meydana getiren gonadlar da buna paralel olarak değişik gelişme evreleri içerisinde dirler. Bu nedenle, kısırlaştırmayı gerçekleştirebilmek için böceğin en uygun döneminde, optimal radyasyon dozunun uygulanması gerekmektedir [49].

Kısır erkek ve dişiler birlikte salıverildiklerinde, dişi böcekler yumurta koymaya devam ederek hem meyvelere zarar vermiş hem de fungal ve viral enfeksiyonlara, hastalık taşıyan vektörlerle mücadelede hastalığın yayılmasına neden olmuşlardır. İkinci olarak kısır erkeklerin fertil dişileri bulmasını engellemişlerdir. Ayrıca kısır dişilerin yetiştirilmesi ve dağıtılması ekstra maliyet getirmiştir [50]. Bu nedenlerden dolayı günümüzde sadece erkek böcek salıverme tercih edilmektedir.

Radyasyonla kısırlaştırmada başarılı olunan birçok böcek türleri arasında *C. capitata* ilk sıralarda yer almaktadır. Akman ve Zümreoğlu yaptıkları çalışmalarda ergin çıkışına bir ve iki gün kalan pupaları 9, 10 ve 11 krad dozda ısınlamış ve başarılı sonuçlar elde etmiştir [51]. *C. capitata*'ya karşı uygulanan kısır böcek salıverme programlarının etkinliği doğaya salınan kısır sineklerin yumurta bırakma yeteneğine bağlıdır. Kitle üretimi ile yetiştirilen kısır erkeklerin doğal hemcinslerine göre ömür uzunluğu ve seksüel rekabet açısından daha düşük performansla sahip oldukları bildirilmiştir. Bu performans düşüklüğünün kitle üretimi ile yetiştirilen sineklerin kolonizasyonuna, üretim koşullarına ve ısınlama sürecine bağlı olduğu açıktır. ısınlama sonucu oluşan performans düşüklüğü orta barsak dokularındaki hasarla veya bağırsağındaki bakterilerin zarar görmesiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir [52]. Yapılan çalışmalar ısınlanmış Akdeniz meyve sineklerinin doğaya salıverilmeden önce çiftleşme performansı ve ömür uzunluğunun artırılmasının gerekliliğini ortaya koymuştur [52, 53].

Kısır böcek salıverme tekniği, sadece bir teknoloji değildir. Zararlıının biyolojisi, yetiştirilmesi, salıverilmesi ve arazide izlenmesi gibi yöntemler hakkında bilgiler gereklidir. İyi bir taahhüt ve yönetime ihtiyaç duyan geniş alanlara uygulanabilen bir yöntemdir [54].

Kısır böcek salıverme tekniğinin etkinliğini, kaliteli kısır böcek yetiştirme, ısınlama ve tarlaya salıverme aşamaları belirlemektedir. Radyasyonla kısırlaştırılan böcekler doğadaki hemcinsleriyle rekabette kısmen geri kalmakta ve doğadaki dişi böcekler ısınlamış erkekleri tercih etmeyebilmektedir. Bu durum tekniğin etkinliğini azaltmaktadır. Radyasyon çiftleşme rekabetini azaltmada önemli bir etkindir. Ayrıca ömrü kısaltması ve kur yapma sırasında çıkarılan ses sinyallerini değiştirmesi sebebiyle çiftleşme hızını etkiler. Radyasyon dozunun artmasıyla rekabet yeteneği azalmaktadır. Kullanılacak doz kısırlık meydana getirirken rekabet yeteneğinin azaltmayan bir düzeyde olmalıdır [55]. *C. capitata*'nın kitle üretiminde kısırlaştırıcı dozun belirlenmesi için yapılan çalışmalarda en uygun radyasyon dozlarının 50 ve 145 Gy arasında olduğu, düşük dozların ise (50, 60 Gy) ömür uzunluğuna önemli bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir [56].

Son yıllarda laboratuvarıda kitle halinde böceklerin sadece bir cinsiyetinin (tsl ırkı) yetiştirilmesi ve salım öncesi besinlerinin iyileştirilmesi (probiyotik ekleme) doğadaki böceklerle rekabette önemli katkılar sağlamıştır. Ayrıca, radyasyonla kısırlaştırma yerine genetik olarak kısırlaştırılmış böceklerin kullanımı yeni bir yaklaşımdır [53, 57].

1.2.1.3.1.1. KBT’de Klasik Genetik Uygulamaları

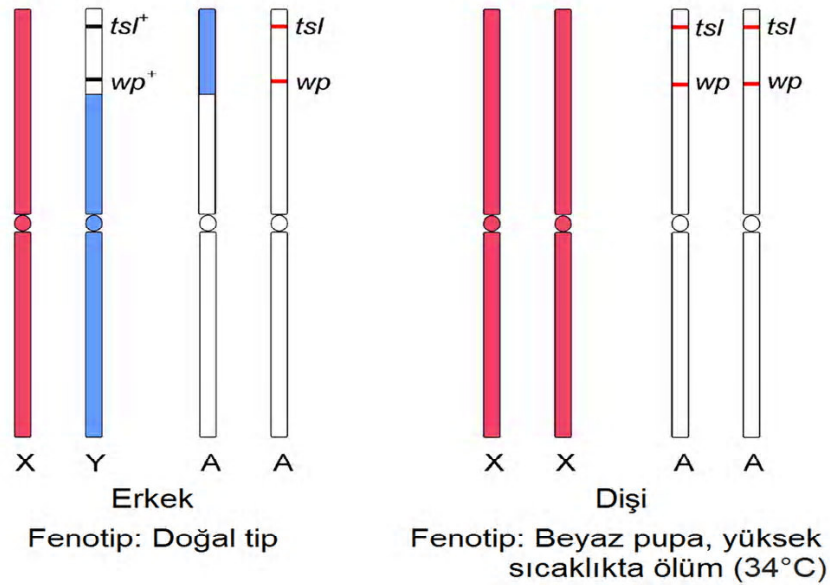
1972’de *Lucilia cuprina* mücadelesinde ilk kez kullanılan genetik olarak cinsiyet ayrımında (genetic sexing strains, GSS) pupa evresinde cinsiyet ayrımı yapılarak sadece kısır erkek böcekler doğaya salıverilmiştir. *C. capitata* mücadelesi için aynı yöntemle Y otozom translokasyonu ile 5. kromozom üzerinde beyaz pupa mutasyonu oluşturularak pupalarda cinsiyet ayrımı yapılmıştır (Şekil 1.8) [54].



Şekil 1.8. GSS erkek pupaları doğal kahverengi renkte iken dişi pupalar mutant beyaz fenotiptedir.

Diğer bir yaklaşım ise dişi öldürme (female-killing) sistemlerinin gerçekleştirilmesidir. Bu yöntemde homozigot dişilerde göz pigmenti mutasyonu oluşturularak böcekler körleştirilmekte ve salıverilen dişi böcekler ölmektedirler [58, 59].

Genetik kısırlaştırmada bazı yöntemler kullanılmaktadır. Bunlardan biri sıcaklığa dayalı uygulamalardır. Bu uygulamada klasik genetik cinsiyet ırkına ait bireylerin cinsiyet kromozomları üzerinde çalışılmaktadır.



Şekil 1.9. Sıcaklık hassas öldürücü mutasyon (*tsl*). [54].

Sıcaklığa duyarlı öldürücü genin allelleri (temperature-sensitive lethal (tsl) gene) dişilerde çekiniktir, erkeklerde ise transfer edilen alleller Y-kromozomunda korunmuş durumdadır. Bireyler sıcaklığa maruz bırakıldığında dişi embriyoların ölür ve kalan erkek embriyolardan elde edilen bireyler ise kısırdır [60].

Şu anda dünyada tsl GSS ırkı kullanılarak haftada 1.4 milyardan daha fazla kısır erkek pupa üretilmektedir. Yaklaşık 700 milyon XX dişi birey daha embriyo iken uzaklaştırılmaktadır [54].

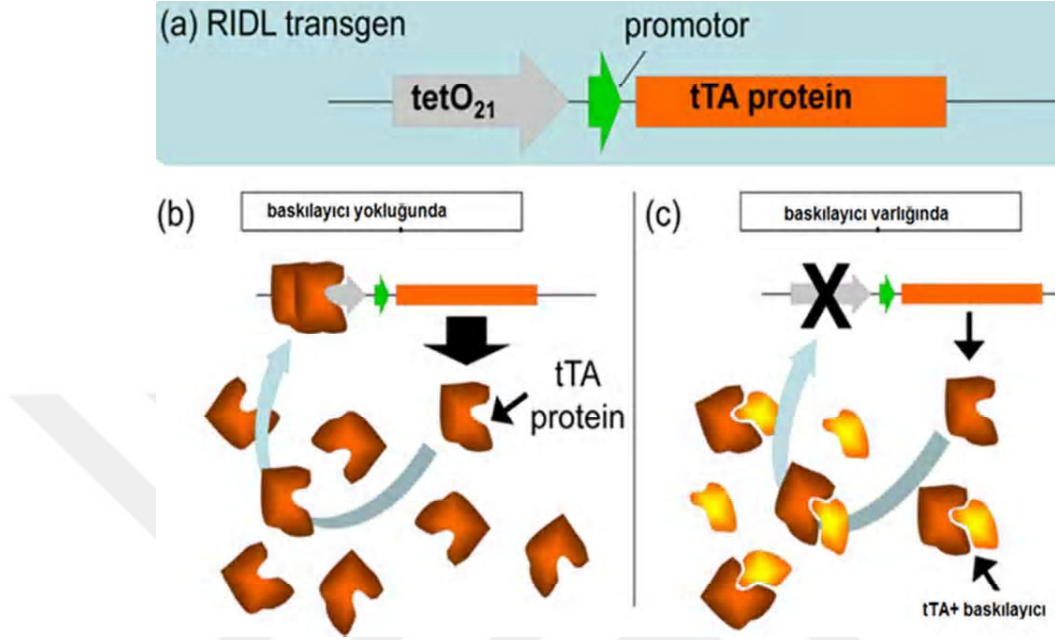
Bahsedilen kısır böcek oluşturma tekniklerinin *C. capitata*'ya uygulanmasında bir takım avantaj ve dezavantajlar mevcuttur. Avantajları; düşük maliyetli ve etkin olmasıdır. Bununla birlikte mutant kromozomların bireylere aktarılmasında çeşitli problemlerin yaşanması, sürecin uzunluğu, verimin azalması ve birey biyolojisinin olumsuz etkilenmesi yöntemin dezavantajları olarak belirtilmiştir [61].

1.2.1.3.1.2. KBT'de Modern Genetik Uygulamaları

Modern genetik, KBT'nin pek çok türe karşı kullanılması ve maliyetin azaltılmasında büyük katkılar sağlamıştır. Rekombinant DNA teknikleri ile böceklerin genomuna yeni genler eklenebilmektedir. İlk uygulama *Drosophila melanogaster*'e *P* element eklenmesi ile elde edilmiştir. *C. capitata*'ya aktarılan Minos elementi (a *white* + cDNA eye colour marking system) ile stabil gen hatları oluşturulmuştur. Bu elementler KBT'nin daha etkin bir teknik olarak kullanılmasına olanak sağlamıştır. *Mariner*, *Minos*, *Hermes* ve *piggyback* gibi elementler Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera ve Coleoptera takımlarında transformasyonu olanaklı kılmıştır. Transgenik teknoloji KBT'ne izleme, genetik cinsiyet ayrımı ve kısırlandırmada yeni olanaklar sağlamıştır [58-62].

Transgenik genetik sistemler istenen evrede zararlıının öldürülmesi ve radyasyona ihtiyaç duymadan kısırlandırma gibi potansiyele sahiptir. Bunlar içerisinde en iyi bilineni tetrasiklin sistemidir (Şekil 1.10). Tetrasiklin yokluğunda sentetik transaktivator (tTA) bağlanma bölgesine (*tetO*) bir multimer bağlayarak gen ekspresyonunu aktive etmekte, varlığında ise tTA konformasyon değişikliği yaparak bağlanma bölgesine (*tetO*) bağlanmayı engelleyerek hedef genin çalışmasını engellemektedir. Laboratuvarda yetiştirilen böceklerde lethal etkiyi baskılamak için besine antidot "tetracycline"

eklenmektedir. Tetracycline uygulanmadığında dişiler ergin olmadan ölmekte ve sadece erkek erginler çıkmaktadır [63].



Şekil 1.10. Dominant öldürücü mutasyonlar (RIDL) [63].

Yukarıda bahsedilen sistemler kullanılarak Zika, Dengue virüsü ve diğer virüsler için taşıyıcı olan *Aedes aegyptii* ile mücadele edilmektedir. Oxitec Biyoteknoloji bu amaçla mutant sivrisinekler üretilip salıvermektedir. Üretilen erkek sivrisinekler doğal dişilerle çiftleşmekte ve oluşan döllere pupa evresinde elimine olmaktadır [58, 62, 63]. Bu sistemlerin yanı sıra böceklerde simbiyont olan çeşitli bakteriler de kısır böcek salıverme tekniği kapsamında kullanılabilir. Bu bakteriler, simbiyontu olduğu konukçusunun bazı biyolojik özelliklerini ve üremesini etkileyerek kendilerine fayda sağlamaktadır [64, 65].

1.2.1.3.1.3. Kısır Böcek Salıverme Tekniği ve Simbiyotik Bakteriler

Böceklerdeki simbiyotik ilişkiler dört farklı kategoride incelenmektedir;

1. Simbiyontun konukçusuna besin desteği (amino asit ve vitaminler gibi temel bileşikler) sağladığı mutualistik ilişki,
2. Simbiyontun konukçusuna sıcaklığa karşı dayanıklılık, parazitoit ve patojenlere karşı savunma geliştirme sağladığı ilişki,
3. Simbiyontun konukçusunun üreme özelliklerini manipüle ettiği ilişki,

4. Simbiyontun konukçusuna pestisitler ve bitkilerin savunma moleküllerine karşı detoksifikasyon özelliği kazandırdığı ilişki [66].

Böceklerin normal gelişebilmeleri için belirli bazı vitaminleri, makro ve mikro elementleri almaları gereklidir. Aksi halde bu maddelerin noksanlığında beslenme bozuklukları, tam gelişememe, hastalık, kısırılık veya ölüm meydana gelebilir. Moleküler tekniklerdeki yeni gelişmelerle birlikte tanımlanan çoğu endosimbiyontun sindirim süreciyle beraber gelişimsel süreçle de bağlantılı olduğu ortaya çıkmıştır [66, 67].

Böceklerin sindirim sisteminde bulunan endosimbiyontlar ile ilgili çalışmalar devam etmekle birlikte aralarındaki ilişki hala tam olarak çözülememiştir. Şimdiye kadar afitlerin primer ve sekonder endosimbiyontlarının yanı sıra Blattidae, Rhinotermitidae, Formicidae, Tephritidae, Curculionoidea ve diğer bazı familyalarda simbiyotik ilişkilerle ilgili çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda simbiyontların genellikle kan ve bitki özsuğu gibi içerik yönünden yetersiz ve dengesiz besinlerle beslenen gruplarda yaygın olduğu bildirilmiştir [67-69]. Örneğin, *Proteobacterium* bölümünde sınıflandırılan *Buchnera* sp., bezelye afitinin simbiyontudur. Afit amino asit yönünden fakir floem sıvısıyla beslenir. *Buchnera* sp. afite amino asit ve vitaminler gibi besinsel destekleri sağlayarak yetersiz bir diyetle yaşamasına olanak sağlar [67]. Bununla birlikte bulunan bazı endosimbiyontların üremeyi manipüle ettiği, bazılarının parazitoit ve patojenlere karşı savunma sağladığı belirtilmiştir [70-72]. Bazı endosimbiyontların böcek üreme sistemi üzerinde, üreme davranışını manipüle ederek konağın cinsiyet belirleme sürecini etkileme yetenekleri vardır. Sonuçta popülasyon cinsiyet oranında ve genetik popülasyon yapısında değişikliğe, üreme izolasyonu oluşturarak türleşmeye neden olmaktadır [73-77].

1.2.1.4. *C. capitata* ile Mücadelede Yeni Yaklaşımlar

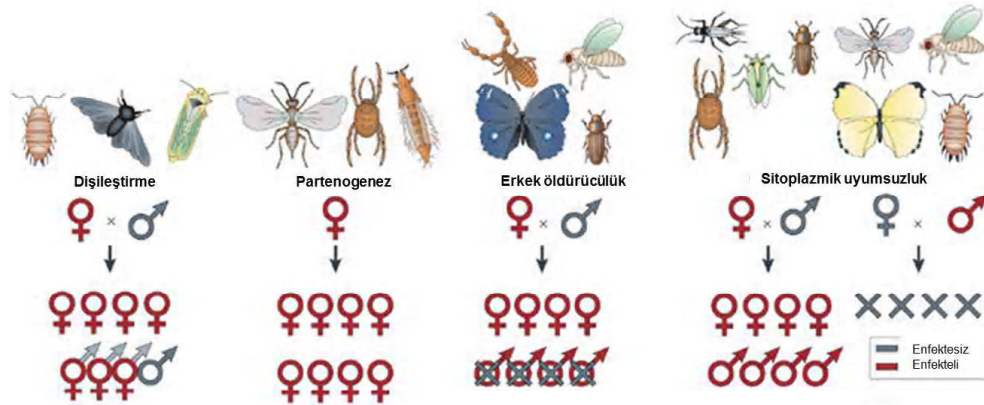
Böceklerdeki simbiyont bakteriler üzerine yoğun çalışmalar ile birlikte moleküler biyoloji ve genetik bilimindeki gelişmeler biyolojik mücadelede yeni yaklaşımlar ortaya çıkarmıştır. Simbiyotik organizmalar kısır böcek salıverme tekniğinin her aşamasında önemli olabilir. Kısır böceklerin kitle üretiminde maliyetin azaltılması ve yetiştirilen böceklerin kalitesinin artırılması amacıyla kullanılabilir; doğada, larva tarafından kullanılan meyvelerin amino asit içeriği oldukça düşüktür. Dişiler yumurtlarken,

yumurta ile birlikte nitrojen fikse eden ve meyveyi parçalayarak larval gelişme açısından gerekli besinleri üreten bakterileri meyve kabuğunun altına enjekte eder [78].

C. capitata'nın bağırsak bakteri florasının belirlenmesi için yapılan çalışmalar sonucunda en yaygın görülen Enterobacteriace familyasından *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Pectobacterium* spp., *Pantoea dispersa*, *Enterobacter* spp. türleri olduğu bildirilmiştir [79]. Bu türlerden *Pectobacterium* spp., *P. dispersa*, *K. oxytoca* ve *C. freundii*'nin *C. capitata*'nın ontogenisinde ana rol oynadığı vurgulanmaktadır [80, 81].

Kitle üretim işlemleriyle genellikle yetiştirilen böceklerin doğal florası bozulmakta ve yararlı olmayan mikrorganizmaların larva besiyerinde çoğalmasına neden olmaktadır. Simbiyotik bakteriler larva besi yerine eklenerek bu eksiklikler giderilebilmekte ve yetiştirilen böceklerin kalitesi artırılmaktadır [82]. Çalışmalardan elde edilen kanıtlar kitle üretimi ile üretilen sineklerde radyasyonun sineğin lehine olan bazı bakterileri yok ettiğini ve bazılarını baskıladığını desteklemektedir [78, 82]. *C. capitata* pupa evresinde ısıtılmaktadır. Lauzon ve Potter [83]; SEM ve TEM kullanarak gamma radyasyonu ile kısırlaştırılmış böceklerin bağırsak florasının hasara uğradığını göstermişlerdir. Birçok çalışmada simbiyotik bakterilerin probiyotik olarak kullanıldığında radyasyonun bağırsak mikrobiyotasındaki zararını tamir edebileceği belirtilmiştir [84].

Konukçu popülasyon cinsiyet oranını değiştirebilen üremeyi etkileyen endosimbiyontlar bu etkileri sebebiyle zararlılarla mücadelede kullanılabilir. Üreme manipülasyonu yapan bakteriler konukçularının üreme davranışına sitoplazmik uyumsuzluk oluşturma, dişileştirme (feminizasyonu teşvik), partenogenetik üremeyi teşvik etme ve erkek öldürücülük şeklinde etki edebilir [77, 85-87]. Üremeyi etkileyen endosimbiyontlardan en fazla araştırılanı *Wolbachia*'dır. Böceklerin yaklaşık % 65'inde *Wolbachia* varlığı tespit edilmiştir. Dikey ve yatay transfer yoluyla yavrulara aktarılabilen *Wolbachia*, omurgasızlarda sitoplazmik uyumsuzluk, partenogenez ve genetik erkeklerin dişileşmesine neden olmaktadır [88]. Son zamanlarda *Wolbachia* ve benzer etkileri gösteren *Arshenophonus Cardinium*, *Hamiltonella*, *Rickettsia* ve *Spiroplasma* gibi üreme organı simbiyontların bahsedilen özellikleri kullanılarak zararlı böceklerle mücadelede Uyumsuz Böcek Tekniği (UBT, incompatible insect technique IIT) yönteminin geliştirilmesi yönünde ilgi artmıştır [89].



Şekil 1.11. Uyumsuz Böcek Tekniğinin şematik gösterimi [88].

Böceklerdeki mikrobiyom biyolojik mücadele için pek çok fırsat sunmaktadır. Endosimbiyont popülasyonu normalde dengelidir ve konukçu tarafından kontrol altında tutulurlar fakat bu denge değişebilir veya mikroorganizmalar konukçu için patojen olarak avantajlı durum sağlayabilir. 16S rRNA genine dayalı moleküler tanımlama tekniklerinin geliştirilmesiyle karmaşık mikrobiyom daha anlaşılır hale gelmiştir [90]. 16S çok iyi korunmuş universal bir bakteri genidir. Bu gen evrimleşmenin ilk basamaklarında meydana gelmiş ve çevresel baskılardan çok az etkilenmiştir. Bakteri akrabalıklarını araştırmada moleküler saat olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır. Ayrıca bu gen bilinmeyen tür ve cinslerin tanımlanmasında önemli hale gelmiştir. 16S rRNA genlerinin dizi benzerliği % 97'den az ise aynı cinse aittürler; benzerlik oranı % 97'den daha fazla olduğunda ise aynı türe ait suşlar olarak sınıflandırılmıştır [87, 91].

Çıkış, ömür uzunluğu, çiftleşme rekabeti ve arazide böceklerin dağılımı üzerine kısırlaştırıcı radyasyonun etkileri pek çok yazar tarafından çalışılmıştır. Kitle üretimi ve radyasyon bakteri-böcek ortaklığını tahrip etmekte ve bunun sonucunda kısır erkeklerin çiftleşme rekabetini azalttığı ileri sürülmektedir [92-95]. Elde ettiğimiz verilerin *C. capitata*'nın kitle üretiminde ve ışınlama sonrasında bakteri-böcek birlikteliğinin bozulması sonucu ortaya çıkan performans değişikliklerini belirleyebilmek ve doğal bireylerle rekabet edebilir duruma getirebilmek için yapılacak çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2.1. *Ceratitis capitata* Kültürü

2.1.1. *C. capitata*'nın Toplanması

Çalışmalarda kullanmak üzere Haziran 2012- Aralık 2015 ayları arasında, Tablo 2.1'de verilen lokasyonlardan enfekte meyve (larva gelişmiş), pupa ve ergin *C. capitata* örnekleri elde edilmiştir.

Tablo 2.1. *C. capitata* örneklerinin toplandığı lokasyonlar ve koordinatları.

Lokasyon	Koordinatlar
İzmir, Bornova	38°27'45.6"K 27°13'12.1"D
Mersin, Alata	36°37'56.7"N 34°20'36.1"E
Antalya, Manavgat	36°47'47.7"N 31°28'51.3"E

Araziden toplanan enfekteli meyveler, Zümreoğlu [96] tarafından belirtilen yöntemin modifikasyonu ile içerisine yıkanmış ve steril edilmiş kum doldurulan plastik kaplara konulmuştur. Meyvelerden atlayan larvaların kaçmasını engellemek için üzerleri tel ile kapatılmıştır. Bu kaplar pupa oluşumuna kadar $25 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklığa, $\% 60 \pm 5$ nispi neme ve 10:14 (aydınlık: karanlık) fotoperiyoda sahip iklimlendirme odasında tutulmuş, oluşan pupalar elekten kumdan ayrıldıktan sonra plastik kafeslere alınmıştır [97].

Araziden toplanan pupalar direkt olarak plastik kafeslere alınarak $25 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklığa, % 60 ± 5 nispi neme ve 10:14 (aydınlık:karanlık) fotoperiyoda sahip iklimlendirme odasına kaldırılmıştır. Pupadan çıkan erginlerin su ve besin ihtiyaçları günlük olarak kontrol edilmiştir.

Ayrıca Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'na bağlı Bornova Zirai Mücadele Araştırma İstasyonu Müdürlüğü (İzmir)'den alınan *C. capitata* pupaları laboratuvar kültürünün oluşturulması için kullanılmıştır. Bu pupalardan elde edilen erginlerin yumurtaları larva besiyerine aktararak kültürün devamlılığı sağlanmıştır.

2.1.2. Larva Besiyeri

Kafeslerden alınan yumurtalar 230gr/l kepek, 120gr/l şeker, 50gr/l ruşeym, 32gr/l maya ve 2gr/l Sodyum benzoat ve su kullanılarak hazırlanan besiyerine aktarılmıştır [98].

Hazırlanan besiyeri 5 cm derinliğindeki plastik kaplara taşmayacak şekilde konularak üzerleri peçete ile kapatılmıştır. Oluşan nemli yüzeye yumurtalar yayılmıştır. Besiyeri içerisinde kum bulunan, hava alabilen, kapaklı bir diğer kaba yerleştirilmiştir. Bu kaplar $25 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklık, % 60 ± 5 nispi neme sahip iklimlendirme odasında gelişmeye bırakılmıştır. Daha sonra kum elenerek oluşan pupalar kafeslere alınmıştır.

2.1.3. Böceklerin Işınlanması

Radyasyonun ergin çıkışına etkisini belirlemek için 7 günlük *C. capitata* pupaları 20 ml'lik cam deney tüplerine 30 adet konularak (3 tekerrür) gücü ca 111 TBq ve doz oranı 2.77 Gy/dk. olan IRACELok-GK17 kaynağında 50 ve 100 Gy dozda ışınlanmıştır. Kontrol grubu, 50 ve 100 Gy dozda ışınlanmış pupalar şeker ve su ile birlikte kafeslere yerleştirilerek $25 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklık, % 60 ± 5 nispi neme sahip iklimlendirme odasında gelişmeye bırakılmıştır. Ergin çıkışı gerçekleşince ömür uzunluğu takip edilerek dişi-erkek sayımı yapılmıştır.

Bağırsak bakterilerinin radyasyonla değişimini belirlemek için 7 günlük *C. capitata* pupaları 20 ml'lik cam deney tüplerine 30 adet konularak (3 tekerrür) gücü 111 TBq ve doz oranı 2.77 Gy/dk olan IRACELok-GK17 kaynağında 100 Gy dozda ışınlanmıştır. Kontrol grubundaki ve 100 Gy dozda ışınlanan pupalar 1, 5 ve 15 günlük deneme gruplarına ayrılmış, şeker ve su ile birlikte kafeslere yerleştirilerek $25 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklık, %

60±5 nispi neme sahip iklimlendirme odasında gelişmeye bırakılmıştır. Çıkan erginler bağırsak bakterilerinin taranması için kullanılmıştır.

2.2. Bağırsağın Çıkarılması

Dişi ve erkek sinekler ayrı ayrı steril PBS solusyonu içine alınarak diseksiyon mikroskopunda bağırsak çıkarılmıştır. Üç dişi ve üç erkek bağırsak bir mikrosantrifüj tüpü içine konularak havuz oluşturulmuştur. Kontaminasyon riskini ortadan kaldırmak için pensetlerotoklavlanmış ve her bir örnek sonrasında ateş yardımıyla dezenfekte edilmiştir. Sindirim kanalları çıkarılır çıkarılmaz kültüre dayalı yöntemle bakteri belirlenmesi için kullanılmıştır.

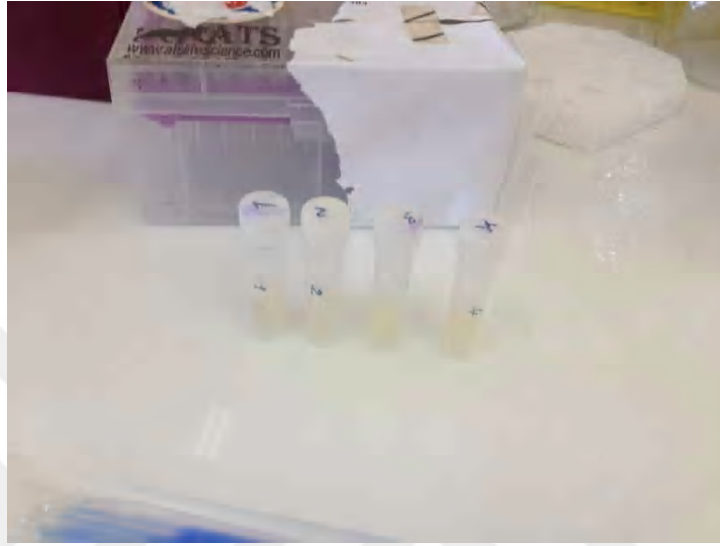
2.3. Kültüre Dayalı Yöntemle Bakterilerin Belirlenmesi

C. capitata bağırsağındaki bakteri florasının kültüre dayalı yöntemle belirlenebilmesi için her bir tüpteki sindirim kanalları 300 µl PBS solusyonu içinde homojenize edilmiştir. Homojenatlardan 10^1 - 10^8 oranlarında dilüsyon yapılmıştır. Bakterileri belirlemek ve CFU hesaplaması yapabilmek için 10^6 , 10^7 ve 10^8 dilüsyonlarından 100'er µl kanlı agar besiyerine 3 tekerrürlü olarak yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır.



Şekil 2.1. Ekim yapılmış kanlı agar petrileri.

Ekim yapılan petrilere aerob ve anaerob ortamda 24 saat 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. Büyüyen kolonilerden morfolojileri farklı olanlar alınıp saf koloni kültürü oluşturmak amacıyla çizme plak yöntemiyle yeniden kanlı agar besiyerine ekilmiş, 24 saat 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 2.2. Saf kolonilerden elde edilen DNA izolatları.

Saf kolonilerden DNA izolasyonu yapılmış, 27F-1492R universal bakteri primerleriyle PCR reaksiyonundan sonra DNA dizi analizine gönderilmiştir [99].

2.4. Üreme organı Simbiyontlarının Taranması

2.4.1. Total DNA İzolasyonu

Rastgele seçilen erginlerden CTAB (Cetiltrimetilamoniumbromide) metoduna göre total DNA izolasyonu yapılmıştır [100].

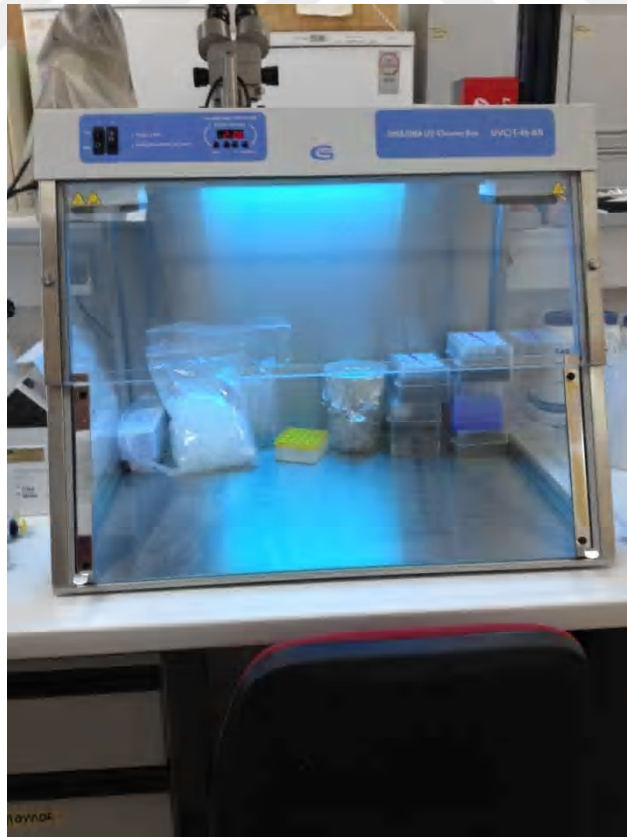
Bunun için; % 5 CTAB 2 ml, 8 M Tris-HCl 0.5ml, 8 M EDTA 0.2ml, 8 M NaCl 1.4 ml, ddH₂O 0.9ml karıştırılarak ekstraksiyon tamponu hazırlanmış ve 0,2 µl’lik filtrelesteril edilmiştir. Tampon steriledildikten sonra kullanmadan önce 20 µl 2-Merkaptoetanol eklenerek 60°C’ye ısıtılmıştır. *C. capitata* örnekleri önce %70’lik alkol ile sonra saf su ile yıkanarak mikrosantrifüj tüpü içerisine alınmıştır. Üzerlerine 200 µl ısıtılmış tampon eklenerek sterilcam baget yardımı ile homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat 60°C’de 5 saat süreyle inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonunda tüplere 200 µl kloroform:izoamilalkol (24:1) eklenmiş ve maksimum hızda 10 dk santrifüj

edilmiştir. Süpernatant bir başka tüpe alınarak üzerine 2/3 oranında izopropanoleklenmiş ve 1 gece -20°C 'de bekletilmiştir. Bekletilen tüpler maksimum hızda 10 dk santrifüj edilmiş, süpernatant uzaklaştırılmış, pellet %70'lik alkolle yıkanmıştır. Elde edilen pellet, 35°C 'de 30 dakika süreyle kurutularak 30 μl saf suda çözölmüş ve üreme organı bakterilerinin taranmasında kullanılıncaya kadar -20°C 'de muhafaza edilmiştir.

2.4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

İzole edilen total DNA'lar, üreme organı bakterilerine ait spesifik primerler ile çoğaltılarak ilgili endosimbiyontun taraması yapılmıştır. PCR çalışmaları için reaksiyon karışımı;

Taqbuffer (Fermentas) 2 μl , MgCl_2 (25mM) (Fermentas) 1,8 μl , dNTP (her birinden 10mM) (Fermentas), 1,25 μl F Primer (10mM) (IDT), 1,25 μl , R Primer (10mM) (IDT) (Tablo 2.2.), TaqPolimeraz (500 U) (Fermentas) 0,1 μl , total DNA 1 μl , ddH₂O 12,1 μl şeklinde hazırlanmıştır.



Şekil 2.3. PCR çalışmaları için reaksiyon karışımının yapıldığı steril kabin.

Tablo 2.2. *C. capitata* örneklerinde üreme organı simbiyont taramasında kullanılan primerler.

Simbiyont Adı	Primer İsmi ve Sekansı	Bağlanma Sıcaklığı (°C)	Referans
<i>Wolbachia</i>	wspecF 5'-YATACCTATTCTGAAGGGATAG-3' wspecR5'AGCTTCGAGTGAAACCAATTC-3'	53	[101]
	wsp81-F 5'-GTCCAATAAGTGATGAAGAAAC-3' wsp691-R5'-AAAAATTAAACGCTACTCCA-3'	58	[102]
<i>Rickettsia</i>	Rb-F 5'-GCTCAGAACGAACGCTATC-3' Rb-R 5'-GAAGGAAAGCATCTCTGC-3'	58	[103]
<i>Cardinium</i>	CHF 5'-TACTGTAAGAATAAGCACCGGC-3' CHR 5'-GTGGATCACTTAACGCTTTCG-3'	58	[104]
	CLOF 5'-GCGGTGTAAAATGAGCGTG-3' CLOR 5'-ACCTMTTCTTAACTCAAGCCT-3'	54	[105]
<i>Spiroplasma</i>	63F 5'-GCCTAATACATGCAAGTCGAAC-3' TKSSpR 5'-TAGCCGTGGCTTTCTGGTAA-3'	55	[106,107]
<i>Arsenophonus</i>	ArsF 5'-GGGTTGTAAAGTACTTTCAGTCGT-3' ArsR2 5'-GTAGCCCTRCTCGTAAGGGCC-3' ArsR3 5'-CCTYTATCTCTAAAGGTTTCGCTGGATG-3'	52	[108]
<i>Hamiltonella</i>	HamF 5'-TGAGTAAAGTCTGGAATCTGG-3' HamR 5'-AGTTCAAGACCGCAACCTC-3'	54	[109]

PCR koşulları; 95⁰ de 2 dakika 1 döngü ön denatürasyon ardından toplam 35 döngülük 94⁰ C de 30 saniye denatürasyon, primere göre bağlanma sıcaklığında (Tablo 2.2.) 30 saniye bağlanma ve 72⁰C de 1 dk. uzama ile tamamlandı. Son uzama 72⁰ C de 5 dk. olarak gerçekleştirilmiştir.

2.4.3. Agaroz Jel Elektroföresi ile Görüntüleme

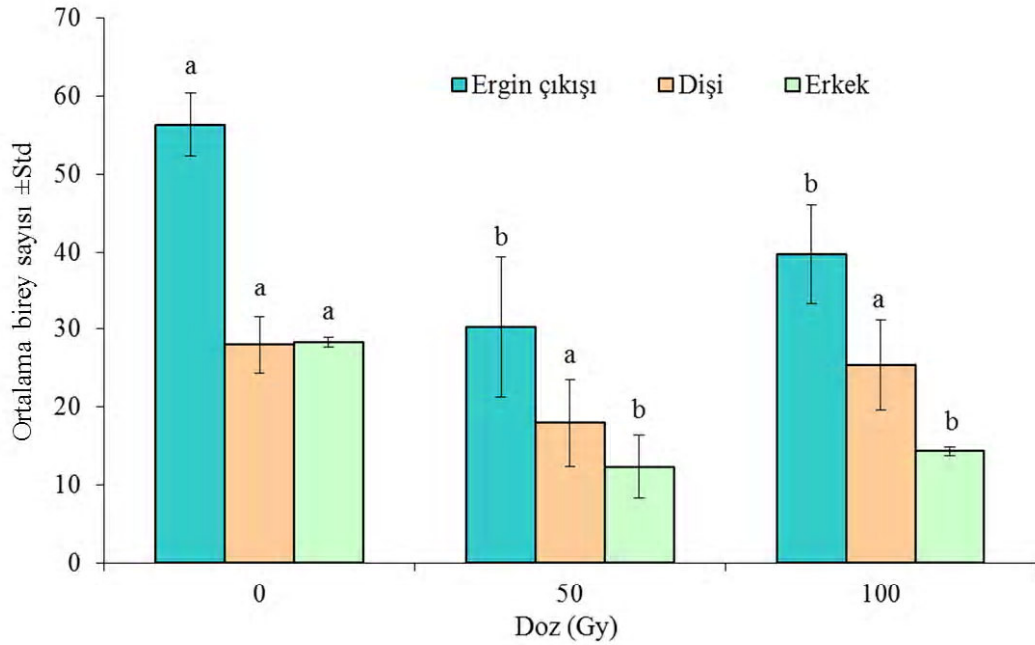
Örneklerden total DNA izolasyonunun gerçekleştirilip gerçekleştirilemediğinin belirlenmesi ve PCR ürünlerini değerlendirebilmek için agaroz jel elektroföres yöntemi kullanılmıştır. Elektroföres tamponu olarak 1X TAE (Tris, Glacial Asetik Asit, EDTA) kullanılmıştır. PCR ürünlerinin görüntülemek için 1X TAE ile % 1'lik (w/v) agarozjel hazırlanmıştır. Hazırlanan jelle 5 µl etidyum bromür eklenmiştir. Jel polimerize olunca örnek DNA'lar yüklenmiştir. 80 V'da 1 saat akıma bırakıldıktan sonra jel görüntüleme cihazında (CarestreamGel Logic) görüntülenmiştir.

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Radyasyonun Ergin Çıkışına Etkisi

Bu çalışmada 0 (kontrol), 50 ve 100 Gy dozlarda gamma ışınına maruz bırakılmış *C. capitata* İzmir popülasyonu pupalarında ergin çıkışı ve cinsiyet oranı araştırılmış ve elde edilen değerler Şekil 3.6'da verilmiştir.



Şekil 3.1. Farklı dozlardaki radyasyonun *C. capitata* pupalarından ergin çıkışı ve cinsiyet oranı üzerine etkisi.

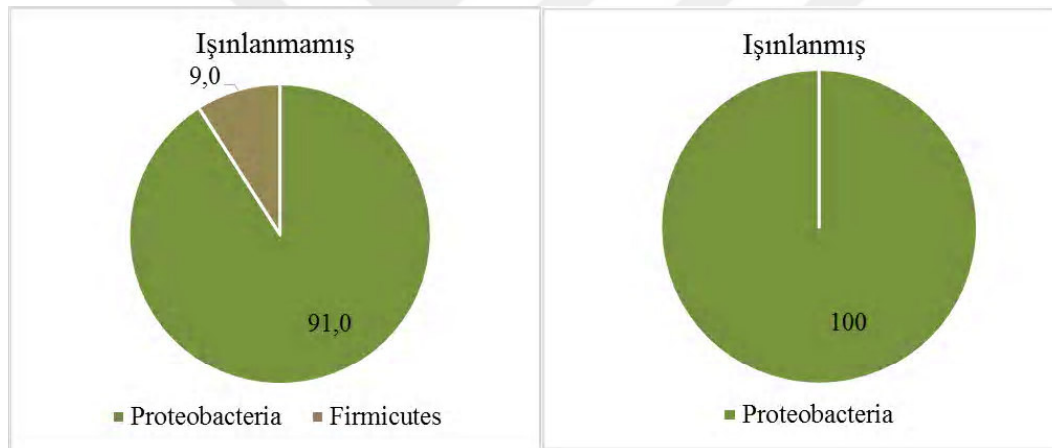
0 (kontrol), 50 ve 100 Gy dozlarda gamma ışınına maruz bırakılmış *C. capitata* İzmir popülasyonu pupalarında en yüksek ergin çıkışı kontrol grubunda gerçekleşmiştir. Kontrol grubu ile 50 ve 100 Gy dozlarda gamma ışınına maruz bırakılmış gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($F=11,23$, $P<0.05$). Dişi birey çıkışına bakıldığında, kontrol grubu ile ışınlananlar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($F= 3,12$, $P>0.05$). Erkek bireylerde ise kontrol grubu ile 50 ve 100 Gy dozlarda gamma ışınına maruz bırakılmış gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($F=40,23$, $P<0.05$).

3.2. Bağırsak Bakterileri

3.2.1. Laboratuvarda Yetiştirilen *C. capitata* Örneklerinin Bağırsak Bakterileri Taraması

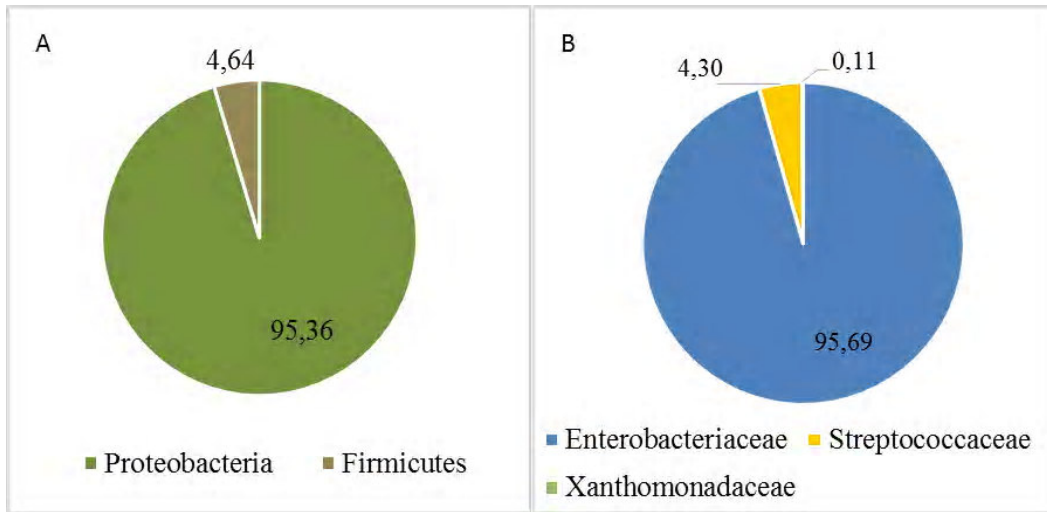
Bu çalışmada ışınlanmamış (kontrol, 0 Gy) ve ışınlanmış (100 Gy) *C. capitata* laboratuvar ırkı 1, 5 ve 15 günlük erginlerinin bağırsak florası 16S rDNA gen bölgesine ait universal primerler (27F-1492R) kullanılarak araştırılmıştır. Sekans uzunlukları 1300-1370 bp arasında değişiklik göstermiştir.

C. capitata laboratuvar ırkı ışınlanmamış erginlerinin bağırsak florasında yoğun olarak Proteobacteria (% 91) ve daha az yoğun olarak Firmicutes (% 9)'e rastlanmıştır. Laboratuvar ırkı ışınlanmış erginlerin bağırsak florasında ise sadece Proteobacteria (% 100)' ya rastlanmıştır (Şekil 3.2).



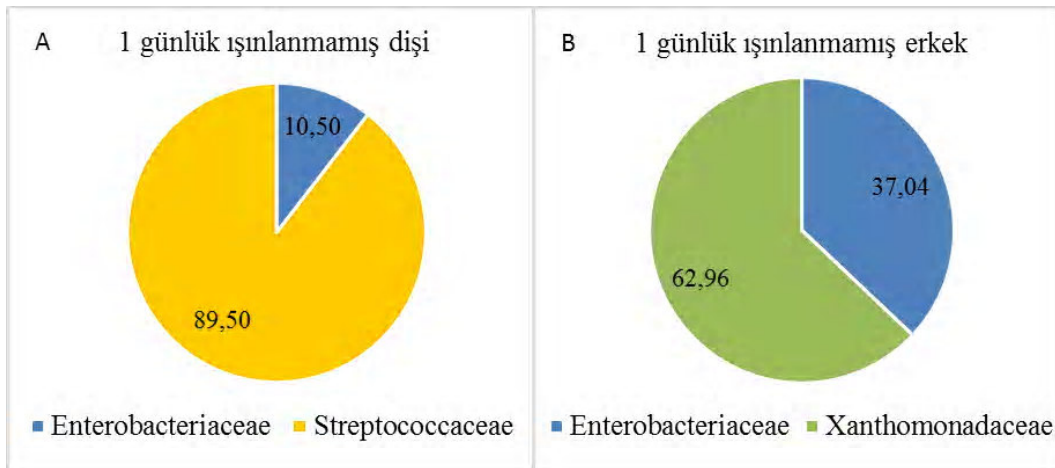
Şekil 3.2. Laboratuvarda yetiştirilen *C. capitata* erginlerinin şube düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu.

C. capitata laboratuvar ırkı erginlerinin bağırsak florasında yoğun olarak Proteobacteria (% 95,6) ve daha az yoğun olarak Firmicutes (% 4,64)'e rastlanmıştır. Floradaki Proteobacteria şubesi üyeleri, Enterobacteriaceae (% 95,69) ve nadiren Xanthomonadaceae (% 0,11) familyalarına ait bakterilerdir. Daha az yoğun olan Firmicutes şubesinde ise Streptococcaceae (% 4,30) familyasına ait bakterilere rastlanmıştır (Şekil 3.3).



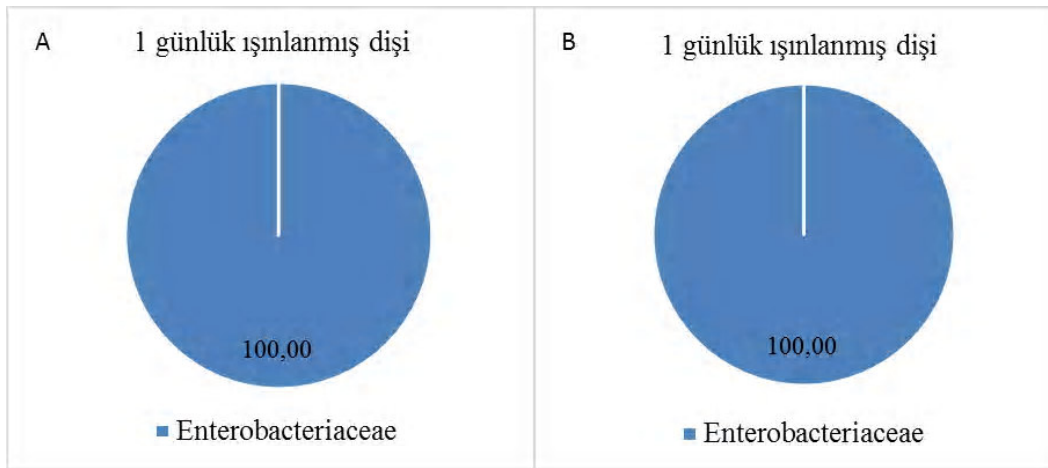
Şekil 3.3. Laboratuvarıda yetiştirilen *C. capitata* erginlerinin bağırsak bakteri yoğunluğu.

C. capitata laboratuvar ırkı ışınlanmamış 1 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak Enterobacteriaceae (% 89.50) ve daha az yoğun olarak Streptococcaceae (% 10.50) familyalarına; ışınlanmamış 1 günlük erkeklerin bağırsak florasında ise yoğun olarak Xanthomonadaceae (% 62.96) ve daha az yoğun olarak Enterobacteriaceae (% 37.04) familyalarına rastlanmıştır (Şekil 3.4).



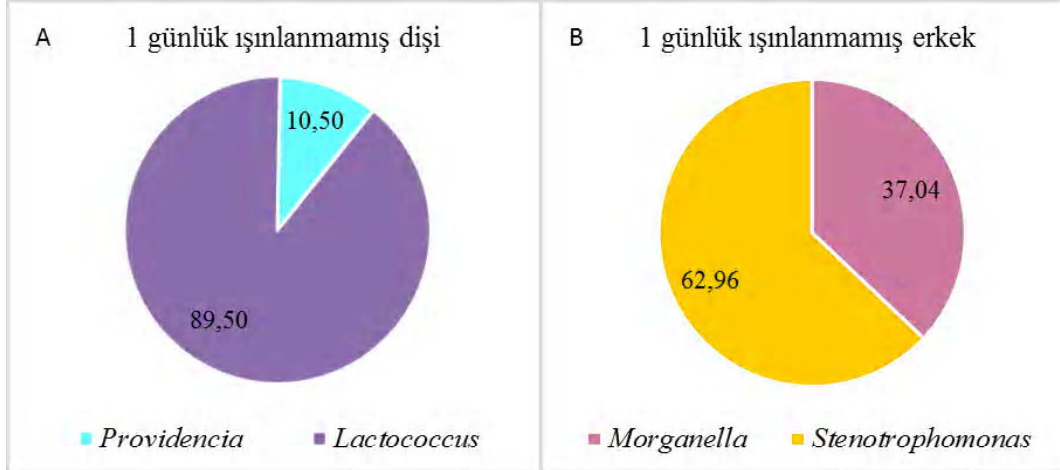
Şekil 3.4. *C. capitata* laboratuvar ırkı ışınlanmamış 1 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu(%).

C. capitata laboratuvar ırkı ışınlanmış 1 günlük dişi ve erkeklerin bağırsak florasında sadece Enterobacteriaceae (% 100) familyasına rastlanmıştır (Şekil 3.10).



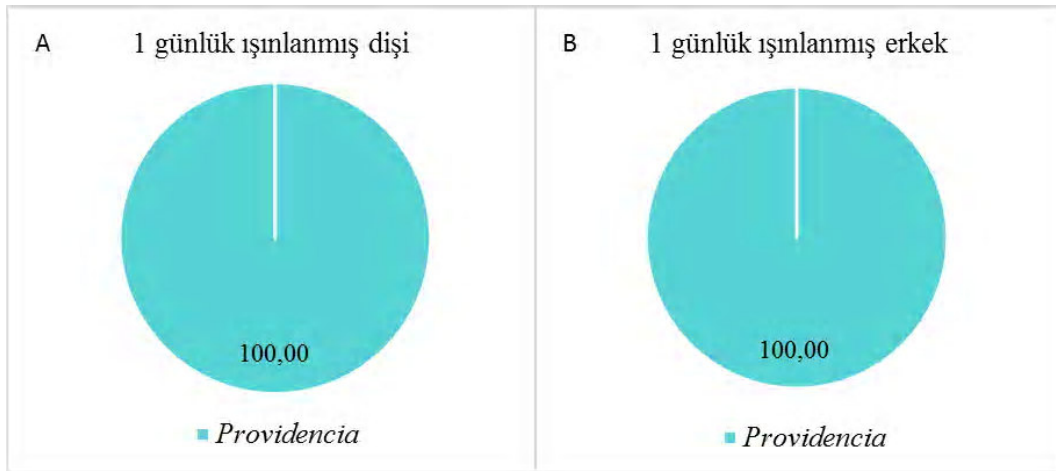
Şekil 3.5. *C. capitata* laboratuvar ırkı ışınlanmış 1 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata laboratuvar ırkı ışınlanmamış 1 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak *Lactococcus* (% 89.50) ve daha az yoğun olarak *Providencia* (% 10.50) bakterilerine; ışınlanmamış 1 günlük erkeklerin bağırsak florasında ise yoğun olarak *Stenotrophomonas* (% 62.96) ve daha az yoğun olarak *Morganella* (% 37.04) bakterilerine rastlanmıştır (Şekil 3.6).



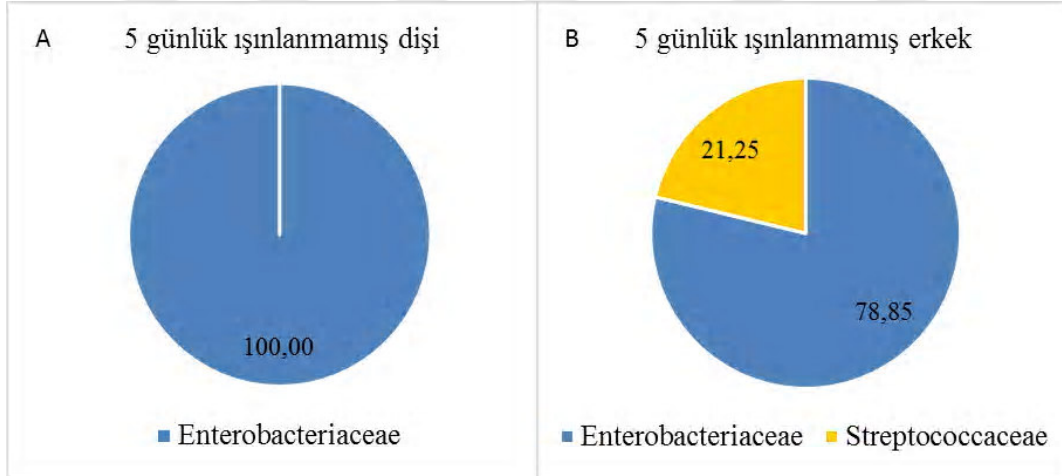
Şekil 3.6. *C. capitata* laboratuvar ırkı ışınlanmamış 1 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata laboratuvar ırkı ışınlanmış 1 günlük dişi ve erkeklerin bağırsak florasında sadece *Providencia* (% 100) bakterisine rastlanmıştır (Şekil 3.7).



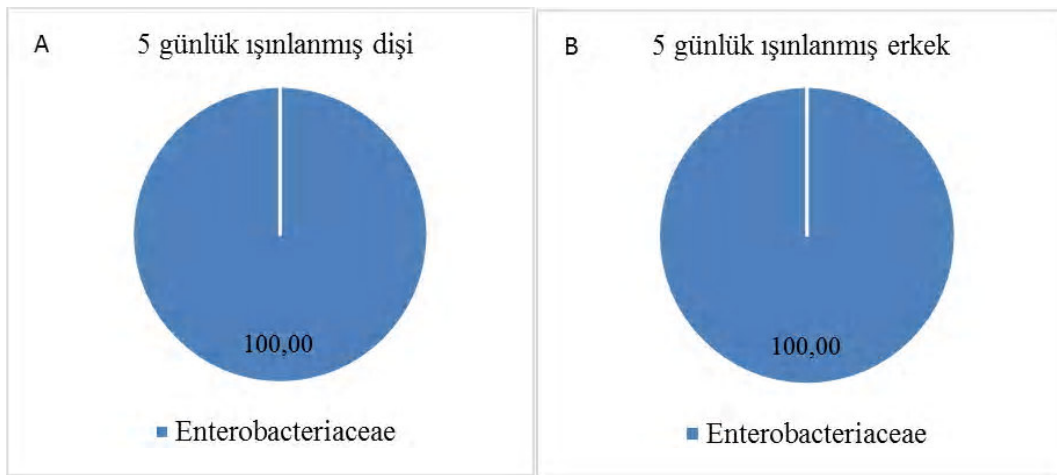
Şekil 3.7. *C. capitata* laboratuvar ırkı ışınlanmış 1 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata laboratuvar ırkı ışınlanmamış 5 günlük dişilerin bağırsak florasında sadece Enterobacteriaceae (% 100) familyasına; ışınlanmamış 1 günlük erkeklerin bağırsak florasında ise yoğun olarak Enterobacteriaceae (% 78.85) ve daha az yoğun olarak Streptococcaceae (% 21.25) familyalarına rastlanmıştır (Şekil 3.8).



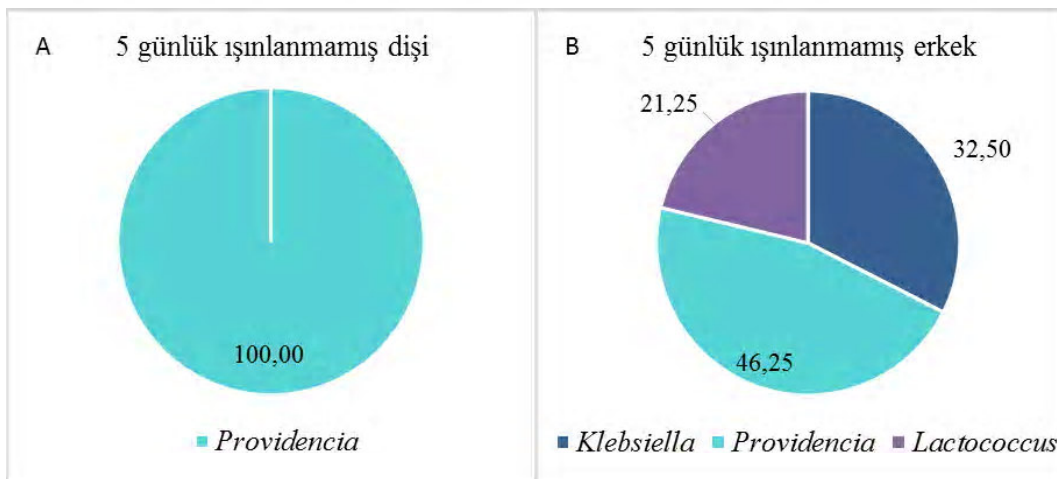
Şekil 3.8. *C. capitata* laboratuvar ırkı ışınlanmamış 5 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata laboratuvar ırkı ışınlanmış 5 günlük dişi ve erkeklerin bağırsak florasında sadece Enterobacteriaceae (% 100) familyasına rastlanmıştır (Şekil 3.9).



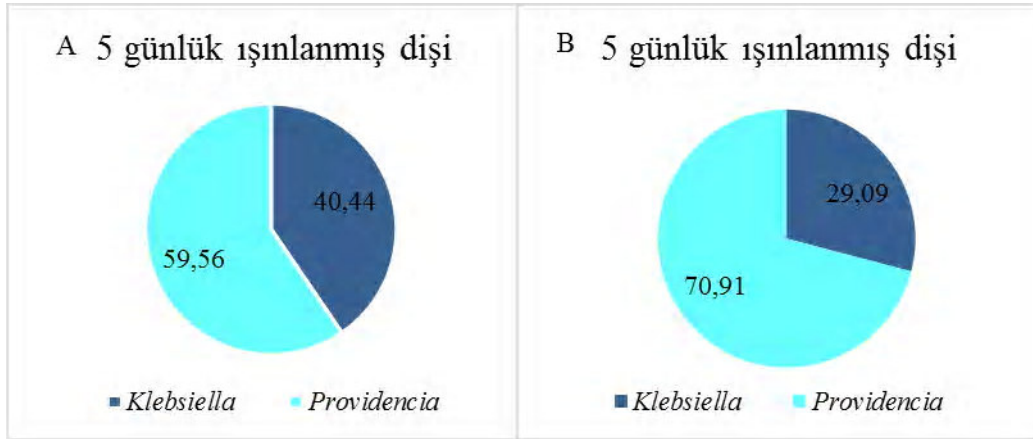
Şekil 3.9. *C. capitata* laboratuvar ırkı ısıtılmış 5 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata laboratuvar ırkı ısıtılmamış 5 günlük dişilerin bağırsak florasında sadece *Providencia* (% 100) bakterisine; ısıtılmamış 5 günlük erkeklerin bağırsak florasında ise yine yoğun olarak *Providencia* (% 46.25) ve daha az yoğun olarak *Klebsiella* (% 32.50) ile *Lactococcus* (% 21.25) bakterilerine rastlanmıştır (Şekil 3.10).



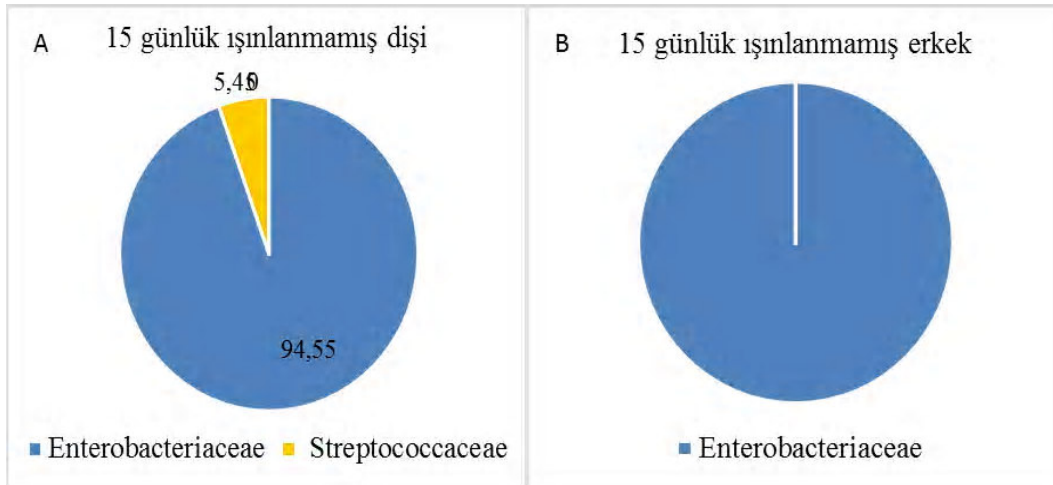
Şekil 3.10. *C. capitata* laboratuvar ırkı ısıtılmamış 5 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata laboratuvar ırkı ısıtılmış 5 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak *Providencia* (% 59.56) ve daha az yoğun olarak *Klebsiella* (% 40.44) bakterilerine; ısıtılmış 5 günlük erkeklerin bağırsak florasında ise yoğun olarak *Providencia* (% 70.91) ve daha az yoğun olarak *Klebsiella* (% 29.09) bakterilerine rastlanmıştır (Şekil 3.11).



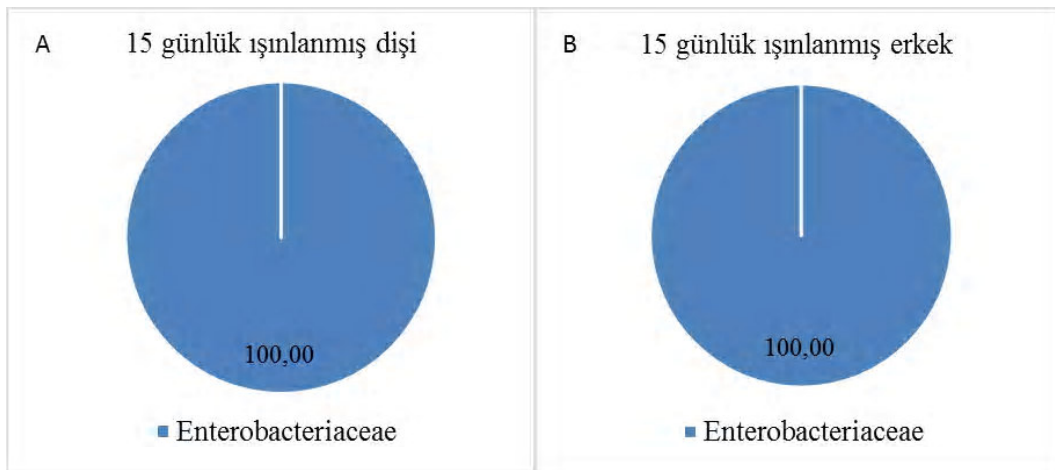
Şekil 3.11. *C. capitata* laboratuvar ırkı ışınlanmış 5 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata laboratuvar ırkı ışınlanmamış 15 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak Enterobacteriaceae (% 94,55) ve daha az yoğun olarak Streptococcaceae (% 5,45) familyalarına; ışınlanmamış 15 günlük erkeklerin bağırsak florasında ise sadece Enterobacteriaceae (% 100) familyasına rastlanmıştır (Şekil 3.12).



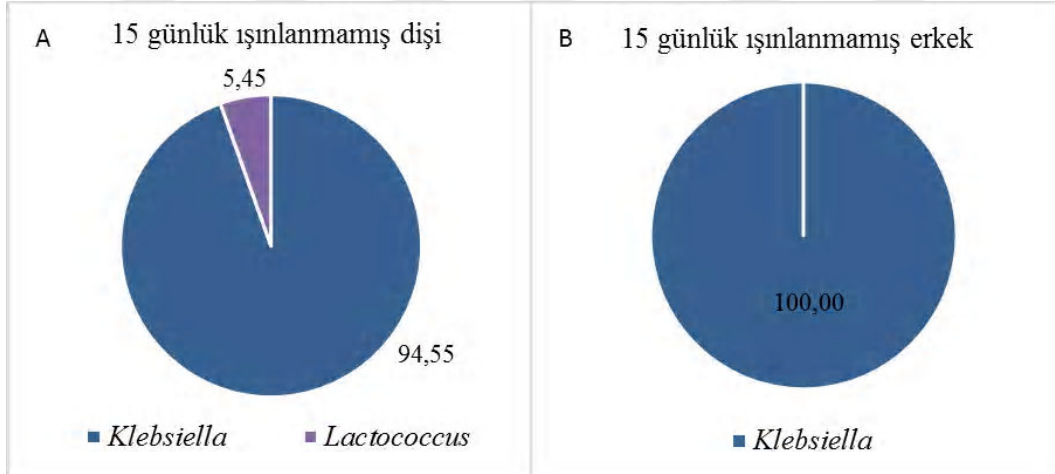
Şekil 3.12. *C. capitata* laboratuvar ırkı ışınlanmamış 15 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata laboratuvar ırkı ışınlanmış 15 günlük dişi ve erkeklerin bağırsak florasında sadece Enterobacteriaceae (% 100) familyasına rastlanmıştır (Şekil 3.13).



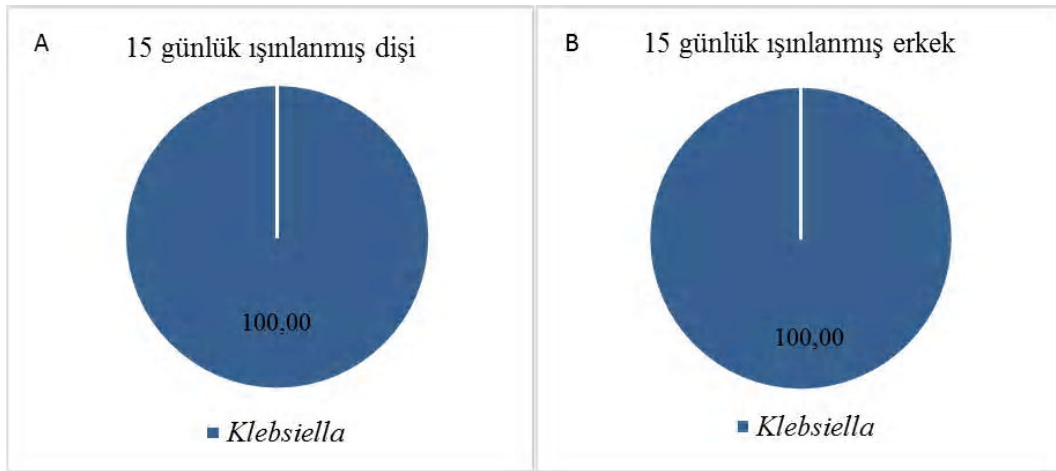
Şekil 3.13. *C. capitata* laboratuvar ırkı ışınlanmamış 15 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata laboratuvar ırkı ışınlanmamış 15 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak *Klebsiella* (% 94,55) ve daha az yoğun olarak *Lactococcus* (% 5,45) bakterilerine; ışınlanmamış 15 günlük erkeklerin bağırsak florasında ise sadece *Klebsiella* (% 100) bakterisine rastlanmıştır (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. *C. capitata* laboratuvar ırkı ışınlanmamış 15 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

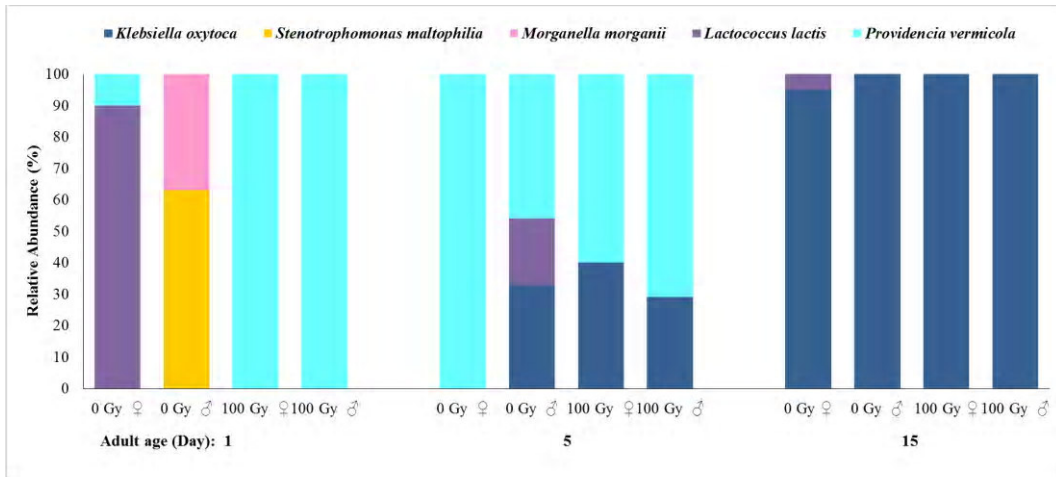
C. capitata laboratuvar ırkı ışınlanmış 15 günlük dişi ve erkeklerin bağırsak florasında sadece *Klebsiella* (% 100) bakterisine rastlanmıştır (Şekil 3.15).



Şekil 3.15. *C. capitata* laboratuvar ırkı ışınlanmış 15 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

İşinlanmamış ve işinlanmış laboratuvar erginlerinin bağırsak florası incelendiğinde *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii*, *Providencia* sp., *Lactococcus lactis* ve *Stenotrophomonas maltophilia* türlerine rastlanmıştır (Şekil 3.16). İşinlanmış 1 günlük ve 5 günlük erginlerin bakteri çeşitliliğinin birbirine benzer olduğu, 15 günlük erginlerin ise farklı olduğu gözlenmiştir. İşinlanmamış 1 günlük erginlerde *L. lactis*, *M. morganii*, *S. maltophilia* ve *Providencia* sp. bakterileri bulunurken, işinlanmış erginlerde sadece *Providencia* sp. bakterisine rastlanmıştır. *S. maltophilia* bakterisi sadece işinlanmamış 1 günlük erkeklerde görülmüştür. 5 günlük erginlerde yoğun olarak *K. oxytoca* ve *Providencia* sp. bakterilerine; daha az yoğun olarak *L. lactis* bakterisine rastlanmıştır.

15 günlük erginlerde yoğun olarak *K. oxytoca* bakterisi ve sadece işinlanmamış 15 günlük dişilerde az yoğunlukta *L. lactis* bakterisi tespit edilmiştir. İşinlanmış ve işinlanmamış erginler bakteri kompozisyonu yönünden karşılaştırıldığında en önemli faktörün yaş olduğu görülmüştür. 1 ve 5 günlük erginlerdeki bakteri tür sayısının 15 günlük erginlerden daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *K. oxytoca* ve *Providencia* sp. türlerinin işinlama ve yaşa bakılmaksızın sürekli ve daha yaygın olduğu gözlemlenmiştir.

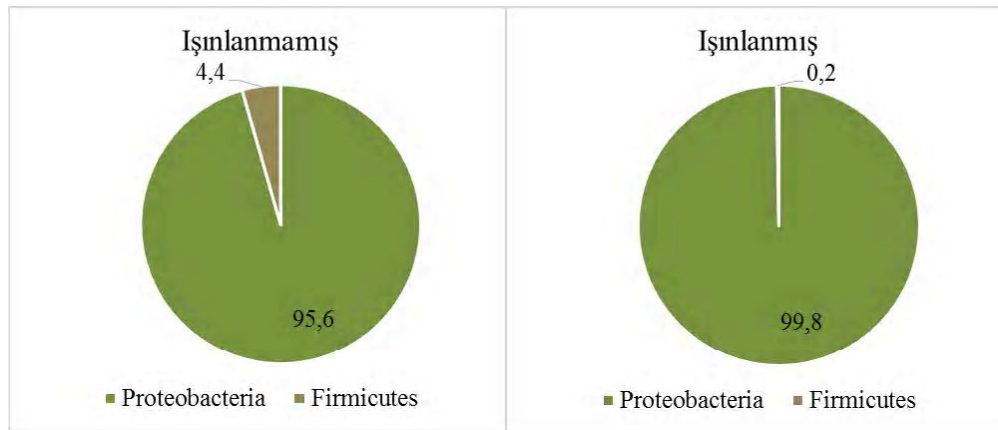


Şekil 3.16. *C. capitata* laboratuvar erginlerinin tür düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

3.2.2. Mersin ve Antalya Doğal Popülasyonlarına ait *C. capitata* Örneklerinin Bağırsak Bakterileri Taraması

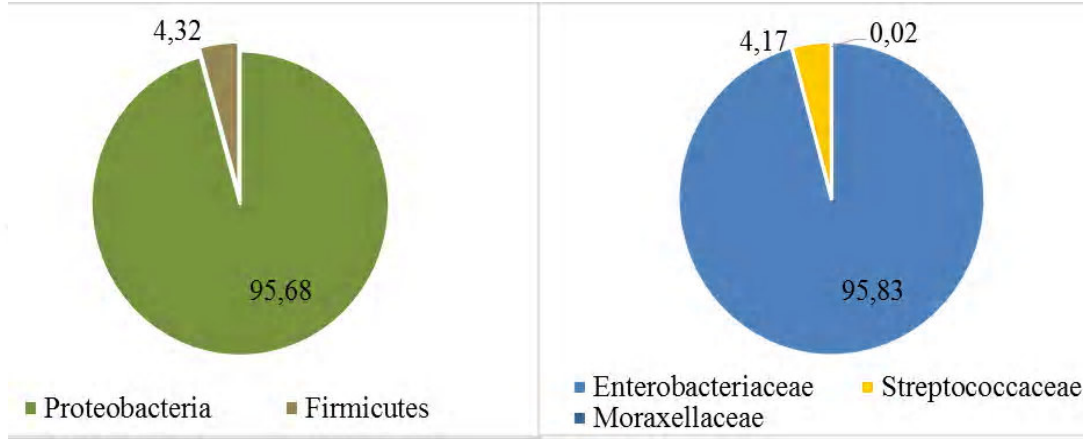
Bu çalışmada ışınlanmamış (kontrol. 0 Gy) ve ışınlanmış (100 Gy) *C. capitata* Mersin ve Antalya doğal popülasyonları 1, 5 ve 15 günlük erginlerinin bağırsak florası 16S rDNA gen bölgesine ait universal primerler (27F-1492R) kullanılarak araştırılmıştır. Sekans uzunlukları 1300-1370 bp arasında değişiklik göstermiştir.

C. capitata doğal ırkı ışınlanmamış erginlerinin bağırsak florasında yoğun olarak Proteobacteria (% 95,6) ve daha az yoğun olarak Firmicutes (% 4,4)'e rastlanmıştır. Laboratuvar ırkı ışınlanmış erginlerin bağırsak florasında ise benzer olarak Proteobacteria (% 99,8) ve daha az yoğun olarak Firmicutes (% 0,2)'e rastlanmıştır (Şekil 3.17).



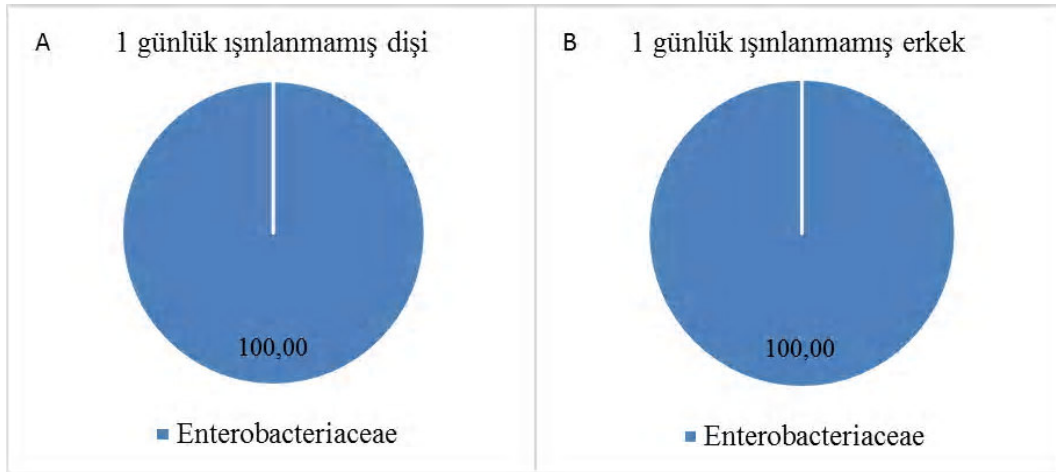
Şekil 3.17. Mersin ve Antalya popülasyonları ışınlanmamış ve ışınlanmış *C. capitata* erginlerinin şube düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu.

C. capitata Mersin ve Antalya popülasyonu erginlerinin bağırsak florasında yoğun olarak Proteobacteria (% 95.68) ve daha az yoğun olarak Firmicutes (% 4.32)'e rastlanmıştır. Floradaki Proteobacteria şubesi üyeleri, Enterobacteriaceae (% 95.83) ve nadiren Moraxellaceae (% 0.02) familyalarına ait bakterilerdir. Daha az yoğun olan Firmicutes şubesinde ise Streptococcaceae(% 4.17) familyasına ait bakterilere rastlanmıştır (Şekil 3.18).



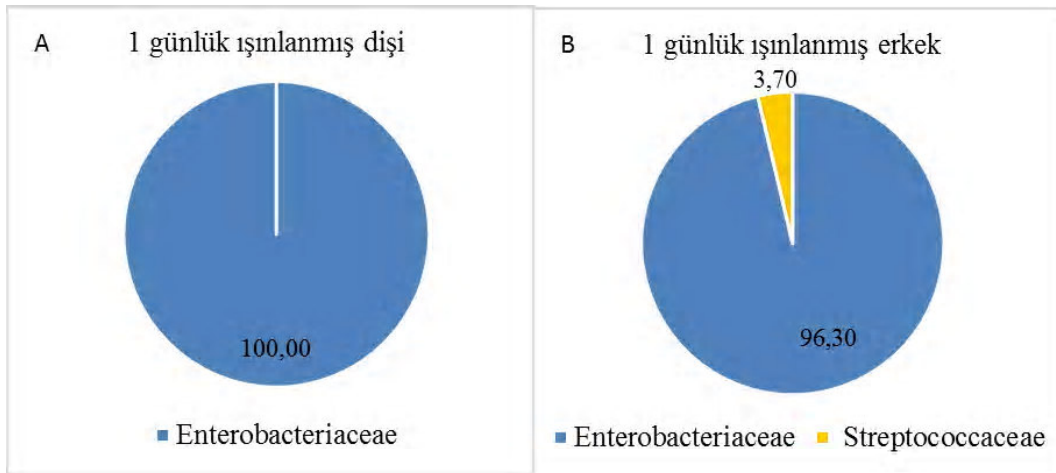
Şekil 3.18. Mersin ve Antalya popülasyonu *C. capitata* erginlerinin bağırsak bakteri yoğunluğu.

C. capitata Mersin popülasyonu ışınlanmamış 1 günlük erginlerin bağırsak florasında sadece Enterobacteriaceae (% 100) familyasına rastlanmıştır (Şekil 3.19).



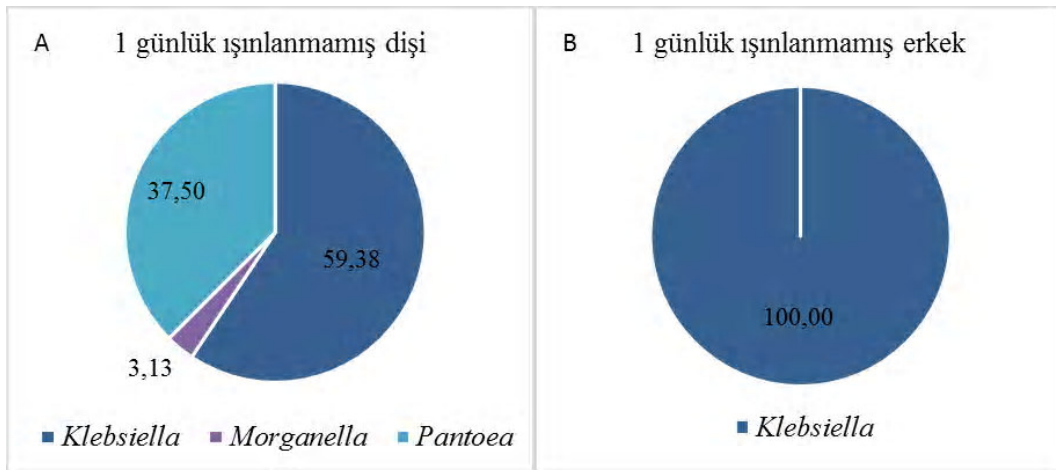
Şekil 3.19. *C. capitata* Mersin popülasyonu ışınlanmamış 1 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Mersin popülasyonu ışınlanmış 1 günlük dişilerin bağırsak florasında sadece Enterobacteriaceae (% 100) familyasına; erkeklerin bağırsak florasında ise yoğun olarak Enterobacteriaceae (% 96.30) ve daha az yoğun olarak Streptococcaceae (% 3.70) familyalarına rastlanmıştır (Şekil 3.20).



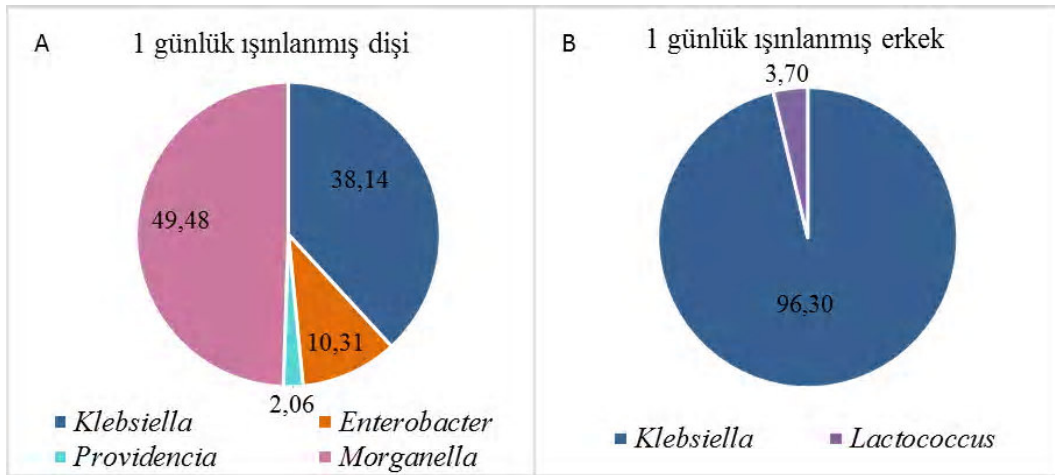
Şekil 3.20. *C. capitata* Mersin popülasyonu ısıtılmış 1 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Mersin popülasyonu ısıtılmamış 1 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak *Klebsiella* (% 59.38) ve daha az yoğun olarak *Pantoea* (% 37.50) ve *Morganella* (% 3.13) bakterilerine; ısıtılmamış 1 günlük erkeklerin bağırsak florasında ise sadece *Klebsiella* (% 100) bakterisine rastlanmıştır (Şekil 3.21).



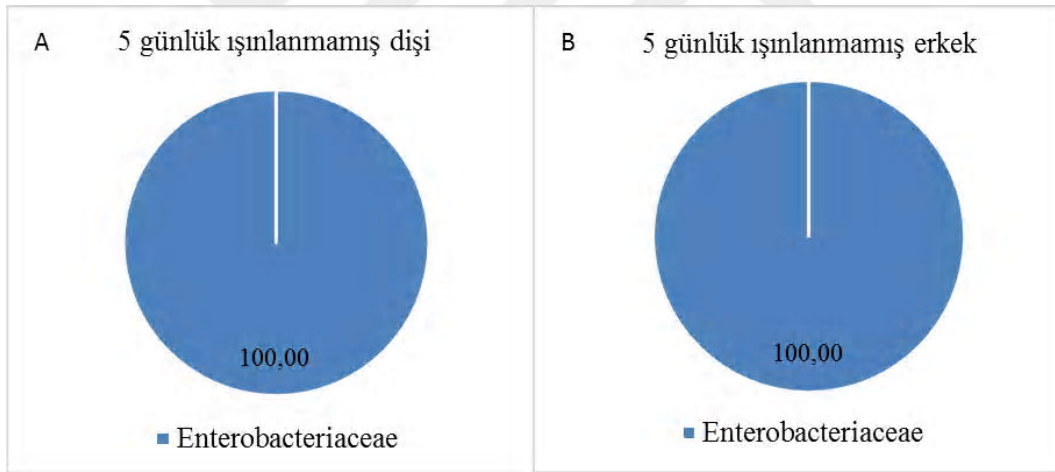
Şekil 3.21. *C. capitata* Mersin popülasyonu ısıtılmamış 1 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Mersin popülasyonu ısıtılmış 1 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak *Morganella* (% 49.48) ve *Klebsiella* (% 38.14); daha az yoğun olarak *Enterobacter* (% 10.31) ve *Providencia* (% 2.06) bakterilerine; erkeklerin bağırsak florasında yoğun olarak *Klebsiella* (% 96.30) ve daha az yoğun olarak *Lactococcus* (% 3.70) bakterilerine rastlanmıştır (Şekil 3.22).



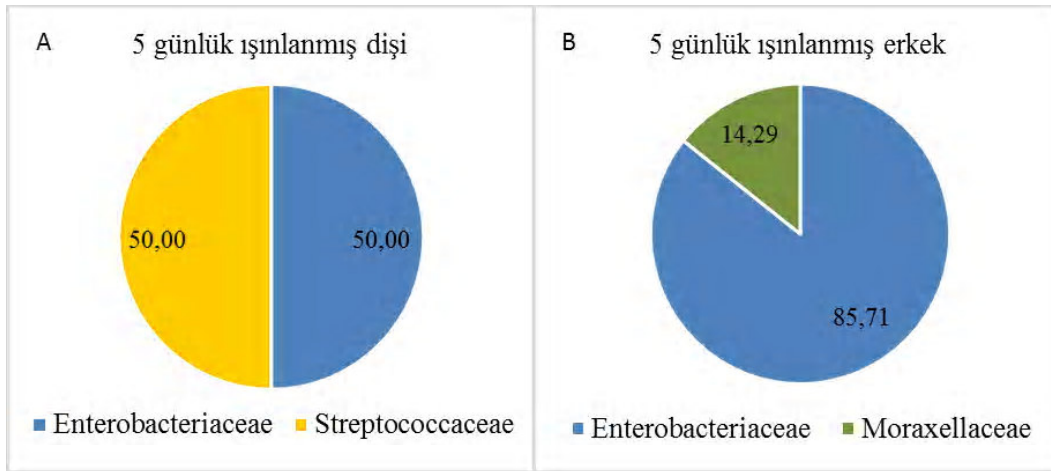
Şekil 3.22. *C. capitata* Mersin popülasyonu ışınlanmış 1 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Mersin popülasyonu ışınlanmamış 5 günlük erginlerin bağırsak florasında sadece Enterobacteriaceae (% 100) familyasına rastlanmıştır (Şekil 3.23).



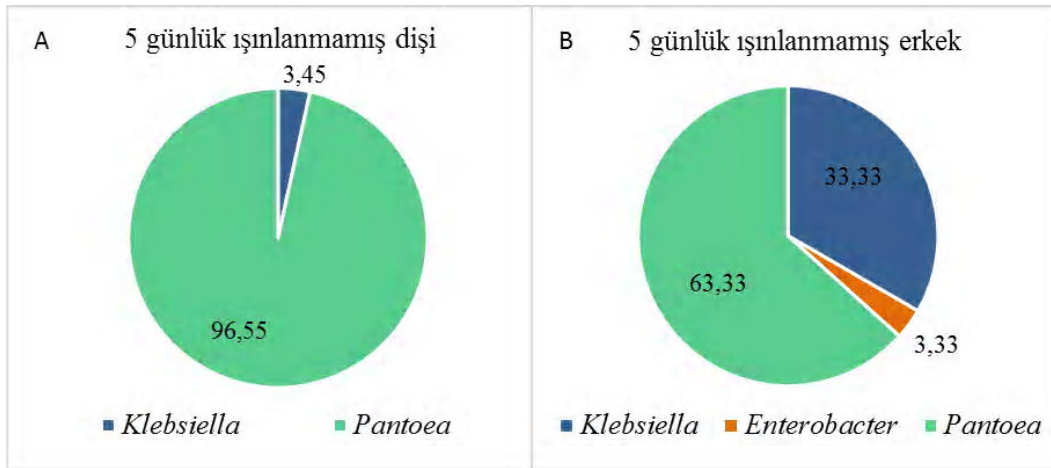
Şekil 3.23. *C. capitata* Mersin popülasyonu ışınlanmamış 5 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Mersin popülasyonu ışınlanmış 5 günlük dişilerin bağırsak florasında eşit oranda Enterobacteriaceae (% 50) ve Streptococcaceae (% 50) familyalarına; ışınlanmış 5 günlük erkeklerin bağırsak florasında ise yoğun olarak Enterobacteriaceae (% 85.71) ve daha az yoğun olarak Moraxellaceae (% 14.29) familyalarına rastlanmıştır (Şekil 3.24).



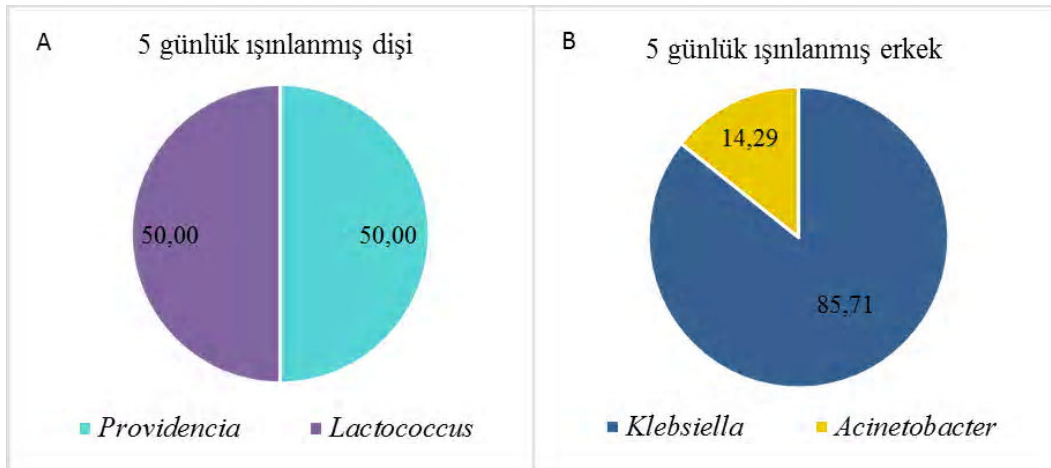
Şekil 3.24. *C. capitata* Mersin popülasyonu ısıtılmış 5 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Mersin popülasyonu ısıtılmamış 5 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak *Pantoea* (% 96.55) ve daha az yoğun olarak *Klebsiella* (% 3.45) bakterilerine; ısıtılmamış 5 günlük erkeklerin bağırsak florasında ise yoğun olarak *Pantoea* (% 63.33) ve daha az yoğun olarak *Klebsiella* (%3 3.33) ve *Enterobacter* (% 3.33) bakterilerine rastlanmıştır (Şekil 3.25).



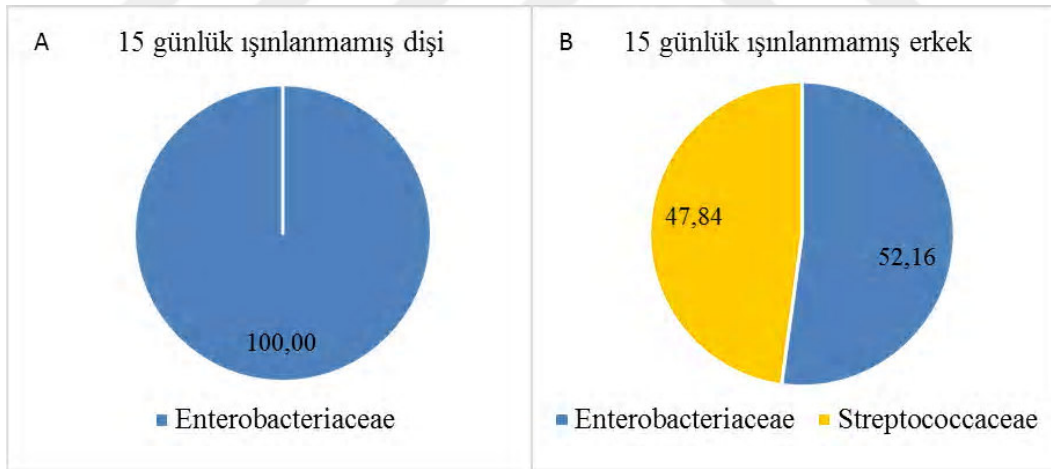
Şekil 3.25. *C. capitata* Mersin popülasyonu ısıtılmamış 5 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Mersin popülasyonu ısıtılmış 5 günlük dişilerin bağırsak florasında eşit oranda *Providencia* (% 50) ve *Lactococcus* (% 50) bakterilerine; ısıtılmamış 5 günlük erkeklerin bağırsak florasında ise yoğun olarak *Klebsiella* (% 85.71) ve daha az yoğun olarak *Acinetobacter* (%14.29) bakterilerine rastlanmıştır (Şekil 3.26).



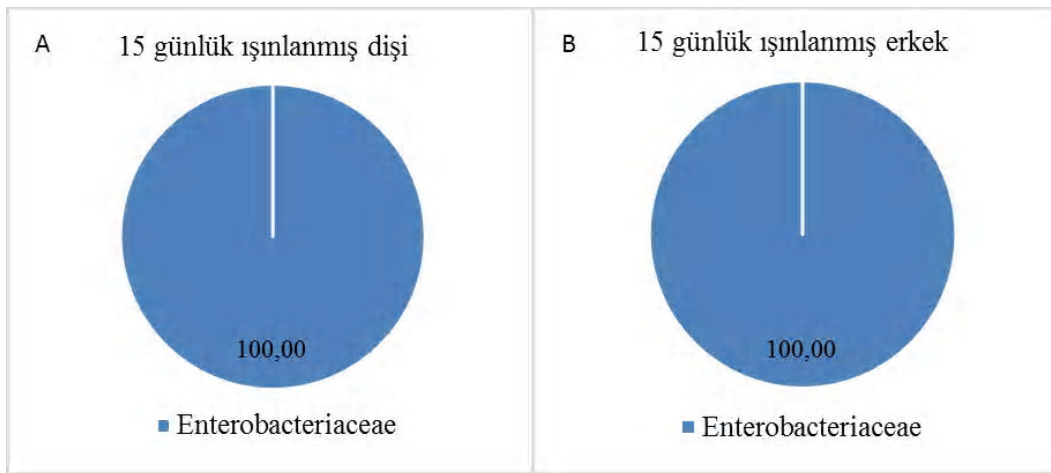
Şekil 3.26. *C. capitata* Mersin popülasyonu ısıtılmış 5 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Mersin popülasyonu ısıtılmamış 15 günlük dişilerin bağırsak florasında sadece Enterobacteriaceae (% 100) familyasına; ısıtılmamış 15 günlük erkeklerin bağırsak florasında ise yoğun olarak Enterobacteriaceae (% 52,16) ve daha az yoğun olarak Streptococcaceae (% 47,84) familyalarına rastlanmıştır (Şekil 3.27).



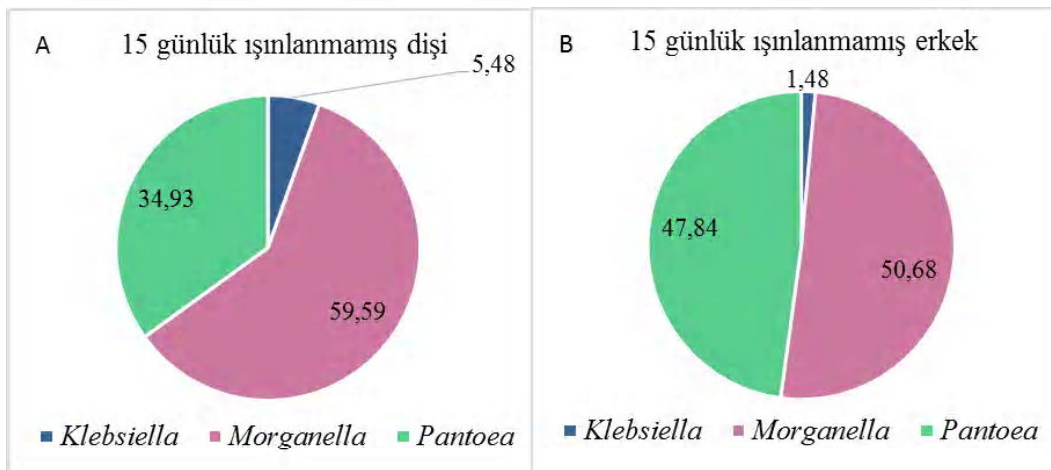
Şekil 3.27. *C. capitata* Mersin popülasyonu ısıtılmamış 15 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Mersin popülasyonu ısıtılmış 1 günlük erginlerin bağırsak florasında sadece Enterobacteriaceae (% 100) familyasına rastlanmıştır (Şekil 3.28).



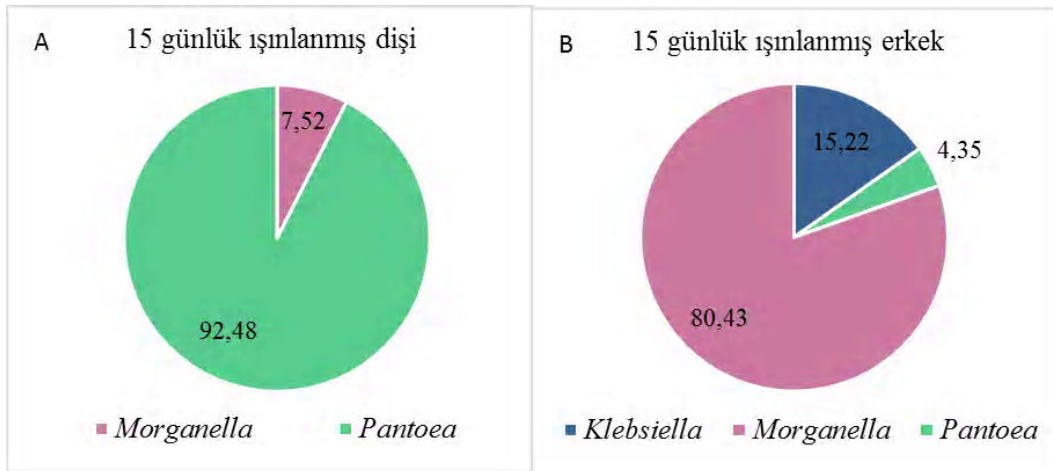
Şekil 3.28. *C. capitata* Mersin popülasyonu ısıtılmış 15 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Mersin popülasyonu ısıtılmamış 15 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak *Morganella* (% 59.59) ve *Pantoea* (% 34.93) bakterilerine, daha az yoğun olarak *Klebsiella* (% 5.48) bakterisine; ısıtılmamış 15 günlük erkeklerin bağırsak florasında benzer olarak *Morganella* (% 50.68) ve *Pantoea* (% 47.84) bakterilerine, daha az yoğun olarak *Klebsiella* (% 1.48) bakterisine rastlanmıştır (Şekil 3.29).



Şekil 3.29. *C. capitata* Mersin popülasyonu ısıtılmamış 15 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

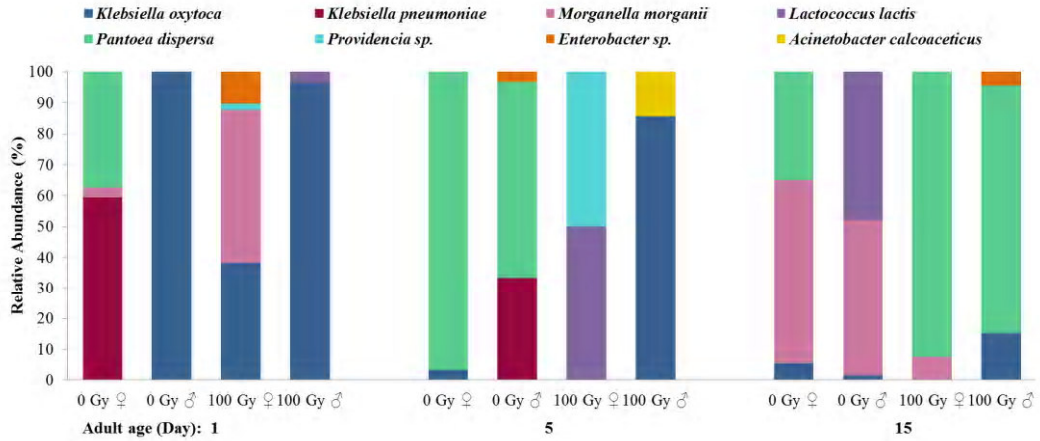
C. capitata Mersin popülasyonu ısıtılmış 15 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak *Pantoea* (% 92.48) ve daha az yoğun olarak *Morganella* (% 7.52) bakterilerine; ısıtılmış 15 günlük erkeklerin bağırsak florasında yoğun olarak *Morganella* (% 80.43) bakterisine, daha az yoğun olarak *Klebsiella* (% 15.22) ve *Pantoea* (% 4.35) bakterilerine rastlanmıştır (Şekil 3.30).



Şekil 3.30. *C. capitata* Mersin popülasyonu ışınlanmış 15 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

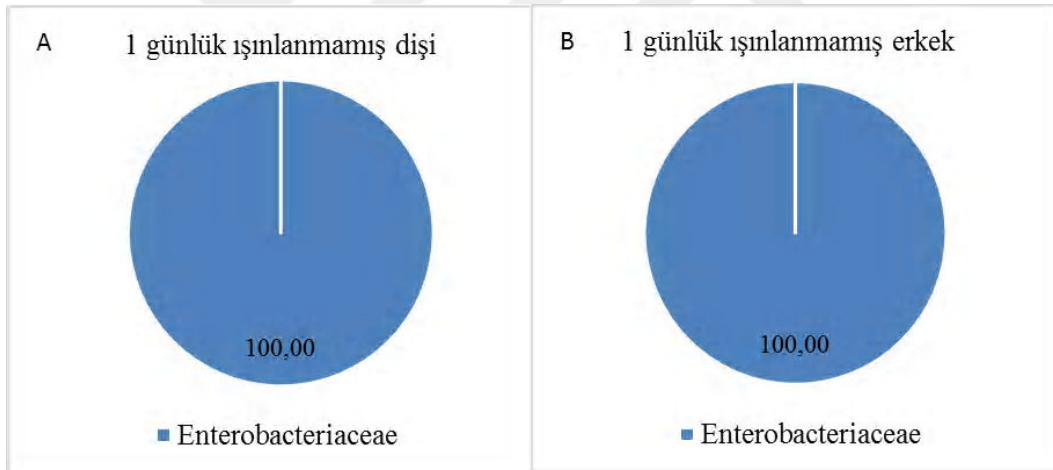
ışınlanmamış ve ışınlanmış Mersin popülasyonu erginlerinin bağırsak florası incelendiğinde *K.oxytoca*, *K. pneumoniae*, *M.morganii*, *Providenciasp.*, *L.lactis*, *Pantoea dispersa*, *Enterobacter sp.* ve *Acinetobacter calcoeticus* t rl rine rastlanmıştır (Şekil 3.31). ışınlanmış 5 günlük ve 15 günlük erginlerin bakteri çeşitliliğinin birbirine benzer olduğu, 1 günlük erginlerin ise farklı olduğu gözlenmiştir. ışınlanmamış 1 günlük erginlerde *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *M. morganii* ve *P. dispersa* bakterileri bulunurken, ışınlanmış erginlerde *K. oxytoca*, *M. morganii*, *Enterobacter sp.*, *Providencia sp.* ve *L. lactis* bakterilerine rastlanmıştır. *A. calcoeticus* bakterisi sadece ışınlanmış 5 günlük erkeklerde görülmüştür. 5 günlük erginlerde yoğun olarak *P. dispersa*, ve *K. oxytoca*, bakterilerine; daha az yoğun olarak *K. pneumoniae*, *Providencia sp.*, *L. lactis*, *Enterobacter sp.* ve *A. calcoeticus* bakterilerine rastlanmıştır.

15 günlük erginlerde yoğun olarak *P. dispersa*, *M. morganii* ve *L. lactis* bakterilerine; daha az yoğunlukta *K. oxytoca* ve *Enterobacter sp.* bakterilerine rastlanmıştır. 5 günlük erginlerdeki bakteri tür sayısının 1 ve 15 günlük erginlerden daha fazla olduğu belirlenmiştir. *P. dispersa* ve *K. oxytoca* t rl ri yaştan bağımsız olarak sürekli ve daha yaygın bulunmuştur.



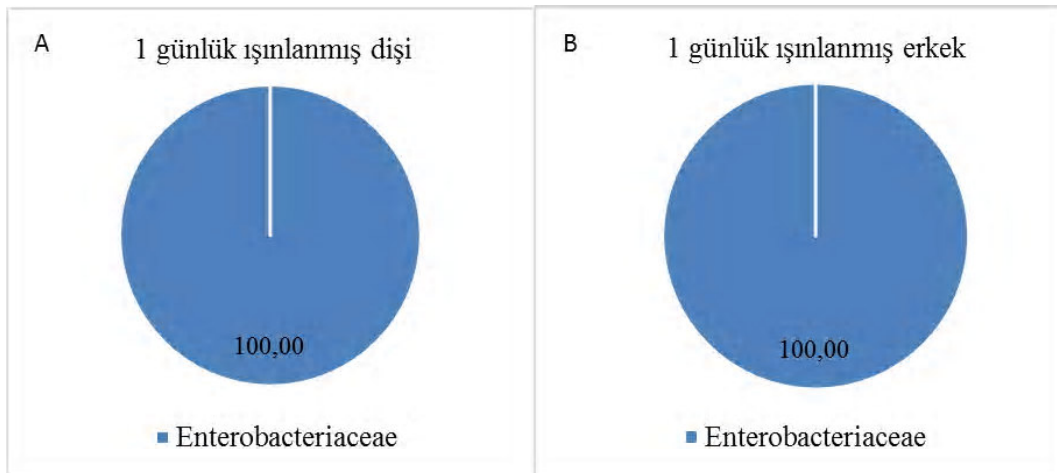
Şekil 3.31. *C. capitata* Mersin popülasyonu erginlerinin tür düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Antalya popülasyonu ışınlanmamış 1 günlük erginlerin bağırsak florasında sadece Enterobacteriaceae (% 100) familyasına rastlanmıştır (Şekil 3.32).



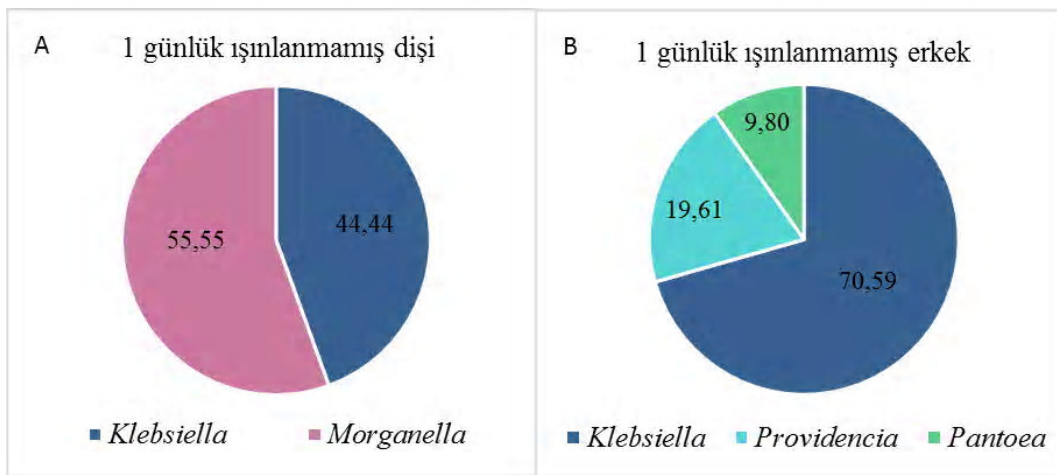
Şekil 3.32. *C. capitata* Antalya popülasyonu ışınlanmamış 1 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Antalya popülasyonu ışınlanmış 1 günlük erginlerin bağırsak florasında sadece Enterobacteriaceae (% 100) familyasına rastlanmıştır (Şekil 3.33).



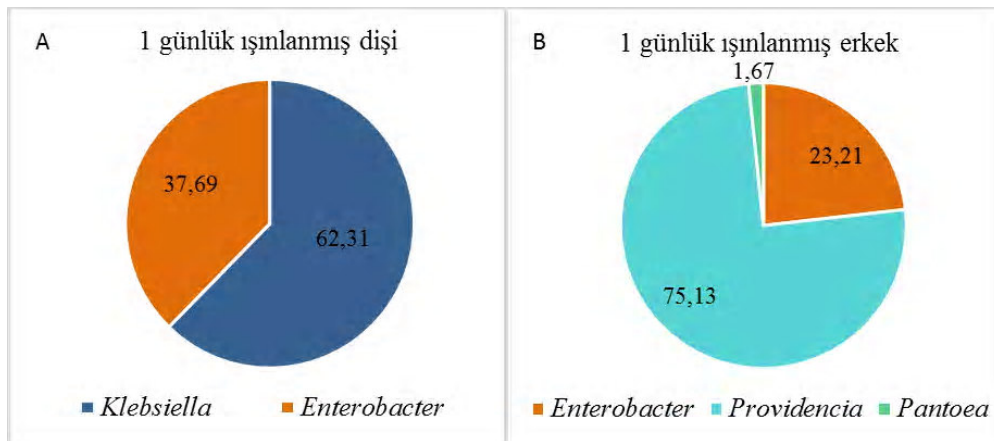
Şekil 3.33. *C. capitata* Antalya popülasyonu ısıtılmış 1 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Antalya popülasyonu ısıtılmamış 1 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak *Morganella* (% 55.55) ve daha az yoğun olarak *Klebsiella* (% 44.44) bakterilerine; ısıtılmamış 1 günlük erkeklerin bağırsak florasında ise yoğun olarak *Klebsiella* (% 70.59) ve daha az yoğun olarak *Providencia* (% 19.61) ile *Pantoea* (% 9.80) bakterilerine rastlanmıştır (Şekil 3.34).



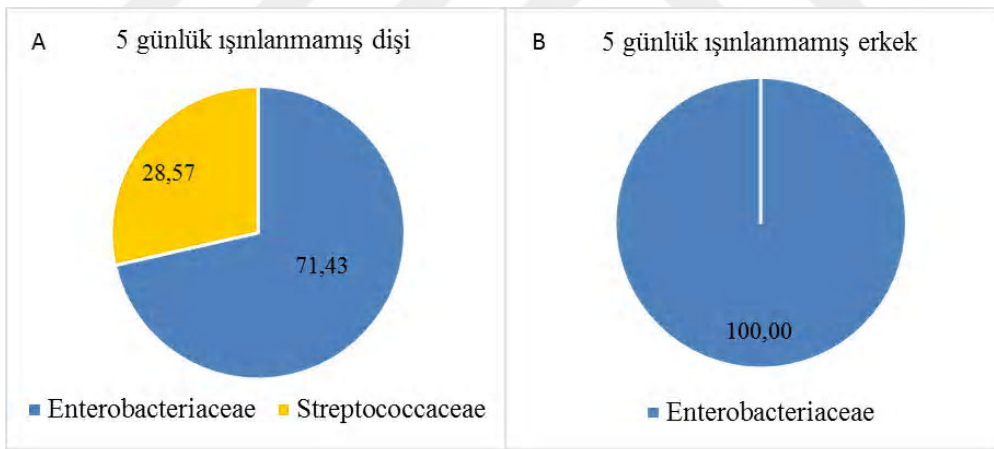
Şekil 3.34. *C. capitata* Antalya popülasyonu ısıtılmamış 1 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Antalya popülasyonu ısıtılmış 1 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak *Klebsiella* (% 62.31) ve daha az yoğun olarak *Enterobacter* (% 37.69) bakterilerine; ısıtılmış 1 günlük erkeklerin bağırsak florasında yoğun olarak *Providencia* (% 75.13) ve daha az yoğun olarak *Enterobacter* (% 23.21) ile *Pantoea* (% 1.67) bakterilerine rastlanmıştır (Şekil 3.35).



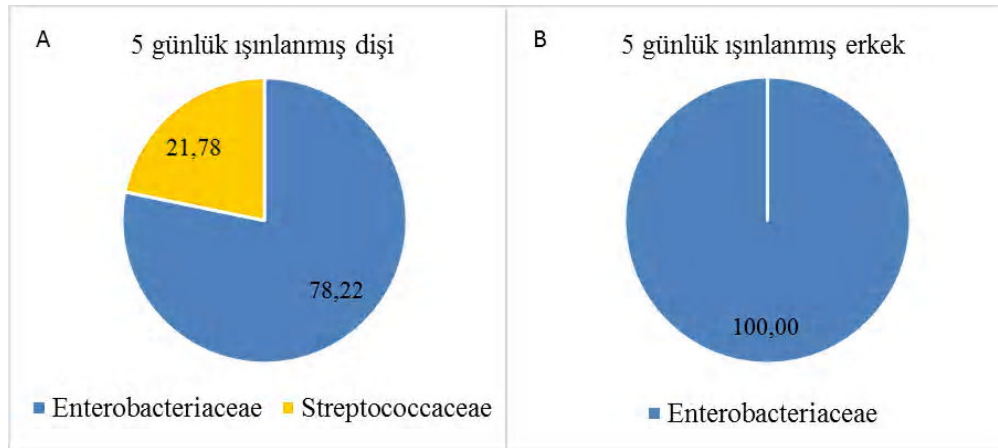
Şekil 3.35. *C. capitata* Antalya popülasyonu ışınlanmış 1 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Antalya popülasyonu ışınlanmamış 5 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak Streptococcaceae (% 94.83) ve daha az yoğun olarak Enterobacteriaceae (% 5.17) familyalarına; ışınlanmamış 5 günlük erkeklerin bağırsak florasında ise sadece Enterobacteriaceae (% 100) familyasına rastlanmıştır (Şekil 3.36).



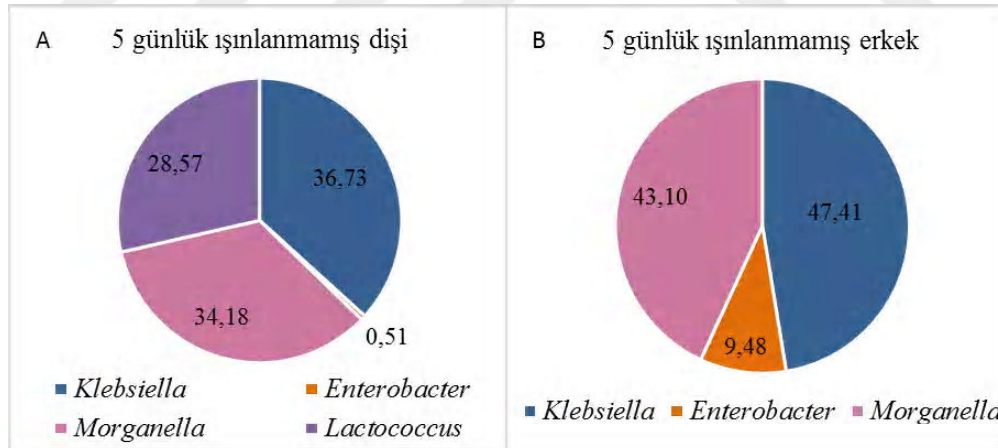
Şekil 3.36. *C. capitata* Antalya popülasyonu ışınlanmamış 5 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Antalya popülasyonu ışınlanmış 5 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak Enterobacteriaceae (% 78.22) ve daha az yoğun olarak Streptococcaceae (% 21.78) familyalarına; ışınlanmış 5 günlük erkeklerin bağırsak florasında ise sadece Enterobacteriaceae (% 100) familyasına rastlanmıştır (Şekil 3.37).



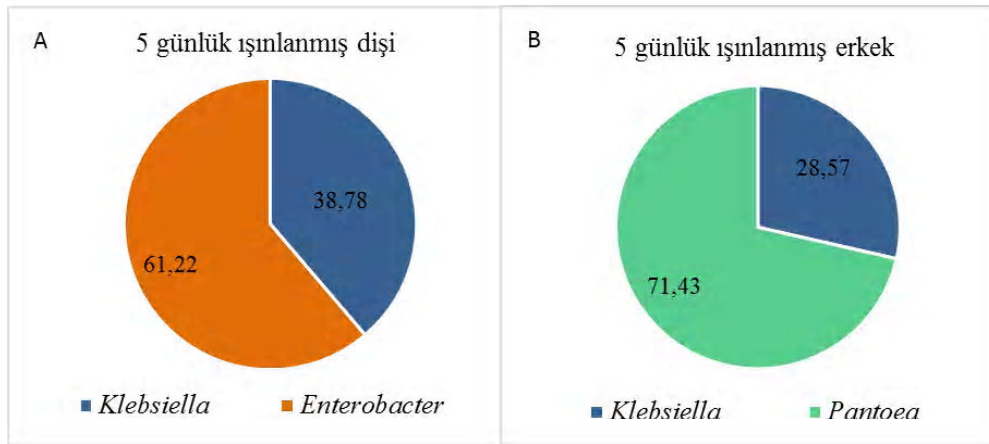
Şekil 3.37. *C. capitata* Antalya popülasyonu ısıtılmış 5 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Antalya popülasyonu ısıtılmamış 5 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak *Klebsiella* (% 36.73) ile *Morganella* (% 34.18) ve daha az yoğun olarak *Lactococcus* (% 28.57) ile *Enterobacter* (% 0.51) bakterilerine; ısıtılmamış 5 günlük erkeklerin bağırsak florasında ise yoğun olarak *Klebsiella* (% 47.41) ile *Morganella* (% 43.10) ve daha az yoğun olarak *Enterobacter* (% 9.48) bakterilerine rastlanmıştır (Şekil 3.38).



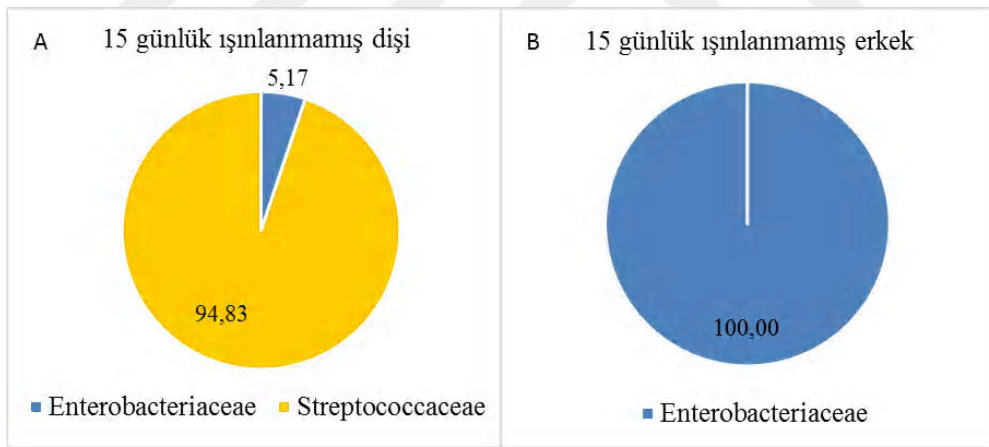
Şekil 3.38. *C. capitata* Antalya popülasyonu ısıtılmamış 5 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Antalya popülasyonu ısıtılmış 5 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak *Enterobacter* (% 61.22) ve daha az yoğun olarak *Klebsiella* (% 38.78) bakterilerine; ısıtılmış 5 günlük erkeklerin bağırsak florasında yoğun olarak *Pantoea* (% 71.43) ve daha az yoğun olarak *Klebsiella* (% 28.57) bakterilerine rastlanmıştır (Şekil 3.39).



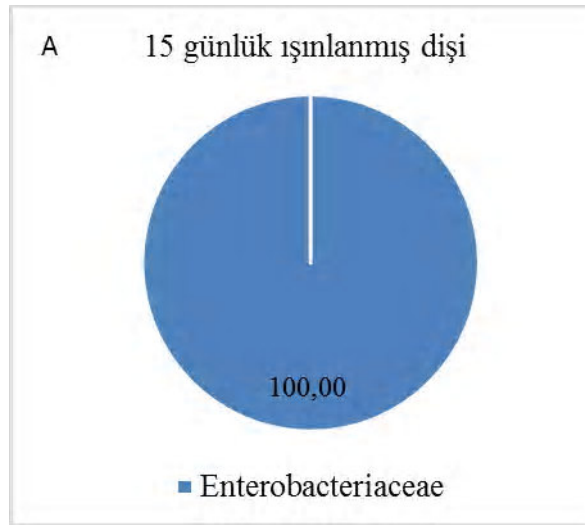
Şekil 3.39. *C. capitata* Antalya popülasyonu ısıtılmış 5 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Antalya popülasyonu ısıtılmamış 15 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak Streptococcaceae (% 94,83) ve daha az yoğun olarak Enterobacteriaceae (% 5,17) familyalarına; ısıtılmamış 15 günlük erkeklerin bağırsak florasında ise sadece Enterobacteriaceae (% 100) familyasına rastlanmıştır (Şekil 3.40).



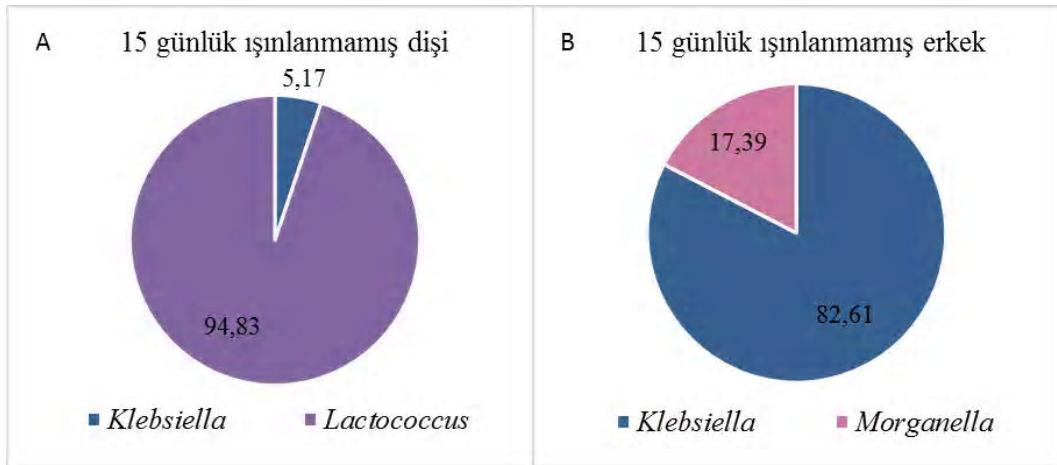
Şekil 3.40. *C. capitata* Antalya popülasyonu ısıtılmamış 15 günlük erginlerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Antalya popülasyonu ısıtılmış 15 günlük dişilerin bağırsak florasında sadece Enterobacteriaceae (% 100) familyasına rastlanmıştır (Şekil 3.41).



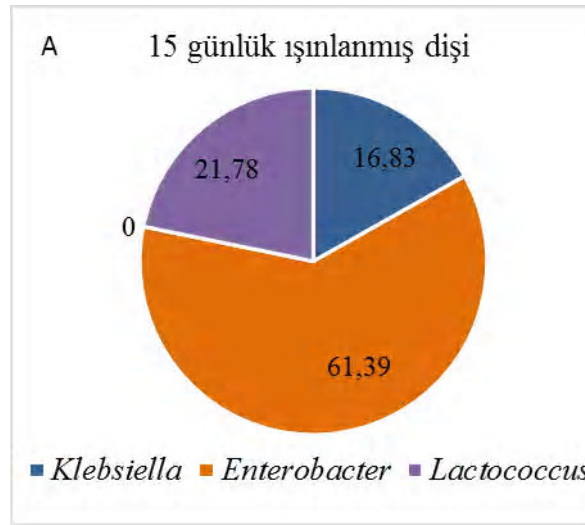
Şekil 3.41. *C. capitata* Antalya popülasyonu ısıtılmış 15 günlük dişilerinin familya düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

C. capitata Antalya popülasyonu ısıtılmamış 15 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak *Lactococcus* (% 94.83) ve daha az yoğun olarak *Klebsiella* (% 5.17) bakterilerine; ısıtılmamış 15 günlük erkeklerin bağırsak florasında yoğun olarak *Klebsiella* (% 82.61) ve daha az yoğun olarak *Morganella* (% 17.39) bakterilerine rastlanmıştır (Şekil 3.42).



Şekil 3.42. *C. capitata* Antalya popülasyonu ısıtılmamış 15 günlük erginlerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

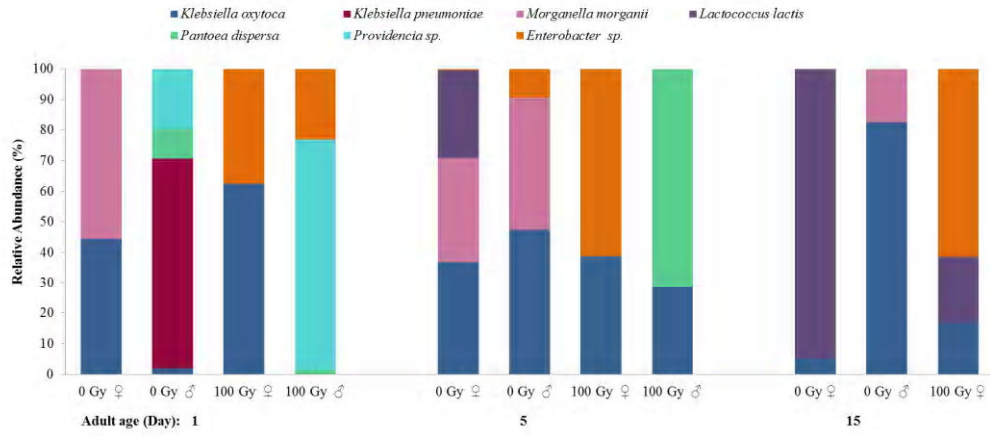
C. capitata Antalya popülasyonu ısıtılmış 15 günlük dişilerin bağırsak florasında yoğun olarak *Enterobacter* (% 61.39) ve daha az yoğun olarak *Lactococcus* (% 21.78) ile *Klebsiella* (% 16.83) bakterilerine rastlanmıştır (Şekil 3.43).



Şekil 3.43. *C. capitata* Antalya popülasyonu ısıtılmış 15 günlük dişilerinin cins düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

Isınanmamış ve ısınanmış Antalya popülasyonu erginlerinin bağırsak florası incelendiğinde *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *M. morganii*, *Providencia* sp., *L. lactis*, *P. dispersa* ve *Enterobacter* sp. türlerine rastlanmıştır (Şekil 3.44). Isınanmamış 1 günlük ve 5 günlük erginlerin bakteri çeşitliliğinin birbirine benzer olduğu, 15 günlük erginlerin ise farklı olduğu gözlenmiştir. Isınanmamış 1 günlük erginlerde *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *M. morganii*, *P. dispersa* ve *Providencia* sp. bakterileri bulunurken, ısınanmış 1 günlük erginlerde *K. oxytoca*, *Enterobacter* sp. *Providencia* sp. ve *P. dispersa* bakterilerine rastlanmıştır. 5 günlük erginlerde yoğun olarak *K. oxytoca*, *P. dispersa* ve *Enterobacter* sp. bakterilerine; daha az yoğun olarak *L. lactis*, ve *M. morganii* bakterilerine rastlanmıştır (Şekil 3.45).

15 günlük erginlerde yoğun olarak *L. lactis* ve *K. oxytoca* bakterilerine; daha az yoğunlukta *Enterobacter* sp. ve *M. morganii* bakterilerine rastlanmıştır. Bakteri tür sayısının yaşlandıkça azaldığının belirlenmesinin yanı sıra *K. oxytoca* türünün ısıtılma ve yaştan bağımsız olarak sürekli ve yaygın olduğu bulunmuştur.



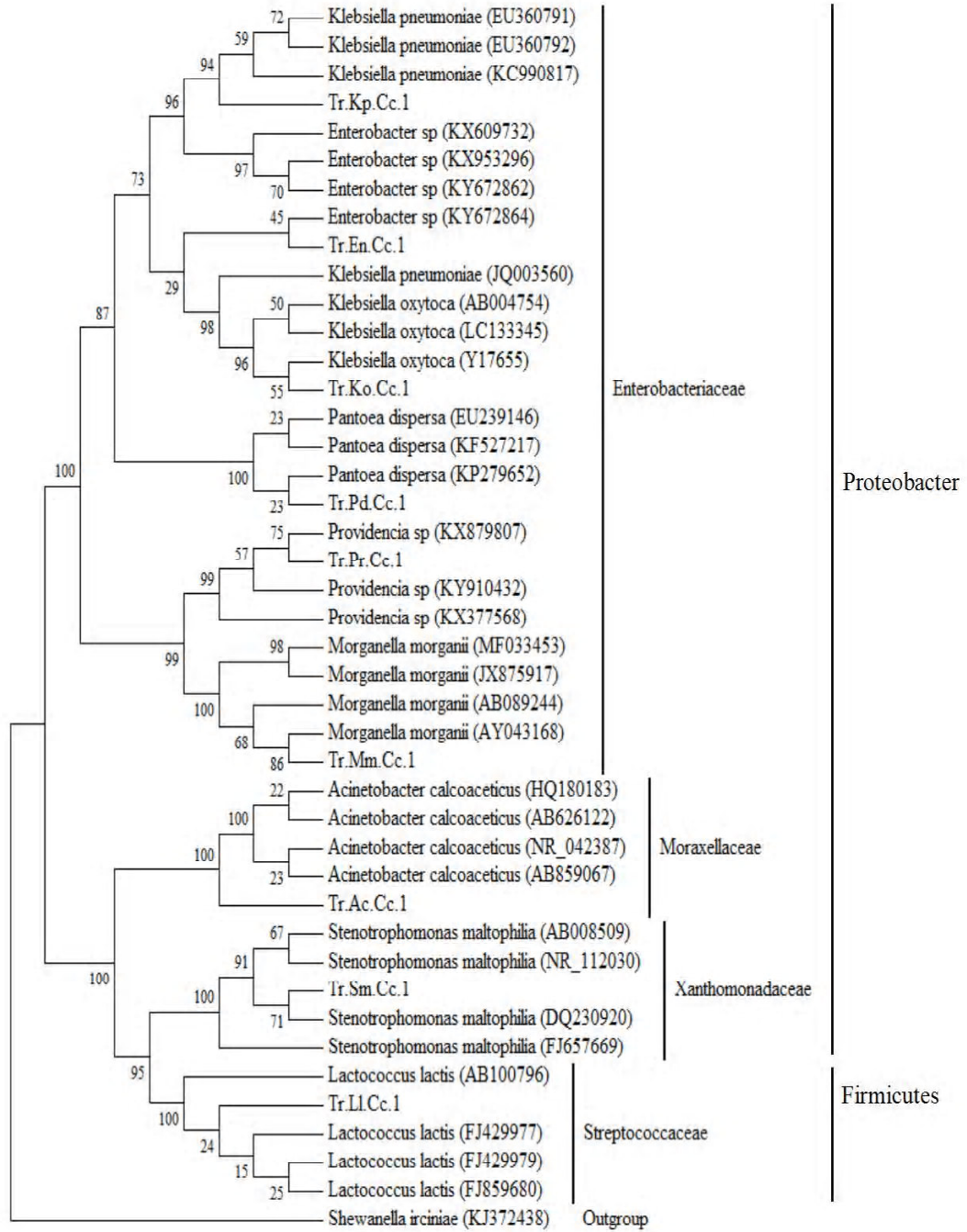
Şekil 3.44. *C. capitata* Antalya popülasyonu erginlerinin tür düzeyinde bağırsak bakteri yoğunluğu (%).

3.2.3. *C. capitata* ergin Bağırsaklarından İzole Edilen Bakteri 16S rDNADizilerinin Filogenetik Analizi

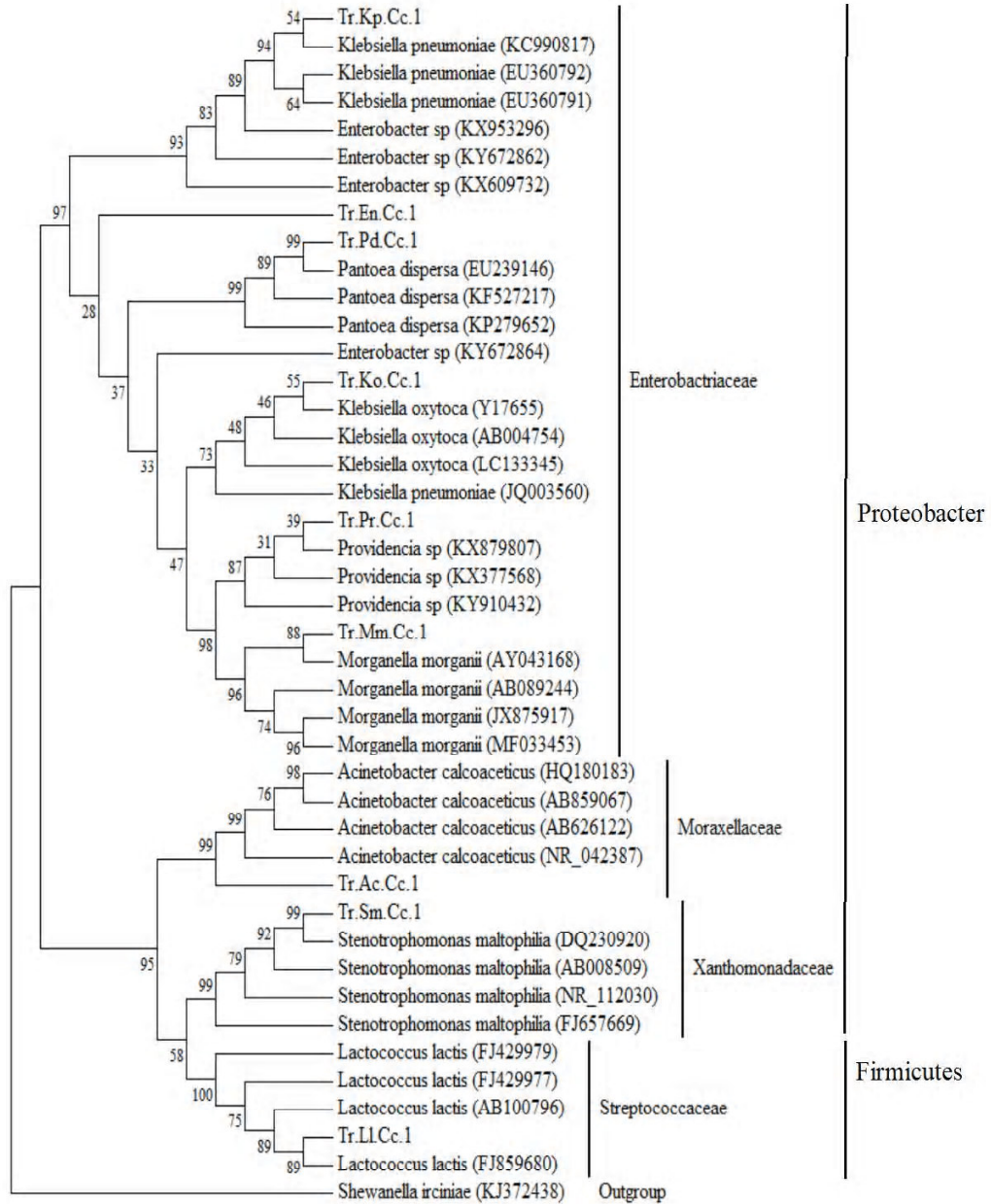
C. capitata ergin bağırsaklarından izole edilen bakterilere ait 16S rDNA gen bölgesi PCR ile çoğaltılmış ve DNA dizi analizi yaptırılmıştır. Geneious programı [110] ile NCBI veri tabanında her bir dizi verisinin BLAST analizi sonucunda bakterilerin cins ve türleri belirlenmiştir.

Belirlenen ve veri tabanındaki türler arasındaki filogenetik ilişki, MEGA6 [111] programında Neighbor Joining (NJ) [112] metodu ile Maksimum Likelihood (ML) analizi ve 1.000 tekrarlı Kimura-2-parametre (K2P) baz değişim modeli [113] kullanılarak oluşturulan NJ, ML ağaçları ve bootstrap değerleri Şekil 3.46 ve 3.47’de gösterilmiştir. *Shewanella IRCINIAE* (KJ372438) ağaçlarda dış grup olarak kullanılmıştır. Çalışmamızda Proteobacter ve Firmicutes şubelerine ait bakterilere rastlanmıştır. Elde edilen *K. pneumoniae* (Tr.Cc.Kp.1) izolatu NCBI veri tabanından elde edilen verilerden (*K. pneumoniae* EU360791, EU360792, KC990817) farklı bir dal oluşturmuştur. Elde ettiğimiz *Enterobacter* sp. (Tr.Cc.En.1) izolatu gen bankası verileri ile karşılaştırıldığında, *Enterobacter* sp.(KX953296, KX609732, KY672862) izolatlarından farklı bir grupta (klad) yer almıştır. *K. oxytoca* (Tr.Cc.Ko.1) izolatu ise veri tabanındaki *K. oxytoca*(AB004754, LC133345, Y17655) ile aynı yerde kümelenmiştir.

Çalışmamızdan elde edilen *P. dispersa* (Tr.Cc.Pd.1) izolatu, veri tabanındaki *P. dispersa*(EU239146, KP279652, KF527217) ile aynı grupta yer almıştır. *Providencia* sp. (Tr.Cc.Pr.1) izolatu ise *Providencia* sp. (KY910432, KX377568, KX879807) ile bir grup oluşturmuştur. *M. morganii* (Tr.Cc.Mm.1) izolatu, *M. morganii* (AB089244, MF033453, JX875917) izolatlarının oluşturduğu gruptan farklı bir grupta yer almıştır. Çalışmamızdan elde edilen *A. calcoaceticus* (Tr.Cc.Ac.1) izolatu veri tabanındaki verilerden (*A. calcoaceticus* HQ180183, NR_042387, AB859067, AB626122) farklı bir dal oluşturmuştur. *S. maltophilia* (Tr.Cc.Sm.1) izolatu ise veri tabanındaki *S. maltophilia* (DQ230920, FJ657669, NR_112030, AB008509) ile aynı grupta yer almıştır. *L. lactis* (Tr.Cc.Ll.1) izolatu, veri tabanından alınan *L. lactis* (FJ859680, FJ429979, FJ429977, AB100796) ile bir grup oluşturmuştur. ML metodu ile oluşturulan ağaç, *Enterobacter* sp. (Tr.Cc.En.1) izolatu haricinde, NJ ağacıyla benzer topoloji göstermektedir (Şekil 51 ve 52).



Şekil 3.46. *C. capitata* ergin bağırsaklarından izole edilen bakterilere ait filogenetik ilişkiyi gösteren K2P model ve NJ metodu ile oluşturulan ağaç.



Şekil 3.47. *C. capitata* ergin bağırsaklarından izole edilen bakterilere ait filogenetik ilişkiyi gösteren K2P model ve MLmetodu ile oluşturulan ağaç.

3.2.4. *C. capitata* Ergin Bağırsaklarından İzole Edilen Bakteriler Arasındaki Genetik Uzaklığı Hesaplanması

C. capitata ergin bağırsaklarından izole edilen bakteriler arasındaki genetik uzaklık değerleri MEGA6 programında K2P baz değişim modeli kullanılarak elde edilmiştir (Tablo 3.1).

Genetik uzaklık değerleri incelendiğinde; *A. calcoeticus* (Tr.Cc.Ac.1) izolatu ile gen bankası verisi (*A. calcoaceticus*, HQ180183) arasında % 0,29 (0.029) genetik uzaklık bulunmuştur. *Enterobacter* sp (Tr.Cc.En.1) izolatu ile en büyük genetik uzaklık değeri % 0.15 (0.015) *Enterobacter* sp (KX609732) arasındadır. *K. oxytoca* (Tr.Cc.Ko.1) izolatu ile *K. oxytoca* (LC133345) arasındaki genetik uzaklık çok azdır (% 0.03, 0.003). *K. pneumoniae* (Tr.Cc.Kp.1) izolatu ile en büyük genetik uzaklık değeri ise % 0.28 (0.028) olarak *K. pneumoniae* (JQ003560) arasında bulunmuştur. *L. lactis* (Tr.Cc.Ll.1) izolatu ile *L. lactis* (FJ859680) arasındaki genetik uzaklık % 0.03 (0.003)'tür. *P. dispersa* (Tr.Cc.Pd.1) izolatu ile gen bankası verisi *P. dispersa* (EU239146) birbirine benzerdir. *Providencia* sp (Tr.Cc.Pr.1) izolatu ile *Providencia* sp (KX377568) arasındaki en büyük genetik uzaklık değeri % 0.15 (0.015) iken, *S. maltophilia* (Tr.Cc.Sm.1) izolatu ile *S. maltophilia* (FJ657669) arasındaki en büyük genetik uzaklık değeri % 0.16 (0.016) bulunmuştur. *M. morganii* (Tr.Cc.Mm.1) izolatu ile en büyük genetik uzaklık değeri % 0.08 (0.008) *M. morganii* (MF033453) ve *M. morganii* (JX875917) arasında bulunmuştur.

Tablo 3.1. Kimura 2 Parametre baz değişim modeli kullanılarak elde edilen genetik uzaklık değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1 <i>A. calcoaceticus</i> (IQ180183)	*	0,000	0,000	0,000	0,006	0,017	0,017	0,018	0,017	0,017	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,017	0,017	0,017	0,017	0,017	0,027
2 <i>A. calcoaceticus</i> (NR_042387)	0,000	*	0,000	0,000	0,006	0,017	0,017	0,018	0,017	0,017	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,017	0,017	0,017	0,017	0,017	0,027
3 <i>A. calcoaceticus</i> (AB859067)	0,000	0,000	*	0,000	0,006	0,017	0,017	0,018	0,017	0,017	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,017	0,017	0,017	0,017	0,017	0,027
4 <i>A. calcoaceticus</i> (AB76122)	0,000	0,000	0,000	0,000	0,006	0,017	0,017	0,018	0,017	0,017	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,017	0,017	0,017	0,017	0,017	0,027
5 <i>A. calcoaceticus</i> (Tr.Cc.Ac.1)	0,029	0,029	0,029	0,029	*	0,017	0,017	0,018	0,017	0,018	0,019	0,019	0,019	0,019	0,019	0,017	0,017	0,017	0,018	0,029	0,028
6 <i>Enterobacter</i> sp (KX953796)	0,158	0,158	0,158	0,158	0,162	+	0,001	0,001	0,000	0,004	0,006	0,006	0,007	0,006	0,006	0,003	0,003	0,002	0,004	0,028	0,077
7 <i>Enterobacter</i> sp (KX609732)	0,160	0,160	0,160	0,160	0,164	0,001	*	0,003	0,001	0,004	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006	0,003	0,003	0,003	0,004	0,028	0,027
8 <i>Enterobacter</i> sp (KY672864)	0,170	0,170	0,170	0,170	0,174	0,016	0,018	*	0,003	0,003	0,004	0,004	0,004	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,006	0,028	0,028
9 <i>Enterobacter</i> sp (KY672862)	0,158	0,158	0,158	0,158	0,162	0,000	0,001	0,016	*	0,004	0,006	0,006	0,007	0,006	0,006	0,003	0,003	0,002	0,004	0,028	0,027
10 <i>Enterobacter</i> sp (Tr.Cc.En.1)	0,166	0,166	0,166	0,166	0,168	0,014	0,013	0,008	0,014	*	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,006	0,028	0,028
11 <i>K. oxytoca</i> (AB001751)	0,176	0,176	0,176	0,176	0,180	0,032	0,031	0,015	0,032	0,021	*	0,000	0,001	0,002	0,003	0,006	0,006	0,006	0,006	0,028	0,028
12 <i>K. oxytoca</i> (LC133345)	0,176	0,176	0,176	0,176	0,180	0,032	0,031	0,015	0,032	0,021	0,000	*	0,001	0,002	0,003	0,006	0,006	0,006	0,006	0,028	0,028
13 <i>K. oxytoca</i> (Y17655)	0,178	0,178	0,178	0,178	0,182	0,031	0,032	0,016	0,034	0,022	0,001	0,001	*	0,001	0,003	0,006	0,006	0,006	0,007	0,028	0,028
14 <i>K. oxytoca</i> (Tr.Cc.Ko.1)	0,178	0,178	0,178	0,178	0,182	0,032	0,031	0,018	0,032	0,024	0,003	0,003	0,003	0,001	+	0,003	0,006	0,006	0,006	0,028	0,028
15 <i>K. pneumoniae</i> (JQU03560)	0,184	0,184	0,184	0,184	0,182	0,029	0,028	0,018	0,029	0,021	0,008	0,008	0,010	0,008	*	0,003	0,006	0,006	0,006	0,028	0,028
16 <i>K. pneumoniae</i> (EU360791)	0,160	0,160	0,160	0,160	0,164	0,007	0,008	0,024	0,007	0,021	0,025	0,025	0,026	0,025	0,022	+	0,000	0,001	0,003	0,028	0,027
17 <i>K. pneumoniae</i> (EU360792)	0,160	0,160	0,160	0,160	0,164	0,007	0,008	0,024	0,007	0,021	0,025	0,025	0,026	0,025	0,022	0,000	*	0,001	0,003	0,028	0,027
18 <i>K. pneumoniae</i> (KC990817)	0,158	0,158	0,158	0,158	0,162	0,005	0,007	0,022	0,005	0,019	0,026	0,026	0,028	0,026	0,023	0,001	0,001	*	0,003	0,028	0,027
19 <i>K. pneumoniae</i> (Tr.Cc.Kp.1)	0,163	0,163	0,163	0,163	0,166	0,012	0,014	0,029	0,012	0,024	0,031	0,031	0,032	0,031	0,028	0,008	0,008	0,007	+	0,030	0,029
20 <i>L. lactis</i> (TJ859680)	0,278	0,278	0,278	0,278	0,281	0,294	0,294	0,303	0,294	0,304	0,303	0,303	0,303	0,300	0,308	0,296	0,296	0,294	0,307	*	0,002
21 <i>L. lactis</i> (FJ149979)	0,273	0,273	0,273	0,273	0,275	0,288	0,288	0,298	0,288	0,298	0,298	0,298	0,298	0,295	0,303	0,291	0,291	0,288	0,301	0,003	0,000
22 <i>L. lactis</i> (FJ149977)	0,273	0,273	0,273	0,273	0,275	0,288	0,288	0,298	0,288	0,298	0,298	0,298	0,298	0,295	0,303	0,291	0,291	0,288	0,301	0,003	0,000
23 <i>L. lactis</i> (A1100796)	0,273	0,273	0,273	0,273	0,275	0,288	0,288	0,298	0,288	0,298	0,298	0,298	0,298	0,295	0,303	0,291	0,291	0,288	0,301	0,003	0,000
24 <i>L. lactis</i> (Tr.Cc.L1.1)	0,273	0,273	0,273	0,273	0,275	0,288	0,288	0,298	0,288	0,298	0,298	0,298	0,298	0,295	0,303	0,291	0,291	0,288	0,301	0,003	0,000
25 <i>P. dispersa</i> (EU239146)	0,161	0,161	0,161	0,161	0,168	0,028	0,028	0,022	0,028	0,028	0,034	0,034	0,035	0,037	0,037	0,035	0,035	0,034	0,038	0,293	0,287
26 <i>P. dispersa</i> (KP279652)	0,161	0,161	0,161	0,161	0,168	0,028	0,028	0,022	0,028	0,028	0,034	0,034	0,035	0,037	0,037	0,035	0,035	0,034	0,038	0,293	0,287
27 <i>P. dispersa</i> (KF527217)	0,161	0,161	0,161	0,161	0,168	0,028	0,028	0,022	0,028	0,028	0,034	0,034	0,035	0,037	0,037	0,035	0,035	0,034	0,038	0,293	0,287
28 <i>P. dispersa</i> (Tr.Cc.Pd.1)	0,161	0,161	0,161	0,161	0,168	0,028	0,028	0,022	0,028	0,028	0,034	0,034	0,035	0,037	0,037	0,035	0,035	0,034	0,038	0,293	0,287
29 <i>Providencia</i> sp (KY910432)	0,182	0,182	0,182	0,182	0,199	0,058	0,060	0,046	0,058	0,052	0,038	0,038	0,040	0,041	0,048	0,056	0,056	0,058	0,063	0,308	0,303
30 <i>Providencia</i> sp (KX377568)	0,186	0,186	0,186	0,186	0,203	0,063	0,061	0,051	0,063	0,058	0,038	0,038	0,040	0,041	0,048	0,056	0,056	0,063	0,069	0,303	0,297
31 <i>Providencia</i> sp (KX879807)	0,186	0,186	0,186	0,186	0,203	0,058	0,060	0,046	0,058	0,052	0,038	0,038	0,037	0,038	0,048	0,056	0,056	0,063	0,063	0,311	0,305
32 <i>Providencia</i> sp (Tr.Cc.Pr.1)	0,184	0,184	0,184	0,184	0,201	0,056	0,058	0,044	0,056	0,050	0,037	0,037	0,035	0,037	0,046	0,052	0,052	0,056	0,061	0,314	0,308
33 <i>S. maltophilia</i> (DQ230920)	0,181	0,181	0,181	0,181	0,185	0,213	0,215	0,221	0,213	0,217	0,228	0,228	0,230	0,232	0,237	0,210	0,210	0,208	0,219	0,263	0,258
34 <i>S. maltophilia</i> (FJ651669)	0,186	0,186	0,186	0,186	0,191	0,222	0,224	0,231	0,222	0,227	0,237	0,237	0,240	0,242	0,244	0,220	0,220	0,217	0,228	0,263	0,258
35 <i>S. maltophilia</i> (NR_112030)	0,181	0,181	0,181	0,181	0,188	0,213	0,215	0,221	0,213	0,217	0,228	0,228	0,230	0,232	0,237	0,210	0,210	0,208	0,219	0,263	0,258
36 <i>S. maltophilia</i> (AB008509)	0,181	0,181	0,181	0,181	0,188	0,213	0,215	0,221	0,213	0,217	0,228	0,228	0,230	0,232	0,237	0,210	0,210	0,208	0,219	0,263	0,258
37 <i>S. maltophilia</i> (Tr.Cc.Sm.1)	0,181	0,181	0,181	0,181	0,185	0,213	0,215	0,221	0,213	0,217	0,228	0,228	0,230	0,232	0,237	0,210	0,210	0,208	0,219	0,263	0,258
38 <i>M. morganii</i> (AB089744)	0,171	0,171	0,171	0,171	0,190	0,058	0,060	0,041	0,058	0,049	0,046	0,046	0,047	0,049	0,047	0,046	0,046	0,058	0,068	0,300	0,295
39 <i>M. morganii</i> (AY043168)	0,176	0,176	0,176	0,176	0,190	0,061	0,063	0,043	0,061	0,050	0,046	0,046	0,047	0,049	0,049	0,060	0,060	0,061	0,068	0,306	0,300
40 <i>M. morganii</i> (NF033413)	0,166	0,166	0,166	0,166	0,182	0,054	0,055	0,047	0,054	0,043	0,040	0,040	0,042	0,043	0,046	0,052	0,052	0,054	0,060	0,298	0,293
41 <i>M. morganii</i> (JX875017)	0,166	0,166	0,166	0,166	0,182	0,054	0,055	0,047	0,054	0,043	0,040	0,040	0,042	0,043	0,046	0,052	0,052	0,054	0,060	0,298	0,293
42 <i>M. morganii</i> (Tr.Cc.Mm.1)	0,174	0,174	0,174	0,174	0,190	0,063	0,063	0,044	0,063	0,052	0,047	0,047	0,049	0,050	0,053	0,061	0,061	0,063	0,069	0,303	0,297

3.3. Üreme organı Bakterileri

3.3.1. *Wolbachia* Taraması

İzmir popülasyonundan 415, Mersin popülasyonundan 142 ve Antalya popülasyonundan 92 birey *Wolbachia* spesifik primerler ile taranmıştır (Tablo 3.2). *Ceratitis capitata* örneklerinde *Wolbachia* enfeksiyonu tespit edilememiştir (Şekil 3.48).

Tablo 3. 2. *Wolbachia* taraması yapılan *C. capitata* örnekleri.

Toplanılan Yer, Cinsiyeti	<i>Wolbachia</i> (wspecF/wssecR)
İzmir ♀	0/175
İzmir ♂	0/240
Mersin ♀	0/73
Mersin ♂	0/69
Antalya ♀	0/63
Antalya ♂	0/29



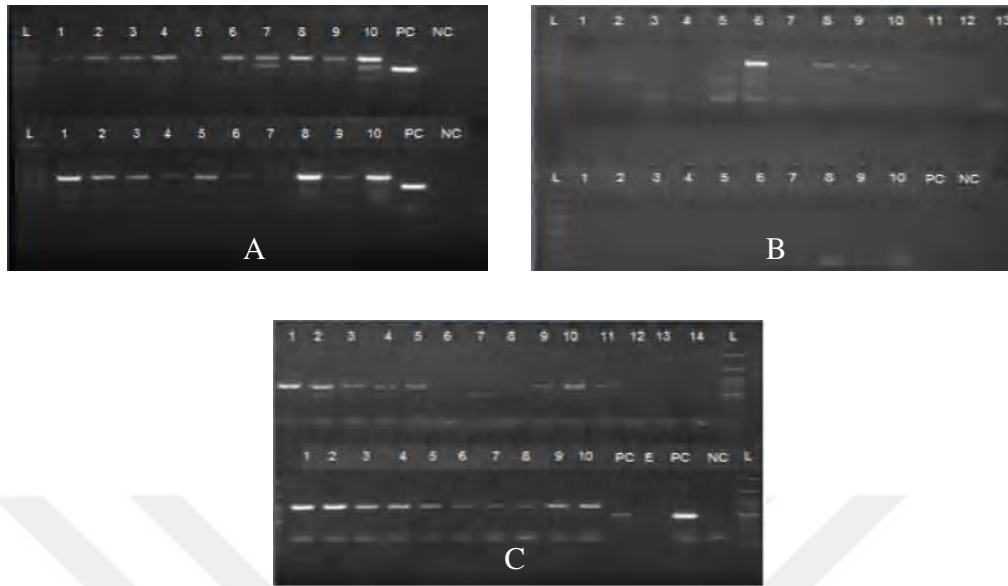
Şekil 3. 48. *Wolbachia* primerleri ile gerçekleştirilen amplifikasyon sonrasında elde edilen PCR ürünlerinin jel görüntüsü. (İlk satır; L: Ladder, 1-2: Mersin ♀, 3-7 Mersin ♂, 8-9: Antalya ♀, 10-14 Antalya ♂, 15-19. İzmir ♀ -İkinci satır; (L: Ladder, 1-6: İzmir ♀, 7-16: İzmir ♂, NC: Negatif kontrol, E: Boş, PC: Pozitif kontrol).

3.3.2. *Spiroplasma* Taraması

İzmir popülasyonundan 415, Mersin popülasyonundan 142 ve Antalya popülasyonundan 92 birey *Spiroplasma* spesifik primerler ile taranmıştır (Tablo 3.3). İzmir popülasyonunda 17, Mersin popülasyonunda 19 ve Antalya popülasyonunda 3 örnekte pozitif kontrolden farklı uzunlukta bantlar (Şekil 3.49) elde edilmiştir.

Tablo 3. 3. *Spiroplasma* taraması yapılan *C. capitata* örnekleri.

Toplanılan Yer, Cinsiyeti	<i>Spiroplasma</i> 63FGC/TK55pR
İzmir ♀	0/175
İzmir ♂	0/240
Mersin ♀	0/73
Mersin ♂	0/69
Antalya ♀	0/63
Antalya ♂	0/29



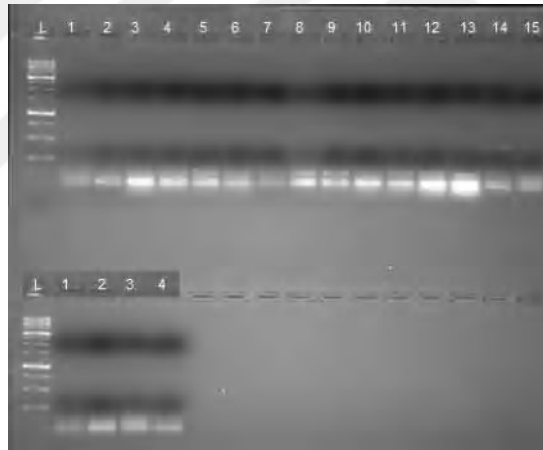
Şekil 3.49. *Spiroplasma* primerleri ile gerçekleştirilen amplifikasyon sonrasında elde edilen PCR ürünlerinin jel görüntüleri. (A. İlk satır; L:Ladder, 1-5: Mersin ♀, 6-10 Mersin ♂-İkinci satır;L: Ladder, 1-6: Mersin ♀, 7-10: Mersin ♂, NC: Negatif kontrol, PC: Pozitif kontrol. B. İlk satır; L: Ladder , 1-10 : İzmir ♂, 11-12: Antalya ♂ -İkinci satır; L: Ladder, 1-10: Antalya ♀, PC: Pozitif kontrol, NC: Negatif kontrol. C. İlk satır;1-2: Mersin ♀, 3-7: Mersin ♂, 8-9: Antalya ♀, 10-14: Antalya ♂,L: Ladder -İkinci satırŞekil 3. 1;1-10: İzmir♀,PC: Pozitif kontrol, E: Boş, NC: Negatif kontrol, L: Ladder.

3.3.3. *Cardinium* Taraması

İzmir popülasyonundan 415, Mersin popülasyonundan 142 ve Antalya popülasyonundan 92 birey r *Cardinium* spesifik primerler ile (Tablo 3.3) taranmış ve herhangi bir enfeksiyon tespit edilememiştir(Şekil 3.50).

Tablo 3.4. *Cardinium* taraması yapılan *C. capitata* örnekleri.

Toplanan Yer, Cinsiyeti	<i>Cardinium</i> (CLOf1/CLOr1)
İzmir ♀	0/175
İzmir ♂	0/240
Mersin ♀	0/73
Mersin ♂	0/69
Antalya ♀	0/63
Antalya ♂	0/29



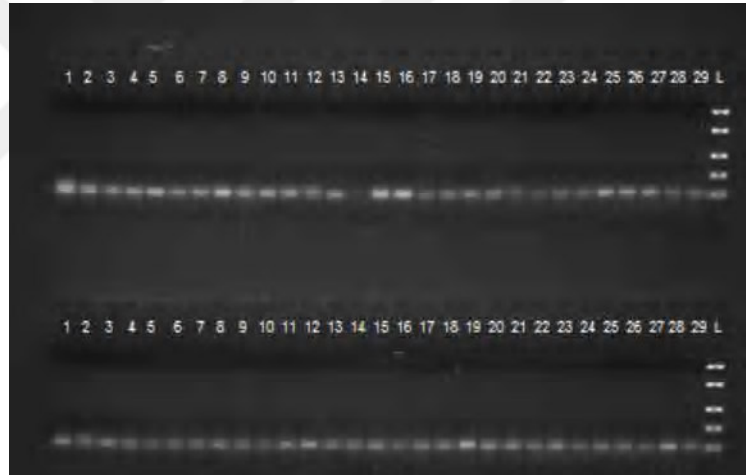
Şekil 3.50. *Cardinium* primerleri ile gerçekleştirilen amplifikasyon sonrasında elde edilen PCR ürünlerinin jel görüntüleri. (İlk satır; L: Ladder, 1-2: Antalya ♀, 3-4: Antalya ♂, 5-7: Mersin ♀, 8-12: Mersin ♂, 13-14: Mersin ♀, 15: İzmir ♀-İkinci satır; L: Ladder, 1-3: İzmir ♂, 4: Negatif kontrol.)

3.3.4. *Arsenophonus* Taraması

İzmir popülasyonundan 415, Mersin popülasyonundan 142 ve Antalya popülasyonundan 92 birey *Arsenophonus* spesifik primerler ile (Tablo 3.5) taranmış ve herhangi bir enfeksiyon tespit edilememiştir (Şekil 3.51).

Tablo 3.5. *Arsenophonus* taraması yapılan *C. capitata* örnekleri.

Toplanılan Yer, Cinsiyeti	<i>Arsenophonus</i> (ArsF/ArsR2)
İzmir ♀	0/175
İzmir ♂	0/240
Mersin ♀	0/73
Mersin ♂	0/69
Antalya ♀	0/63
Antalya ♂	0/29



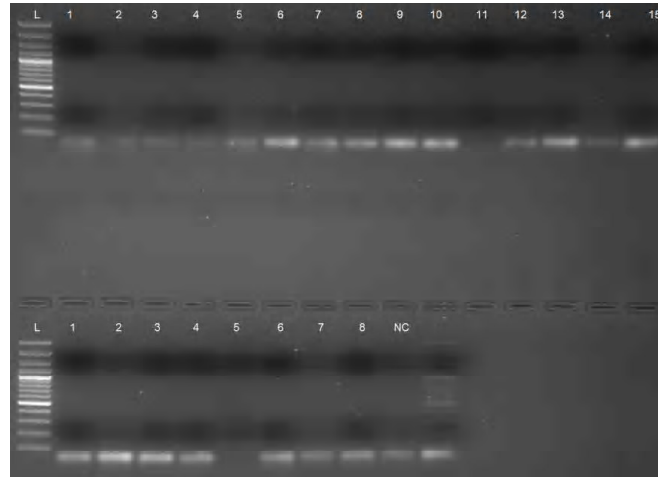
Şekil 3.51. *Arsenophonus* primerleri ile gerçekleştirilen amplifikasyon sonrasında elde edilen PCR ürünlerinin jel görüntüsü. (İlk satır; 1-10: İzmir ♀, 11-20: İzmir ♂, 21-26: Mersin ♀, 27-29: Mersin ♂, L: Ladder-İkinci satır; 1-10: Antalya ♀, 11-17: Antalya ♂, 18-23: Mersin ♀, 24-28: Mersin ♂, 29: Negatif kontrol, Ladder.)

3.3.5. *Rickettsia* Taramas

İzmir popülasyonundan 415, Mersin popülasyonundan 142 ve Antalya popülasyonundan 92 birey *Rickettsia* spesifik primerler ile taranmış (Tablo 3.6) ve herhangi bir enfeksiyon tespit edilememiştir (Şekil 3.52).

Tablo 3.6. *Rickettsia* taraması yapılan *C. capitata* örnekleri

Toplanan Yer, Cinsiyeti	<i>Rickettsia</i> (RbF-RbR)
İzmir ♀	0/175
İzmir ♂	0/240
Mersin ♀	0/73
Mersin ♂	0/69
Antalya ♀	0/63
Antalya ♂	0/29



Şekil 3.52. *Rickettsia* primerleri ile gerçekleştirilen amplifikasyon sonrasında elde edilen PCR ürünlerinin jel görüntüsü. (İlk satır; L: Ladder, 1-2: Antalya ♀, 3-4: Antalya ♂, 5-7: Mersin ♀, 8-12: Mersin ♂, 13-14: Mersin ♀, 15: İzmir ♀-İkinci satır; L: Ladder, 1-8: İzmir ♂, NC: Negatif kontrol.)

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1. Tartışma

Polifag bir zararlı olan *Ceratitis capitata* ile ilgili şimdiye kadar pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar genellikle zararlının önemi, biyolojisi, yayılışı ve kimyasal mücadelesi üzerinedir. Tarımsal zararlılarla mücadelede kullanılan kimyasal maddeler başta insan sağlığını ve çevreyi tehdit etmesi sebebiyle çevre dostu yöntemlerin geliştirilmesine öncelik verilmektedir. Bu amaçla günümüzde tarımsal zararlılarla mücadelede daha çevreci ve etkinliği yüksek kısır böcek tekniği (KBT), uyumsuz böcek tekniği (UBT) gibi yöntemler üzerine yoğunlaşmaktadır. Çalışmamız KBT kapsamında *C. capitata* bağırsağı ile üreme organındaki bakteriyel çeşitliliğin araştırılması ve bu çeşitliliğin radyasyon ile değişiminin belirlenmesi üzerine yoğunlaşmıştır. *C. capitata* mikrobiyotasının karakterizasyonu ve bunların radyasyon etkisiyle değişimi açısından çalışmalar dünyada sınırlıdır. Türkiye’de ise herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır [53, 80, 83, 133].

KBT kapsamında kısır böceklerin labortuvarda yetiştirilmesi ve radyasyon nedeni ile bakteri değişikliği konusunda araştırmalar yapılmıştır. Bu güne kadar yapılan çalışmalar konuyu tam açıklığa kavuşturmamıştır [53, 83]. UBT kapsamında maternal kalıtılan ve konakçı üreme şeklini manipüle eden bakteriler ve bunların kullanımı üzerine araştırmalar yapılmıştır. Bunlar üreme organındaki bakterilerin konakçı fenotipi ve genotipi üzerindeki etkilerine yönelik çalışmalardır [40, 114-116]. Bu çalışmada labortuvarda yetiştirilen ve doğadan toplanan *C. capitata* erginlerinin barsak bakteri florası üzerine ışınlamanın etkisi araştırılmıştır. Ayrıca üreme organlarında bulunan ve böceklerin üreme şekillerini etkileyen *Wolbachia*, *Arshenophonus*, *Cardinium*, *Rickettsia* ve *Spiroplasma* gibi bakterilerin taraması da gerçekleştirilmiştir.

Kısır böcek salıverme tekniği zararlılarla kullanılan çevre dostu bir yöntem olarak entegre mücadele kapsamında oldukça tercih edilmektedir. *C. capitata*'nın kitle üretiminde kısırlaştırıcı dozun belirlenmesi için yapılan çalışmalarda en uygun radyasyon dozlarının 50 ve 145 Gy arasında olduğu, düşük dozların (50, 60 Gy) ise ömür uzunluğuna önemli bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir [56]. Çalışmamızda ise, ışınlanmamış ve ışınlanmış pupalardan ergin çıkışı incelendiğinde kontrol grubu ile 50 ve 100 Gy dozlarında gamma ışınına maruz bırakılmış gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Dişi birey çıkışına bakıldığında, kontrol grubu ile ışınlananlar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P < 0,05$). Erkek bireylerde ise kontrol grubu ile 50 ve 100 Gy dozlarında gamma ışınına maruz bırakılmış gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0,05$).

Endosimbiyotik bakteriler için önemli bir ortam oluşturan böcek bağırsağı aynı zamanda barındırdığı mikrobiyomu etkileyen farklı morfolojik ve fizikokimyasal faktörler de içermektedir. Burada yer alan bakterilerin konukçusunu parazit ve patojenlere karşı koruduğu düşünülmekle birlikte bu rolleri henüz tam olarak açıklayamamıştır [117]. Günümüzde böcek bağırsak mikrobiyomunun aydınlatılması ile antimetabolitler, antiviral, antikanserijen enzimler ve metabolitler belirlenebilecek ve belirlenen patojenlere karşı biyolojik mücadele kapsamında etkili olarak kullanılabilir. Yapılan çalışmalarda böceklerde zengin ve kompleks bir mikroorganizma topluluğu bulunduğu ifade edilerek, bunların çoğunluğunun patojen ve zorunlu mutualist olduklarını belirtilmiştir [117-119].

Son zamanlarda özellikle zararlı böceklerin sindirim sistemlerindeki mikrobiyota araştırılmakta ve belirlenen bakterilerin bu zararlıların biyolojik mücadelesinde kullanılabileceği değişik metodlar üzerinde çalışılmaktadır. Bununla ilgili *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) larvalarının bakteriyel florası üzerine yapılan bir çalışmada; *Leclercia adecarboxylata*, *Pantoea agglomerans*, *Citrobacter braakii*, *C. freundii*, *C. werkmanii*, *Enterobacter amnigenus*, *E. ludwigii*, *E. nimipressuralis*, *E. hormaechei*, *E. aerogenes*, *E. cloacae*, *E. cancerogenus* ve *Klebsiella ornithinolytica* türleri tanımlanmış ve bu bakterilerin insektisidal etkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak larvalara 1.8×10^9 OD₆₀₀ konsantrasyonda *Lecl. adecarboxylata* verildiğinde 5 gün içerisinde % 100 ölüm gerçekleştiğini dolayısıyla bu bakterinin potansiyel biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılabileceğini belirtilmiştir

[120]. Aynı grup tarafından yapılan başka bir çalışmada ise ladin zararlısı olan *Ips typographus* (L.)'tan 8 bakteri izolatu (*Bacillus sphaericus*, *Acinetobacter* sp., *Kluyvera cryocrescens*, *Vagococcus* sp., *Proteus vulgaris* ve *Serratia liquefaciens*) elde etmişlerdir. En yüksek insektisidal etkiyi gösteren *S. liquefaciens* bakterisinin *Ips typographus* türüne karşı biyolojik kontrol özelliğine sahip olduğunu belirtmişlerdir [121]. Etkin bir biyolojik mücadele ajanı belirlemek amacıyla *Agrotis segetum* Shchiff. (Lepidoptera: Noctuidae) larvaları üzerinde yapılan bir çalışmada, floradaki bakterileri belirlemek için VITEK 32 bakteriyel tanımlama sistemi kullanılmıştır. Sonuç olarak *Bacillus* sp., *B. cereus*, *B. megaterium*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas putida* ve *Enterococcus gallinarum* bakterilerinin yanısıra sunulan çalışmada da izole edilen *Enterobacter* sp., *Acinetobacter calcoaceticus* ve *Stenotrophomonas maltophilia* türleri tanımlanmış ve insektisit etkilerinin olup olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır [122].

Böceklerin kısırlaştırılması fikri modern insektisitlerin kullanmaya başlanmasından daha eskilere uzanmaktadır. Çalışmalardan elde edilen kanıtlar kitle üretimi ile üretilen böceklerde radyasyonun böceğin lehine olan bazı bakterileri yok ettiğini ve bazılarını baskıladığını desteklemektedir. Lauzon ve Potter [83] SEM ve TEM kullanarak gamma radyasyonu ile kısırlaştırılmış böceklerin bağırsak florasının hasara uğradığını göstermişlerdir. Birçok çalışmada simbiyotik bakterilerin probiyotik olarak kullanıldığında radyasyonun bağırsak mikrobiyotasındaki zararını tamir edebildiği belirtilmiştir [80, 83].

Çalışmamızda ışınlanmamış (0 Gy) ve ışınlanmış (100 Gy) *C. capitata* laboratuvar ve doğal popülasyonları (Mersin ve Antalya) 1, 5 ve 15 günlük erginlerinin bağırsak florası 16S rDNA gen bölgesi kullanılarak araştırılmıştır. *C. capitata* laboratuvar popülasyonu erginlerinin bağırsak florasında yoğun olarak Proteobacteria ve daha az yoğun olarak Firmicutes'e rastlanmıştır. Floradaki Proteobacteria şubesi üyeleri, Enterobacteriaceae ve nadiren Xanthomonadaceae familyalarına ait bakterilerdir. Firmicutes şubesinden ise Streptococcaceae familyasına ait bakterilere rastlanmıştır. Mersin ve Antalya popülasyonu erginlerinin bağırsak florasında laboratuvar popülasyonu ile uyumlu şekilde yoğun olarak Proteobacteria ve daha az yoğun olarak Firmicutes'e rastlanmıştır. Floradaki Proteobacteria şubesi üyeleri, Enterobacteriaceae ve nadiren Moraxellaceae familyalarına ait bakterilerdir. Daha az yoğun olan Firmicutes şubesinde ise Streptococcaceae familyasına ait bakterilere rastlanmıştır.

Işınlanmamış ve ışınlanmış Mersin popülasyonu erginlerinin bağırsak florası incelendiğinde *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *M. morganii*, *Providencia* sp., *L. lactis*, *Pantoea dispersa*, *Enterobacter* sp. ve *Acinetobacter calcoeticus* türlerine rastlanmıştır. Işınlanmış 5 günlük ve 15 günlük erginlerin bakteri çeşitliliğinin birbirine benzer olduğu, 1 günlük erginlerin ise farklı olduğu gözlenmiştir. Işınlanmamış 1 günlük erginlerde *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *M. morganii* ve *P. dispersa* bakterileri bulunurken, ışınlanmış erginlerde *K. oxytoca*, *M. morganii*, *Enterobacter* sp. *Providencia* sp. ve *L. lactis* bakterilerine rastlanmıştır. *A. calcoeticus* bakterisi sadece ışınlanmış 5 günlük erkeklerde görülmüştür. 5 günlük erginlerde yoğun olarak *P. dispersa* ve *K. oxytoca* bakterilerine; daha az yoğun olarak *K. pneumoniae*, *Providencia* sp., *L. lactis*, *Enterobacter* sp. ve *A. calcoeticus* bakterilerine rastlanmıştır. 15 günlük erginlerde yoğun olarak *P. dispersa*, *M. morganii* ve *L. lactis* bakteri türlerine; daha az yoğunlukta *K. oxytoca* ve *Enterobacter* sp. bakterilerine rastlanmıştır. 1 ve 5 günlük erginlerdeki bakteri tür sayısının 15 günlük erginlerden daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *P. dispersa* ve *K. oxytoca* türlerinin ışınlama ve yaştan bağımsız olarak daha yaygın olduğu gözlemlenmiştir. Literatürde yaş ile bağırsak bakteri yoğunluğu değişimi üzerine bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Lauzon [123], Tephritidae familyası bağırsak florası üzerine yaptığı çalışmada genel floradaki bakterilerin fazla değişiklik göstermediğini ve bizim çalışmamızla uyumlu olarak baskın olarak Enterobacteriaceae familyasından türlerin bulunduğunu; bağırsak florasındaki bu tekdüzellik ile mikrobiyota yapısının sineklerin yaşam döngüsü ve beslenmesiyle yakından ilişkili olduğunu bildirmiştir. Daser ve Brandl, başka bir çalışmada çeşitli meyve sineği erginlerinin bağırsak florasını incelemiş ve verilerimizle benzer şekilde Enterobacteriaceae familyasından türlerin en yaygın türler olduğunu belirtmişlerdir [124].

Çalışmamızda, *C. capitata* laboratuvar ve doğal erginlerin bağırsak bakteri çeşitliliği arasındaki fark önemli bulunmuştur. Doğal ergin bağırsak mikrobiyotasının laboratuvar ırkına kıyasla tür bakımından daha zengin olduğu saptanmıştır. Mersin ve Antalya'dan toplanan doğal erginlerin bağırsak florasındaki türlerin birbiriyle benzer, laboratuvar da yetiştirilen erginlerden elde edilen türlerin farklı olduğu belirlenmiştir. *B. tryoni* ve *B. cacuminata* ile yapılan bir çalışmada laboratuvar ile doğal popülasyon bağırsak mikrobiyom tür çeşitliliği karşılaştırıldığında, çalışmamızla benzer şekilde doğal

erginlerdeki bakteri çeşitliliğinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir [125]. Bağırsak mikrobiyotasındaki tür çeşitliliği ve türlerin birbiriyle oranı, çevresel koşullar ve besinlerin farklılaşmasıyla değişiklik göstermektedir. [40, 126, 127]. Sunulan çalışmada yaşam süresinin de bakteriyel çeşitliliği etkilediği yönünde veri elde edilmiştir. Ömür uzadıkça tür sayısı ve türlerin birbirine oranı değişiklik göstermiştir. Çalışmamızda mikrobiyotadaki bakteri oranlarının radyasyondan etkilenmediği gözlenmiştir. Bağırsak florasındaki baskın türler Enterobacteriaceae familyasına aittir. Farklı popülasyon ve yaştaki *C. capitata* örneklerinde *Klebsiella*, *Pantoea*, *Morganella*, *Enterobacter* ve *Lactococcus* bakterilerinin daha yoğun olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte diğerleriyle kıyaslandığında laboratuvar ırkında Streptococcaceae familyasından *Lactococcus* cinsinin yoğun olduğu gözlenmiştir.

Radyasyonun bağırsak bakteri çeşitliliği üzerine daha önce yapılan çalışmalara bakıldığında ise *C. capitata* bağırsak florası bakteri çeşitliliği ve oranının ışınlamadan önemli derecede etkilendiği ileri sürülmüştür [80]. Doğal ırk ve kitle üretimi ile üretilen ışınlanmış bireyler karşılaştırıldığında ışınlama sonrasında Enterobacteriaceae üyelerinin oran ve çeşitliliğinin azaldığı ve buna karşın *Pseudomonas* cinsi bakterilerin arttığı bildirilmiştir [81]. İnsanlarda radyasyon terapisi üzerine yapılan farklı bir çalışmada radyasyonun bağırsak florasında oluşturduğu değişim incelenmiştir. İncelemeler sonunda Enterobacteriaceae ve Bacteroides üyesi bakteriler artış gösterirken *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Faecalibacterium* türlerinin azaldığı belirlenmiştir [127].

Çalışmamızda laboratuvarda yetiştirilen *C. capitata* erginleri sükroz ve maya içeren kontrollü diyet ile beslenirken doğal erginler polifag olmalarından dolayı doğadaki çeşitli besin kaynaklarıyla beslenmektedir. Doğal ergin bağırsak florasında bakteriyel çeşitliliğin yüksek olmasının kontrolsüz ve doğal diyetle beslenmelerinden ileri geldiği düşünülmektedir. Ergin sivrisineklerin bağırsak mikrobiyomunun araştırıldığı bir çalışmada bizim sonuçlarımızı destekler şekilde mikrofloranın bireyler arasında farklı olduğu ve çevresel faktörler ile değişiklik gösterdiği bildirilmiştir [128]. Yine *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Erebidae) [129] ve *Vespula germanica* (Hymenoptera: Vespidae) [130] ile yapılan çalışmalar diyet kompozisyonunun bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisinin oldukça baskın olduğunu göstermektedir.

Anastrepha ludens (Diptera: Tephritidae) eski (30 yıllık) ve yeni (2 yıllık) laboratuvar ırklarıyla yapılan bir çalışmada erginlerin bağırsağında bizim çalışmamızla benzer şekilde Enterobacteriaceae (en yoğun), Pseudomonadaceae, Vibrionaceae, Micrococcaceae, Deinococcaceae ve Bacillaceae (daha az yoğun) familyalarından *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* spp. *pneumoniae*, *Serratia fonticola*, *Enterobacter cloacae*, *E. sakazakii*, *Providencia alcalifaciens*, *P. rettgeri*, *P. stuartii*, *Aeromonas hydrophila*, *Staphylococcus aureus*, *S. carnosus*, *S. xylosus*, *Lactococcus* sp., *Enterococcus faecalis*, *Aerococcus viridans*, *Bacillus cereus* ve *Listeria* sp. türleri tanımlanmıştır. Bu türlerden *B. cereus*, *E. sakazakii*, *P. stuartii* ve *P. aeruginosa* sadece yeni kolonide bulunurken; *A. hydrophila* ve *K. pneumoniae* spp. *pneumoniae*'ye yalnızca eski kolonide rastlandığı bildirilmiştir. Dişi ve erkek bağırsağında tür çeşitliliği yönünden çok az fark olduğu, çalışmamızla benzer şekilde bakterilerin eşeyden bağımsız olarak metabolizmada aynı etkiye sahip olabileceği belirtilmiştir. Bunların yanı sıra izole ettikler altı bakteri türünde (*Enterobacter cloacae*, *E. sakazakii*, *K. pneumoniae* spp., *Providencia rettgeri*, *P. aeruginosa* ve *Bacillus cereus* on iki antibiyotiğin etkisini araştırmışlar ve tüm izolatların rifampisin ve streptomisine; altı izolattan beşinin ise penesillin ve ampiciline dirençli olduğunu bulmuşlardır. Antibiyotiğe direncin farklı bakteri suşlarını belirlemede, sineklerde tür içi-türler arası rekabetin artırılmasında ve dirençli bakterilerin biyolojik mücadele ajanı olarak değerlendirilmesi yönünde kullanılabileceğini belirtmişlerdir [131].

Böceklerdeki simbiyotik mikroorganizmalar konakçılarının evrimi, biyoloji ve ekolojisi üzerinde kritik rol oynar [69, 132]. Üreme organındaki simbiyotik bakterilerin en önemli özellikleri, konağın cinsiyet belirleme sürecine etki etmeleridir. Bu etki sonucunda popülasyon cinsiyet oranında değişikliğe, cinsel özelliklerin farklı gelişimine, üreme izolasyonuna ve sonuçta türleşmeye neden olabilmektedirler [74-76]. Üreme sistemi üzerinde etkili olan endosimbiyontlar popülasyon cinsiyet oranına etki edebilmeleri özelliğiyle zararlılarla mücadele için kullanılabilmektedir [77, 85]. Üremeyi etkileyen endosimbiyontlardan en fazla araştırılanı *Wolbachia*'dır [88].

Bourtzis et al. [133] tarafından yapılan bir çalışmada *Drosophila melanogaster* ve *C. capitata*'da *Wolbachia* varlığı incelenmiş ve *C. capitata*'da enfeksiyon gözlenmediği bildirilmiştir. Zchori-Fein ve Perlman [134] tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise içinde *C. capitata*'nın bulunduğu 99 böcek türünde *Wolbachia* ve *Cardinium* taraması

yapılmıştır. Tarama yapılan türlerin % 24'ünde *Wolbachia*, % 6'sında *Cardinium* enfeksiyonu tespit edildiği, *C. capitata*'da herhangi bir enfeksiyona rastlanmadığı bildirilmiştir. Bahsedilen her iki çalışma da bizim çalışmamızla uyumludur. Weeks et al. [104] tarafından yapılan bir başka çalışmada 223 farklı tür üzerinde *Wolbachia* ve *Cardinium*'a yönelik tarama gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda 223 türün 16'sında *Cardinium*, 49'unda *Wolbachia* ve 7'sinde ise *Cardinium* ile *Wolbachia* koenfeksiyonu tespit edilirken; *Neotephritis* sp. (Tephritidae)'de enfeksiyona rastlanmadığı ifade edilmiştir. Rocha et al. [135] tarafından yapılan bir çalışmada ise *C. capitata*'da *Wolbachia* taraması yapılmış ve sonuçta enfeksiyon olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma haricinde *C. capitata*'nın *Wolbachia* taşıdığına dair başka bir veriye rastlanmamıştır. Augustinos et al. [136] *Bacterocera dorsalis* kompleksi (Diptera, Tephritidae) beş üyesi üzerinde yaptıkları çalışmada *Wolbachia*, *Spiroplasma*, *Arsenophonus*, *Rickettsia* ve *Cardinium* üreme organı bakterilerini taramışlardır. Elde ettikleri sonuca göre *B. dorsalis* kompleksi beş üyesinin hiçbirinde üreme organı simbiyont enfeksiyonuna rastlamamışlardır.

Diğer bir üreme organı simbiyontu olan *Rickettsia*, artropodlarda erkek ölümüne sebep olmaktadır. Lawson et al. [137] tarafından *Brachy stessellatus*'da (Coleoptera: Buprestidae) *Rickettsia* enfeksiyonu tespit edilmiştir. Bir diğer çalışma Werren et al. tarafından *Adalia bipunctata* [138]'da *Rickettsia* enfeksiyonu üzerinedir ve pozitif sonuç alındığı bildirilmiştir. Bizim örneklerimizde ise *Rickettsia* enfeksiyonu görülmemiştir. Alleck et al. [139] tarafından yapılan çalışmada, *Bactrocera zonata* ve *Zeugodacus cucurbitae* (Tephritidae) üreme organı simbiyontları yönünden araştırılmıştır. Çalışmaya göre *B. zonata*'da *Wolbachia*, *Spiroplasma* ve *Arsenophonus* enfeksiyonu tespit edilirken *Z. cucurbitae*'de *Rickettsia* ve *Arsenophonus* enfeksiyonu bulunduğu bildirilmiştir. Tsiamis et al. [140] *B. dorsalis sensu stricto*, *B. zonata*, *B. cucurbitae*, *B. scutellaris*, *B. carambolae*, *B. correcta* ve *B. nigrofemoralis* türlerinde *Wolbachia*, *Spiroplasma*, *Cardinium*, *Rickettsia* ve *Arsenophonus* taraması yapmışlardır. *B. scutellaris*, *B. correcta* ve *B. nigrofemoralis* türlerinde *Wolbachia* enfeksiyonuna rastladıklarını bildirmişlerdir.

Kaya tarafından yapılan çalışmada, *C. capitata* İzmir popülasyonu *Arshenophonus*, *Hamiltonella*, *Spiroplasma* ve *Rickettsia* enfeksiyonu yönünden incelenmiştir. Taranan bireylerde *Wolbachia*, *Hamiltonella* ve *Rickettsia* enfeksiyonu tespit edilemediği,

Cardinium spesifik primerlerle çalışıldığında daha önce literatürde belirtilmeyen uzunlukta PCR ürünleri elde edildiği bildirilmiştir [141].

Bizim çalışmamızda taranan üç *C. capitata* popülasyonunda *Wolbachia*, *Rickettsia*, *Arsenophonus* ve *Cardinium* enfeksiyonuna rastlanmamıştır. Uyumsuz böcek tekniği kapsamında kullanabilmek açısından Türkiye'nin *C. capitata* enfeksiyonu görülen diğer bölgelerinde bu üreme organı bakterilerinin taranması gerektiği düşünülmektedir.

Çalışmamızda *C. capitata* İzmir, Antalya ve Mersin popülasyonlarında taranan bir başka simbiyont *Spiroplasma*'dır. *Spiroplasma*'nın konakçı üreme sisteminde erkek öldürme şeklinde bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Akar, kene, predatör ve herbivor böcekleri enfekte ettiği bildirilen bu simbiyontun *D. hydei*'de erkek öldürmeye sebep olmadığı, enfeksiyonun parazit arılara karşı koruyuculuk sağladığı belirtilmiştir [142-144]. Sunulan çalışmada taranan örneklerin çoğunda *Spiroplasma* pozitif kontrolden farklı uzunlukta bantlar elde edilmiştir. Elde edilen PCR ürünlerinin baz dizisi BLAST analizinde *Pectobacterium* ve *Providencia* cinsi bakterilere % 96 benzerlik göstermiştir. Bu sebeple çalışmaların yeniden literatürdeki başka primerler kullanılarak tekrarlanması gerektiği düşünülmektedir.

4.2.Sonuç ve Öneriler

Sonuç olarak; *C. capitata* birinci derecede ekonomik öneme sahip bir zararlı durumundadır. Özellikle Turunçgiller gibi en önemli ihraç ürünlerimizde kayıplara neden olan bu zararlıya karşı mücadele oldukça önem kazanmaktadır. Yapılan kimyasal mücadele çalışmalarıyla etkin sonuç alınamamakta dolayısıyla daha farklı ve çevre dostu yöntemlerin kullanımı ön plana çıkmaktadır. Bu amaçla yeni bir yaklaşım geliştirilerek zararlıların bakteri floraları tespit edilmekte ve belirlenen mikroorganizmaların biyolojik mücadelede ile entegre mücadele kapsamında kullanılması için stratejiler geliştirilmektedir. Çalışmamızda *C. capitata*'nın üreme organı ve sindirim sistemlerindeki bakteri floraları tespit edilmeye, kitle üretimi ve ısınlama ile bakteri yoğunluğunun değişimi belirlenmeye çalışılmıştır. Elde edilen verilerin bu zararlılara karşı geliştirilecek mücadele yöntemleri konusunda alt yapı oluşturacağı düşünülmektedir.

Konukçu üremesini kendi lehine manipüle eden bakterilerin kısır böcek salıverme tekniği kapsamında kullanımına dair pek çok araştırma yapılmıştır. Bizim çalışmamızda taranan üç *C. capitata* popülasyonunda *Wolbachia*, *Rickettsia*, *Arsenophonus* ve *Cardinium* enfeksiyonu görülmemiştir. Türkiye'nin *C. capitata* enfeksiyonu görülen diğer bölgelerinde bu üreme organı bakterilerin taranmasının uyumsuz böcek tekniği ile zararlı mücadelesinde kullanabilmek açısından iyi olacağı düşünülmektedir. Taramasını gerçekleştirdiğimiz bir diğer üreme organı simbiyontu *Spiroplasma*'dır. Pozitif kontrolden farklı uzunlukta elde edilen bantlardan dolayı çalışmaların yeniden literatürdeki başka primerler kullanılarak tekrarlanması gerektiği düşünülmektedir.

Bağırsak mikrobiyotasının belirlenmesi çalışmalarımızda, *C. capitata* laboratuvar ve doğal erginlerin bağırsak bakteri çeşitliliği arasındaki fark anlamlı bulunmuştur. Doğal ergin bağırsak mikrobiyotasının laboratuvar ırkına kıyasla tür bakımından daha zengin olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada yaşam süresinin de bakteriyel çeşitliliği etkilediği yönünde veri elde edilmiştir. Ömür uzadıkça tür sayısı ve türlerin birbirine oranı değişiklik göstermiştir. Işınlanmamış ve ışınlanmış ergin bağırsaklarından elde edilen kolonileri DNA dizi analizi ile belirlememize rağmen bakteri çeşitliliğine radyasyon ve eşeyin etkisi hakkında söyleyebileceklerimiz kısıtlıdır. Ayrıca laboratuvar da yetiştirilen *C. capitata* erginleri sükroz ve maya içeren kontrollü diyet ile beslenirken doğal erginler polifag olmalarından dolayı doğadaki çeşitli besin kaynaklarıyla beslenmektedir. Doğal ergin bağırsak florasında bakteriyel çeşitliliğin yüksek olmasının kontrolsüz ve doğal diyetle beslenmelerinden ileri geldiği düşünülmektedir.

Elde ettiğimiz bu verilerin *C. capitata*'nın kitle üretiminde ve ışınlama sonrasında bakteri-böcek birlikteliğinin bozulması sonucu ortaya çıkan performans değişiklikleri belirleyebilmek ve doğal bireylerle rekabet edebilir duruma getirebilmek için yapılacak çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

1. Christenson, L.D., Foote, R.H., 1960. Biology of fruit flies. **Annual Review of Entomology**, **5**: 171–192.
2. Anonim, 2014. CABI.(<https://www.cabi.org/isc/datasheet/12367>), (Erişim tarihi: Ocak 2018).
3. Uygun, N., Karaca, İ., Ulusoy, M.R., Satar, S., 2010. Meyve ve Bağ Zararlıları. Özyurt Matbaacılık, Adana, 347s.
4. KASAP, A., ASLAN M., 2016. Akdeniz meyve sineğinin (*Ceratitıs capitata* Wied.) (Diptera: Tephritidae) feromon tuzaklarla nar ve hurmadaki populasyon takibi ve zarar oranının tespiti. **KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi**, **19**(1):43-50.
5. Molina, C.A., Cana-Roca, J.F., Osuna, A., Vilchez, S., 2010. Selection of *Bacillus pumilus* strain highly active against *Ceratitıs capitata* (Wiedemann) larvae. **Applied and Environmental Microbiology**, **76**: 1320–1327.
6. Ortu, S., Cocco, A., Dau, R., 2009. Evaluation of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* strain ATCC 74040 for the management of *Ceratitıs capitata*. **Bulletin of Insectology**, **62** (2): 245-252.
7. Barnes, B.N., 2009. The sterile insect technique (S.I.T.) for management of Mediterranean fruit flies in fruit production a technical manual on the preparation for, and initiation of, S.I.T. for integrated management of Medfly. ([http://www.fruitfly.co.za/wp-content/uploads/2012/12/15-SIT-Technical Manual.pdf](http://www.fruitfly.co.za/wp-content/uploads/2012/12/15-SIT-Technical-Manual.pdf)), (Erişim tarihi: Aralık 2017).
8. Draz, K.A., Tabikha, R.M., El-Aw, M.A., Darwish, H.F., 2016. Impact of gamma radiation doses on sperm competitiveness, fecundity and morphometric characters of peach fruit fly *Bactrocera zonata* (Saunders) (Diptera: Tephritidae). **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, **9**; 352-362.
9. Crotti, E., Balloi, A., Hamdi, C., Sansonno, L., 2012. Microbial symbionts: a resource for the management of insect-related problems. **Microbial Biotechnology**, **5**(3): 307-317.

10. Berasategui, A., Shukla, S., Salem H., Kaltenpoth, M., 2016. Potential applications of insect symbionts in biotechnology. **Applied Microbiology and Biotechnology**, **100**: 1567–1577.
11. Bonizzoni, M., Guglielmino, C.R., Smallridge, C.J., Gomulski, M., Malacrida, A.R., Gasperi, G., 2004. On the origins of medfly invasion and expansion in Australia. **Molecular Ecology**, **13**(12):3845-55.
12. Liquido, N.J., Shinoda, L.A., Cunningham, R.T., 1991. Host plants of the Mediterranean fruit fly (Diptera, Tephritidae). An annotated world list. **Annual Entomological Society of America**, **77**:1–57.
13. Anonim, 2017. Turunçgil entegre mücadele teknik talimatı. (<https://www.tarim.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/Turun%C3%A7gil%20Entegre-12.10.2017.pdf>), (Erişim Tarihi : Aralık 2017).
14. Anonim, 2013a. FAO. (<http://www-naweb.iaea.org/nafa/news/images/Distribution-Mediterranean-fruit-fly-Ceratitis-capitata.jpg>), (Erişim Tarihi : Ekim 2016).
15. Demirdere, A., 1961. Çukurova bölgesinde Akdeniz meyve sineği (*Ceratitis capitata* Wiedman)'nin biyolojisi ve mücadelesi üzerinde çalışmalar. Tarım Bakanlığı, Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Um. Müd., Ankara, 118 s.
16. Steck, G.J., 2002. Pest alert; The Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry. Florida, 4 p.
17. De Meyer, M., 2000. Systematic revision of the subgenus *Ceratitis* (Diptera, Tephritidae). **Zoological Journal of the Linnean Society**, **128**: 439-467.
18. Elekçioğlu, N.Z., 2009. Akdeniz Meyvesineği. **Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi** **2**(1): 61-65.
19. Zümreoğlu, A., 1986. İzmir ve civarında turunçgil ve meyve ağaçlarında zarar yapan Akdeniz meyve sineği (*Ceratitis capitata* Wied., Diptera: Tephritidae)'nin önemi ve populasyon dalgalanmalarına etki eden faktörler. **Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, **23**(3): 65–79.
20. Aharon, Y., Pasternak, Z., Ben Yosef, M., Behar, A., Lauzon, C., Yuval, B., Jurkevitch, E., 2013. Phylogenetic, metabolic, and taxonomic diversities

shape mediterranean fruit fly microbiotas during ontogeny. **Applied and Environmental Microbiology** 303–313.

21. Akyol, E., 2014. Hatay İli Mandalina Bahçesinde Kitlesele Tuzaklama Yöntemi ile Akdeniz Meyve Sineği, *Ceratitıs capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)'nin Kontrolü Ve Zarar Oranının Belirlenmesi. Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Hatay, 51 s.
22. Anonim, 2013b. FAO. (<http://faostat3.fao.org/home/E>) (Erişim Tarihi: Mayıs 2017).
23. Anonim, 2013c. TÜİK. (<https://biruni.tuik.gov.tr>). (Erişim Tarihi: Haziran 2017).
24. Anonim, 2015. Yaş Meyve Sebze İhracatçıları Birliği Değerlendirme Raporu. (http://www.akib.org.tr/files/downloads/ihracat/ocak_nisan) (Erişim tarihi 02.07.2017).
25. Kızılyamaç S., Farklı Yükseltilerdeki Akdeniz Meyve Sineği, *Ceratitıs capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) Popölasyonlarının Biyo-Ekolojisi Üzerine Araştırmalar. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 107 s.
26. İleri, M., 1961. Türkiye'de Akdeniz meyve sineği durumu ve mücadelesi. Tarım Bakanlığı, Ankara Zirai Mücadele Enstitüsü Md. Yayını, Ankara, 38 s.
27. Kaya, T., Ada, E., İpekdaı, K. 2017. Modeling the distribution of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitıs capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera, Tephritidae) in Turkey and its range expansion in Black Sea Region. **Turkish Journal of Entomology**, **41**: 43-52.
28. Cingöz, L., 2012. Akdeniz meyve sineği (*Ceratitıs capitata*) Tanımı Yaşayışı ve Erginleri. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma İstasyonu, Erdemli-Mersin. 2 s.
29. Elekçioğlu, N., 2012. Akdeniz meyve sineği. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Biyolojik Mücadele Araştırma İstasyonu Müdürlüğü Yayınları, Adana, 3 s.
30. Zümreoğlu, A., Güvener, A., Çakıcı, M., Ercan, H., 1995. Akdeniz meyve sineği (*Ceratitıs capitata*) ve Zeytin Sineği (*Dacus oleae* Gmel.) mücadelesinde kullanılacak yerli üretim cezbedicileri geliştirme ve uygulama olanakları

- üzerinde araştırmalar. **Doğa Türk-Tarım ve Ormancılık Dergisi**, **16**(3): 607–620.
31. Ünal, G., Kedici, R., Melan, K., Bazı insektisitlerin *T. embryophagum* (Hartig)’a doğal koşullarda yan etkileri, *Türkiye 3. Biyolojik Mücadele Kongresi*, 1994, İzmir, 441-447.
 32. Büyükurvay, S., Aydınoglu, H. Ve Durgun, M., 1998. Akdeniz meyve sineği (*Ceratitis capitata*) ve Zeytin Sineği (*Bactrocera oleae*) mücadelesinde kullanılacak yerli üretim cezbedicileri geliştirme ve uygulama olanakları üzerinde araştırmalar (Araştırma projesi) (Yayınlanmamış).
 33. Kahyaoğlu, M., Gürkan, M. O., 2010. Akdeniz meyve sineği [*Ceratitis capitata* Wiedemann, 1824 (Diptera: Tephritidae)] için yeni hazır yem formülasyonlarının geliştirilmesi. **Türk Entomoloji Dergisi**, **35** (3): 485-494.
 34. Tunçbilek, A.S., 1992. Kısırlaştırıcı Altı Gamma Radyasyon Dozları ile Işınlanmış Kırma Biti (*Tribolium confusum* Jacquelin Du Val Coleoptera: Tenebrionidae)’nin Bazı Biyolojik Özelliklerine Aldığı Besinin Etkileri Üzerine Araştırmalar. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 148 s.,
 35. Leza, M.M., Juan, A., Capllonch, M., Alemany, A., 2008. Female-biased mass trapping vs. bait application techniques against the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Dipt., Tephritidae). **Journal of Applied Entomology**, **132**(9-10):753–761.
 36. Moya, P., Ibrahim, M., Navarro, V., Primo, J., Primo-Yúfera, E., 2003. Susceptibility of *Ceratitis capitata* to the control by entomopathogenic fungi. p:93. *Bulletin OILB/SROP. International organization for biological and integrated control of noxious animals and plants, West Palearctic Regional Section*, Fransa.
 37. Falco, J.V., Perez, M., Santiago, S., Mendoza, A.H., Beitia, F., 2003. Rearing methods of two braconid parasitoids used in the biological control of *Ceratitis capitata*. **Integrated Control in Citrus Fruit Crops, IOBC/wprs Bulletin**, **26**(6): 99-102.
 38. Akman, K., Zümreoğlu, A., 1973. Ege turunçgillerinde Akdeniz meyve sineği (*Ceratitis capitata* Wiedman)’nin surveyi. **Zirai Mücadele Araştırma Yıllığı**, **7**: 200.

39. Ortu, S. ve Prota, R., 1988. Biotechnical control means adopted against *Ceratitidis capitata* Wied in clementine groves. **IOBC/wprs Bulletin**, **11**:14–19.
40. Hendrichs, J., Robinson, A.S., Cayol, J.P., Enkerlin, W., 2002. Medfly area wide sterile insect technique programmes for prevention, suppression and eradication: the importance of mating behaviour studies. **Florida Entomology**, **85**: 1–13.
41. Katsoyannos, B.I., Papadopoulos, N.T., 2004. Evaluation of synthetic female attractants against *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) in sticky coated spheres and McPhail type traps. **Journal of Economic Entomology**, **97**(1): 21-26.
42. Ben Jemâa, J.M., Bachrouch, O., El-Allimi, Dhouibi, M. H., 2010. Field evaluation of Mediterranean fruit fly mass trapping with Tripack® alternative to malathion bait-spraying in citrus orchards. **Spanish Journal of Agricultural Research**, **8**(2): 400-408.
43. Bourtzis, K., Miller, T.A., 2003. Insect Symbiosis. CRC Press, Boca Raton, 368 pp.
44. Mostakim, M., El abed, S., Iraqui, M., Benbrahim, K.F., Houari, A., Gounni A.S., Ibensouda, S.K., 2012. Biocontrol potential of a *Bacillus subtilis* strain against *Bactrocera oleae*. **Annals of Microbiology**, **62**(1): 211-216.
45. Kansu, İ. A., Genel Entomoloji (Dördüncü baskı), A. Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, 965, Ders Kitabı, 283, Ankara, 1986.
46. Knipling, E.F., 1955. Possibilities of insect control or eradication with the use of sexually sterile males. **Journal of Economic Entomology**, **48**: 459-462.
47. Knipling, E.F., 1959. Sterile male Method of Population Control. **Science**, **130**: 902-904.
48. Zümreoğlu, A., Akman, A.K., 1968. Gamma irradiation of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* Wied. emergence, longevity, sterility and sexual competitiveness af ter treatment in air and partial nitrojen, 293-298. *Proceedings of an International Symposium on Modern insect Comtrol: Nuclear Techniques and Biotechnology*, 1987, Vienna.46
49. Özbek, H., Pande, Y.D., 1992. Böceklerin Yönetiminde Cinsel Kısırlaştırma Yönteminin Kullanılması. **Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, **23**(2), 149-159.

50. Caceres, C., 2002. Mass rearing of temperature sensitive genetic sexing strains in Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*). **Genetica**, **116**:107-116.
51. Akman, K., A. Zümreoğlu., 1978. Effects of gamma radiation on the immature pupae of the Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* Wied: Dose response of laboratory reared and wild strains. **Türkiye Bitki Koruma Dergisi**, **2**(1): 37-42.
52. Shelly, T.E., Whittier, S., Effect of sexual experience on the mating success of males of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Proceedings of the Hawaiian Entomological Society**, **32**: 91–94, 1994.
53. Hamnen, H., Guerfali, M.M., Fadhl, S., Saidi, M., Chevrier, C., 2013. Fitness improvement of mass-reared sterile males of *Ceratitis capitata* (Vienna 8 Strain) (Diptera: Tephritidae) after gut-enrichment with probiotics. **Journal of Economic Entomology**, **106**(2):641-647.
54. Morrison, N.I.; Franz, G.; Koukidou, M. ; Miller, T.A.; Saccone, G.; Alphey, L.S.; Beech, C.J. ; Nagaraju, J.; Simmons, G.S.; Polito, L.C., 2010. Genetic improvements to the sterile insect technique for agricultural pests. **Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology**, **18**(2): 275-295.
55. Tunçbilek A.Ş., Kansu İ.A., 1992. Quality control in sterile insect release. **Turkish Journal of Entomology**, **16**:181-192.
56. Guerfali, M.M., Parker, A., Fadh, S., Hemdane, H., Raies, A., Chevrier, C., 2011. Fitness and reproductive potential of irradiated mass-reared mediterranean fruit fly males *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae): Lowering radiation doses. **Florida Entomologist**, **94**(4), 1042-1050.
57. Niyazi, N., Lauzon, C.R., Shelly, T.E., 2004. Effect of probiotic adult diets on fitness components of sterile male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) under laboratory and field cage conditions. **Journal of Economic Entomology**, **97**:1570–1580.
58. Wilke, A.B., Nimmo, D.D, St John, O., Kojin, B.B., Capurro, M.L., Marrelli, M.T., 2009. Mini-review: genetic enhancements to the sterile insect technique to control mosquito populations. **Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology**, **17**:65-74.

59. Whitten, M.J., Foster, G.G., Vogt, W.G., Kitching, R.L., Woodburn, T.L., Kononov, C., 1977. Current status of genetic control of the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina* Wiedemann (Dipter: Calliphoridae), 129-139. *Proceedings of the XV. International Congress of Entomology*, 1976, Washington.
60. Franz, G., 2005. Genetic sexing strains in Mediterranean fruit fly, an example for other species amenable to large-scale rearing for the sterile insect technique. pp. 427-451. *In* Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-wide Integrated Pest Management (Eds.: V. A. Dyck, J. Hendrichs, A.S. Robinson). Springer, Dordrecht, The Netherlands.
61. Fu, G., Condon, K. C., Epton, M. J., Gong, P., Jin, L., Condon, G. C., Morrison, N. I., Dafa'alla, T. H., Alphey, L., 2007. Female-specific insect lethality engineered using alternative splicing. **Nature Biotechnology**, **25**: 353-357.
62. Loukeris, T.G., I. Livadaras, Arca, B., Zabalou, S., Savakis C., 1995. Gene transfer into the Medfly, *Ceratitis capitata*, with a *Drosophila hydei* transposable element. **Science**, **270**: 2002-2005.
63. Gossen, M., Bujard, H. 2002. Studying gene function in eukaryotes by conditional gene inactivation. **Annual Review of Genetics**, **36**: 153-173.
64. Gotoh, T., Noda, H., Ito, S., 2007. *Cardinium* symbionts cause cytoplasmic incompatibility in spider mites. **Heredity**, **98**: 13-20.
65. Zhang, K.J., Han, X., Hong, X.Y., 2013. Various infection status and molecular evidence for horizontal transmission and recombination of *Wolbachia* and *Cardinium* among rice planthoppers and related species, **Insect Science**, **20**:329-344.
66. Anonymous. 2016. Working material, pp. 21. Use of Symbiotic Bacteria Reduce Mass-Rearing Costs and Increase Mating Success in Selected Fruit Pests in Support of SIT Application, 2015. Vienna, Austria, pp.122.
67. Douglas, A.E., 1998. Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: aphids and their symbiotic bacteria *Buchnera*. **Annual Review of Entomology**, **43**: 17-37.
68. Aksoy, S., Pourhosseini, A.A., Chow, A., 1995. Mycetome endosymbionts of tsetse flies constitute a distinct lineage related to Enterobacteriaceae. **Insect Molecular Biology**, **4**: 15-22.

69. Moran, N.A., Degnan, P.H., Santos, S.R., Dunbar, H.E., Ochman, H., 2005. The players in a mutualistic symbiosis: insects, bacteria, viruses, and virulence genes. **Proceeding of the National Academy of Science**, **102**: 16919-16926.
70. Haeder, S., Wirth, R., Herz, H., Spiteller, D., 2009. Candidicin-producing *Streptomyces* support leaf-cutting ants to protect their fungus garden against the pathogenic fungus *Escovopsis*. **Proceeding of the. National Academy of Science**, **106**: 4742-4746.
71. Koukou, K., Pavlikaki, H., Kiliass, G., Werren, J.H., Bourtzis, K., Alahiotis, S.N., Noor, M., 2009. Influence of antibiotic treatment and *Wolbachia* curing on sexual isolation among *Drosophila melanogaster* cage populations. **Evolution** **60**: 87-96.
72. Vorburger, C., Gehrler, L., Rodriguez, P., 2010. A strain of the bacterial symbiont *Regiella insecticola* protects aphids against parasitoids. **Biology Letters**, **6**: 109-111.
73. Penz, T., Schmitz-Esser, S., Kelly, S.E., Cass, B.N., Müller, A., Woyke, T., Malfatti, S.A., Hunter, M.S., Horn, M., 2012. Comparative genomics suggests an independent origin of cytoplasmic incompatibility in *Cardinium hertigii*. **PLoS Genetic**, **8**:10.
74. Jiggins, F.M., Hurst, G.D.D, Majerus, M.E.N., 2000. Sex-ratio-distorting *Wolbachia* causes sex-role reversal in its butterfly host. **Proceedings of the Royal Society Biological Sciences**, **267**: 69–73.
75. Telschow, A., Flor, M., Kobayashi, Y., Hammerstein, P., Werren, J. H., 2007. *Wolbachia*-induced unidirectional cytoplasmic incompatibility and speciation: mainland-island model. **PLoS ONE**, **2**: e701.
76. Cordaux, R., Bouchon, D., Greve, P., 2011. The impact of endosymbionts on the evolution of host sex-determination mechanisms. **Trends Genetics**, **27**: 332–341.
77. O'Neill, S. L., Giordano, R., Colbert, A.M.E., Karr, T.L. Robertson, H.M., 1992. 16S rRNA phylogenetic analysis of the bacterial endosymbionts associated with cytoplasmic incompatibility in insects. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, **94**: 2699-2702. 83.
78. Behar, A., Ben Yosef, M., Lauzon, C.R., Yuval, B., Jurkevich E., 2009. Structure and function of the bacterial community associated with the Mediterranean

- fruit fly, pp. 251-271. *In* Insect Symbiosis. (Eds: K. Bourtzis, T.A. Miller), , CRC Press, Boca Raton, FL.
79. Wilkes, T.E., Duron, O., Darby, A.C., Hypša, V., Nováková, E., Hurst, G.D.D. 2011. The Genus *Arsenophonus*. pp 226-241. *In*: Manipulative Tenants: Bacteria Associated with Arthropods (Eds: Z.-F., Einat, Kostas B.). CRC Press. Boca Raton, FL.
 80. Behar, A., Yuval, B., Jurkevitch, E., 2008. Gut bacterial communities in the Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) and their impact on host longevity. **Journal of Insects Physiology**, **54**: 1377–1383.
 81. Ben-Ami, E., Yuval, B., Jurkevitch, E., 2010. Manipulation of the microbiota of mass-reared Mediterranean fruit flies *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) improves sterile male sexual performance. **The ISME Journal**, **4**:28–37.
 82. Gavriel, S., Gazit, Y., Jurkevitch, E., Yuval, B., 2011. Bacterially enriched diet improves sexual performance of sterile male Mediterranean fruit flies. **Journal of Applied Entomology**, **135**: 564-573.
 83. Lauzon, C. R., Potter, S.E., 2012. Description of the irradiated and nonirradiated midgut of *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera:Tephritidae) and *Anastrepha ludens* Loew (Diptera: Tephritidae) used for sterile insect technique. **Journal of Pest Science**, **85**: 217-226.
 84. Woese, C. R., 2000. Prokaryote systematics: the evolution of a science, pp. 3-18. *In* The Prokaryotes (Eds: .A. Balows, H.G. Trupper, M. Dworkin, W. Harder, K.H. Schleifer) Springer-Verlag, New York, NY.
 85. Hurst, G.D., Jiggins, F.M., 2000. Male-killing bacteria in insects: mechanisms, incidence, and implications. **Emerging Infectious Diseases Journal**, **6** (4): 329–336.
 86. Zchori-Fein, E., Gottlieb, Y., Kelly, S.E., Brown, J.K., Wilson, J.M., Karr, T.L. Hunter, M.S., 2001. A newly discovered bacterium associated with parthenogenesis and a change in host selection behavior in parasitoid wasps. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, **98**: 12555-12560. 86.
 87. Wilkes, T.E., Duron, O., Darby, A.C., Hypša, V., Nováková, E., Hurst, G.D.D. 2011. The Genus *Arsenophonus*. pp 226-241. *In*: Manipulative Tenants: Bacteria Associated with Arthropods (Eds: Z.-F., Einat, Kostas B.). CRC Press. Boca Raton, FL.

88. Werren, J. H., L. Baldo, and M. E. Clark. 2008. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. **Nature Reviews Microbiology**, **6**: 741-751.
89. Derin, İ. 2017. *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae) ve *Lariophagus distinguendus* Forster 1841 (Hymenoptera: Pteromalidae) Reprodaktif Simbiyotlarının Araştırılması. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 81 s.
90. Pace, N. R., 1997. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. **Science**, **276**: 734-40.
91. Sacchi, C. T., Whitney, A.M., Mayer, L.W., Morey, R., Steigerwalt, A., Boras, A., Weyant, R.S., Popovic, T., 2002. Sequencing of 16S rRNA gene: a rapid tool for identification of *Bacillus anthracis*. **Emerging Infectious Diseases**, **8**: 1117-23.
92. Holbrook, F.R., Fujimoto, M.S., 1970. Mating competitiveness of unirradiated and irradiated Mediterranean fruit flies. **Journal of Economic Entomology**, **63**: 1175–1176.
93. Zümreoğlu, A., Ohinata, K., Fujimoto, M., Higa, H., Haris, E.J., 1979. Gamma irradiation of the Mediterranean fruit fly: effect of treatment of immature pupae in nitrogen on emergence, longevity, sterility, sexual competitiveness, mating ability, and pheromone production of males. **Journal of Economic Entomology**, **72**: 173–176.
94. Wong, T.T.Y., Whitehand, L.C., Kobayashi, R.M., Ohinata, K., Tanaka, N., Harris, E.J., 1982. Mediterranean fruit fly: dispersal of wild and irradiated and untreated laboratory-reared males. **Environmental Entomology**, **11**: 339–343.
95. Barry, J.D., McInnis, D.O., Gates, .D, Morse, J.G., Effects of irradiation on Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae): emergence, survivorship, lure attraction, and mating competition. **Journal of Economic Entomology**, **96**: 615–622. 2003.
96. Zümreoğlu, A., 1975. Sterile Male Tekniğini Mücadelede Uygulamak Gayesiyle Suni Ortamlarda Akdeniz Meyve Sineği'ni Yetiştirme Metodları Üzerinde Araştırmalar. E. Ü. Ziraat Fakültesi, Entomoloji, Ziraat, Zooloji, Kürsüsü, Uzmanlık Tezi, İzmir, 94s.

97. Joachim-Bravo, I.S., Alberto, S.N.M., Simões, D., 2009. Biological and behavioral aspects of two laboratory strains of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae): the influence of periodic introduction of wild flies in the colony, Vanessa. **Acta Zoológica Mexicana**, **25** (2): 359-374.
98. Tezcan, H., Zümreoğlu, A., 1986. Laboratuvar koşullarında üretilen Akdeniz meyve sineği (*Ceratitis capitata*) (Wied.) (Diptera: Tephritidae) populasyonlardaki bazı kalite parametreleri üzerinde araştırmalar. **Türkiye Bitki Koruma Dergisi**, **10**(4): 237-243.
99. Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., Lane, D. J., 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. **Journal of Bacteriology**, **173**: 697–703.
100. Doyle, J. J., Doyle, J. L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, **12**: 13-15.
101. Werren, J. H., Windsor, D. M., 2000. *Wolbachia* infection frequencies in insects: evidence of a global equilibrium? **Proceedings the royal society**, **267**(1450): 1277–1285.
102. Baldo, L., Hotopp, J.C.D., Jolley, K.A., Bordenstein, S.R., Biber, S.A., Choudhury, R.R., Hayashi, C., Maiden, M.C.J., Tettelin, H., Werren, J.H., 2006. Multilocus sequence typing system for the endosymbiont *Wolbachia pipientis*. **Applied and Environmental Microbiology**, **72**: 7098–7110.
103. Zchori-Fein, E., Perlman, S. J., 2004. Distribution of the bacterial symbiont in *Cardinium* arthropods. **Molecular Ecology** **13**: 2009–2016.
104. Weeks, A. R., Velten. R., Stouthamer, R., 2003. Incidence of a new sex-ratio distorting endosymbiotic bacterium among arthropods. **Proceedings of the royal society B**, **270**: 1857-1865.
105. Gottlieb, Y., Ghanim, M., Chiel, E., Gerling, D., Portnoy, V., Steinberg, S., Tzuri, G., et al. (2006). Identification and localization of a *Rickettsia* sp. in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). **Applied and Environmental Microbiology**, **72** (5): 3646–3652.
106. Fukatsu, T., Nikoh, N., (2000). Endosymbiotic microbiota of the bamboo pseudococcid *Antonina crawii* (Insecta, Homoptera). **Applied and Environmental Microbiology**, **66**(2): 643–650.

107. Mateos, M., Castrezana, S. J., Nankivell, B. J., Estes, A. M., Markow, T. A., Moran, N. A., 2006. Heritable endosymbionts of *Drosophila*. **Genetics**, **174** (1): 363–376.
108. Duron, O., Bouchon, D., Boutin, S., Bellamy, L., Zhou, L., Engelstädter, J., Hurst, G. 2008. The diversity of reproductive parasites among arthropods: *Wolbachia* do not walk alone. **BMC Biology**, **6** (27) 1-12.
109. Zchori-Fein, E., Brown, J. K., 2002. Diversity of prokaryotes associated with *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). **Annals of the Entomological Society of America**, **95**: 711–718.
110. Geneious version (R6.1.6) created by Biomatters. Available from <http://www.geneious.com>.
111. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S., 2013. MEGA6: MolecularEvolutionary Genetics Analysis version 6.0. **MolecularBiology and Evolution**, **30**: 2725-2729.
112. Saitou, N., Nei, M., 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution**, **4**:406-425.
113. Kimura, M., 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, **16**:111-120.
114. Duron, O., Hurst, G. D. D., 2013. Arthropods and inherited bacteria: from counting the symbionts to understanding how symbionts count. **BMC Biology**, **11** (45):1-4.
115. Zchori-Fein, E., Perlman, S. J., Kelly, S. E., Katzir, N., Hunter, M. S., 2004. Characterization of a ‘Bacteroidetes’ symbiont in *Encarsia* wasps (Hymenoptera: Aphelinidae): proposal of ‘Candidatus *Cardinium hertigii*’. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, **54**:961–968.
116. Dale, C., Beeton, M., Harbison, C., Jones, T., and Pontes, M., 2006. Isolation, pure culture, and characterization of “Candidatus *Arsenophonus arthropodicus*,” an intracellular secondary endosymbiont from the hippoboscid louse fly *Pseudolynchia canariensis*. **Applied and Environmental Microbiology**, **72**: 2997–3004.

117. Engel, P., Moran, A. N., 2013. The gut microbiota of insects – diversity in structure and function. **Microbiology Reviews**, **37** (5): 669-735.
118. Dharne, M., Patole, M., Shouche, Y. S., 2006. Microbiology of the insect gut: tales from mosquitoes and bees. **Journal of Bioscience**, **31**: 293-295.
119. Wang, H., Jin, L., Zhang, H., 2011. Comparison of the diversity of the bacterial communities in the intestinal tract of adult *Bactrocera dorsalis* from three different populations. **Journal of Applied Microbiology**, **110**(6):1390–1401.
120. Muratoğlu, M., Kati, H., Demirbağ, Z., Sezen, K., 2009. High insecticidal activity of *Leclercia adecarboxylata* isolated from *Leptinotarsa decemlineata* (Col.: Chrysomelidae). **African Journal of Biotechnology**, **8**(24): 7111-7115.
121. Muratoğlu, H.; Sezen, K.; Demirbağ, Z., 2011. Determination and pathogenicity of the bacterial flora associated with the spruce bark beetle, *Ips typographus* (L.) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). **Turkish Journal of Biology**, **35**: 9-20.
122. Sevim, A.; Demirbağ, Z.; Demir, İ., 2010. A new study on the bacteria of *Agrotis segetum* Schiff. (Lepidoptera: Noctuidae) and their insecticidal activities. **Turkish Journal Agricultural Forest**, **34**: 333-342.
123. Lauzon, CR. Symbiotic relationships of Tephritids. In Bourtzis K. Miller TA, editors. Insect Sybiosis. Boca Raton, FL, USA: CRC; 2003. p. 115–29.
124. Daser, U., Brandl, R., 1992. Microbial gut floras of eight species of tephritids. **Biological Journal of the Linnean Society**, **45**, 155–165.
125. Morrow, J.L., Frommer, M., Shearman, D.C.A., Riegler, M., 2015. The microbiome of field-caught and laboratory-adapted Australian tephritid fruit fly species with different host plant use and specialization. **Microbial Ecology**, **70**(2):498-508.
126. Sood, P., Nath, A., 2002. Bacteria associated with *Bactrocera* sp. (Diptera: Tephritidae) isolation and identification. **Pest Management and Economic Zoology**, **10**:1-9.
127. Touchefeu, Y., Montassier, E., Nieman, K., Gastinne, T., Potel, G., Bruley des Varannes, S., Le Vacon, F., de La Cochetiere, M.F., 2014. Systematic review: the role of the gut microbiota in chemotherapy- or radiation-induced gastrointestinal mucositis current evidence and potential clinical applications. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics** **40**:409–21.

128. Rani, A., Sharma, A., Rajagopal, R., Adak, T., Bhatnagar, R.K., 2009. Bacterial diversity analysis of larvae and adult midgut microflora using culture-dependent and culture-independent methods in lab-reared and field-collected *Anopheles stephensian* Asian malarial vector. **BMC Microbiology**, **9**:1471–2180.
129. Broderick, N.A., Raffa, K.F., Goodman, R.M., Handelsman, J., 2004. Census of the bacterial community of the gypsy moth larval midgut using culturing and culture-independent methods. **Applied Environmental Microbiology**, **70**:293-300.
130. Reeson, A.F., Jankovic, T., Kasper, M.L., Rogers, S., Austin, A.D., 2003. Application of 16S rDNA-DGGE to examine the microbial ecology associated with a social wasp *Vespula germanica*. **Insect Molecular Biology**, **12**:85–91.
131. Kuzina, L.V., Peloquin, J.J., Vacek, D.C, Miller, T.A., 2001. Isolation and identification of bacteria associated with adult laboratory Mexican fruit flies, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). **Current Microbiology**, **42**: 290–294.
132. Moran, N. A., McCutcheon, J. P., Nakabachi, A., 2008. Genomics and evolution of heritable bacterial symbionts. **Annual Review of Genetics**, **42**: 165–190.
133. Bourtzis, K., Nirgianaki, A., Onyango, P., Savakis, C., 1994. A prokaryotic dnaA sequence in *Drosophila melanogaster*: *Wolbachia* infection and cytoplasmic incompatibility among laboratory strains. **Insect Molecular Biology**, **3** (3):131–142.
134. Zchori-Fein, E., Perlman, S. J., Kelly, S. E., Katzir, N., Hunter, M. S., 2004. Characterization of a ‘Bacteroidetes’ symbiont in *Encarsia* wasps (Hymenoptera: Aphelinidae): proposal of ‘Candidatus *Cardinium hertigii*’. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, **54**:961–968.
135. Rocha, L., Mascarenhas, R., Perondini, A. P., Selivon, D., 2005. Occurrence of *Wolbachia* in Brazilian Samples of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera:Tephritidae). **Neotropical Entomology**, **34** (6): 1013-1015.
136. Augustinos, A.A., Drosopoulou, E., Gariou-Papalexiou, A. Kostas Bourtzis, Penelope Mavragani-Tsipidou, Antigone Zacharopoulou. 2014. The

- Bactrocera dorsalis* species complex: comparative cyto-genetic analysis in support of Sterile Insect Technique applications. **BMC Genetics**, **15**(Suppl 2): S16.
137. Lawson, E. T., Mousseau, T. A., Klaper, R., Hunter, M. D., Werren, J. H., 2001. Cytogenetic and symbiont analysis of five members of the *B. dorsalis* complex (Diptera, Tephritidae): no evidence of chromosomal symbiont-based speciation events. *Rickettsia* associated with male-killing in a buprestid beetle. **Heredity**, **86**: 497–505.
 138. Werren, J. H., Hurst, G. D., Zhang, W., Breeuwer, J. A., Stouthamer, R., Majerus, M. E., 1994. Rickettsial relative associated with male killing in the ladybird beetle (*Adalia bipunctata*). **Journal of Bacteriology**, **176** (2): 388–394.
 139. Anonymous. 2015. Working Material, Use of Symbiotic Bacteria Reduce Mass-Rearing Costs and Increase Mating Success in Selected Fruit Pests in Support of SIT Application. Vienna, Austria, pp. 115.
 140. Anonymous. 2015. Working Material, Use of Symbiotic Bacteria to Reduce Mass-Rearing Costs and Increase Mating Success in Selected Fruit Pests in Support of SIT Application. Vienna, Austria, pp. 120.
 141. Kaya, T. 2014. *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) Mücadelesinde *Wolbachia* spp.'nin Kullanımı. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Kayseri, 119 s.
 142. Brinton, L. P., Burgdorfer, W., 1976. Cellular and subcellular organization of the 277F agent, a *Spiroplasma* from the rabbit tick (*Haemaphysalis leporispalustris* (Acari: Ixodidae)). **International Journal of Systematic Bacteriology**, **26**: 554- 560.
 143. Tully, J. G., Rose, D. L., Yunker, C. E., Carle, P., Bove, J. M., Williamsen, D. L., Whitcomb, R. F., 1995. *Spiroplasma ixodetis* sp. nov., a new species from *Ixodes pacificus* ticks collected in Oregon. **International Journal of Systematic Bacteriology**, **45**: 23-28.
 144. Xie, J., Vilchez, I., Mateos, M., 2010. *Spiroplasma* bacteria enhance survival of *Drosophila hydei* attacked by the parasitic wasp *Leptopilina heterotoma*. **PLoS ONE** **5** (8): 1-7.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Sevgi BAKIR
Uyruğu: Türkiye (T.C)
Doğum Tarihi ve Yeri: 11.03.1985-Kayseri
Medeni Durum: Evli
e-mail: bylg85sevgi@gmail.com
Yazışma Adresi: Nurihas Mah.
 Erciyes Bulvarı No:62/20.
 Melikgazi/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü	2011
Lisans	Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2008
Lise	Kayseri Melikgazi Lisesi (Kayseri)	2002

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2010-2017	Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	Araştırma Görevlisi

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

SCI,SSCI,AHCI İNDEKSLERİNE GİREN DERGİLERDE YAYINLANAN MAKALELER

Cinar N., Bakir S., Tunçbilek A.Ş., Tunçbilek A.Ş., "Comparative Effects of Flower Nectar and Artificial Diets on some Biological Aspects of the Parasitoid Species *Bracon hebetor* (Say.) (Hymenoptera: Braconidae)", *EGYPTIAN JOURNAL OF BIOLOGICAL PEST CONTROL*, vol.25, pp.233-236, 2015

DiĞER DERGİLERDE YAYIMLANAN MAKALELER

Tunçbilek A.Ş., Kılıçoğlu H., Yazıcı N., Özcan S., Erel Y., Canpolat Ü., Yay A.H. , Bakır S., "Detection Of Dna Damage In *Ephestia kuehniella* By Single Cell Gel Electrophoresis After Exposure To Gamma Radiation, ", *Analele Universitatii din Craiova, seria Agricultura – Montanologie – Cadastru* , vol.41, pp.266-269, 2011.

HAKEMLİ KONGRE / SEMPOZYUMLARIN BİLDİRİ KİTAPLARINDA YER ALAN YAYINLAR

Tunçbilek A.Ş., Bakir S., Derin İ., Bilbil H., "Screening of reproductive symbionts of *Sitophilus granarius*, *Sitophilus zeamais* and their parasitoid *Lariophagus distinguendus*", Conference of the IOBC/WPRS (OILB/SROP) Working Group on "Integrated Protection of Stored Products, Zagreb, HIRVATISTAN, 28 Haziran - 1 Temmuz 2015, vol.III, pp.511-517 (Link)

Tunçbilek A.Ş., Bakir S., Derin İ. , Aslihan N., "Development Of *Sitophilus* Spp. (Coleoptera: Curculionidae) On Whole, Cracked Or Ground Maize.", The XLIII Annual Meeting The European Society for New Methods in Agricultural Research, Bolzano, ITALYA, 3-6 Eylül 2014, pp.60-60(Link)

Bakir S., Tunçbilek A.Ş., Ulu D. , "Investigations On Parthenogenesis Of *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)", The XLIII Annual

Meeting The European Society for New Methods in Agricultural Research, Bolzano, ITALYA, 3-6 Eylül 2014, pp.56-56 (Link)

Tunçbilek A.Ş., Küşmüş A., Kaya T., Bakır S., "Effect Of Uv Radiation On Bracon Hebetor (Hymenoptera: Braconidae) And Its Host Larvae, Plodia interpunctella (Lepidoptera: Pyralidae)", International Conference / 42nd ESNA Meeting, Selanik, YUNANISTAN, 4 Eylül 2014 - 4 Eylül 2013, pp.28-28

Bakır S., Kaya T., Tunçbilek A.Ş., "Effect Of Cold Storage On Some Characteristics Of Trichogramma evanescens (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Female", International Conference / 42nd ESNA Meeting, 4-8 September 2013, Thessaloniki, Greece, Selanik, YUNANISTAN, 4 Eylül 2014 - 8 Eylül 2013, pp.67-67

Bakır S., Tak S., Kaya T., Canpolat Ü., Tunçbilek A.Ş., "Beslenme Sıklığının Larva Parazitoiti Bracon Hebetor (Hymenoptera: Braconidae)'Un Ömür Uzunluğu Ve Parazitlenme Kapasitesi Üzerine Etkisi, ", 21. Ulusal Biyoloji Kongresi,, İZMİR, TÜRKİYE, 3-7 Eylül 2012, ss.095-095

Tunçbilek A.Ş., Bakır S., Saatçi E., Toprak G., Canpolat Ü., Kaya T., "The Effects Of Paralization By Bracon Hebetor Say (Hymenoptera: Braconidae) On Hemolymph Enzymes And Proteins In Larvae Ephestia kuehniella Zeller (Lepidoptera: Pyralidae", XXIV. International Congresses of Entomology, Daegu, GÜNEY KORE, 19-25 Ağustos 2012, ss.213-213

Tunçbilek A.Ş., Kılıçoğlu H., Yazıcı N., Özcan S., Erel Y., Canpolat Ü., Yay A., Bakır S., "Detection Of Dna Damage In Ephestia kuehniella By Single Cell Gel Electrophoresis After Exposure To Gamma Radiation, ", The XXXXth ESNA Meeting, Cairova, ROMANYA, 7-10 Eylül 2011, pp.109-109.

Tunçbilek A.Ş., Sümer F., Canpolat Ü., Bakır S., Toprak G., "Comparison Of Antioxidant Enzymes Of Irradiated With Non-Irradiated Bracon Hebetor (Hymenoptera: Braconidae), ", The XXXIXth ESNA Meeting, Brno, ÇEK CUM., 25-29 Ağustos 2009, pp.95-95.

YURT DIŐI TECRÜBESİ

University of Patras, Departmen of Environmenal and Natural Resources Management ,
2 Seferi Street, 30100 Agrinio,Greece, Supervisor: Dr. George TSIAMIS. Tenure of
award: 4 week.

International Atomic Energy Agency, Insect Pest Control Laboratory, Reaktorstrasse 1,
Seibersdorf, Austria. Supervisor: Mr. Konstantinos BOURTZIS. Tenure of award: 2
week.

