



Yaprakbitlerinden elde edilen bazı fakültatif endosimbiyont türlerin moleküler karşılaştırılması

Molecular comparison of some facultative endosymbiotic species obtained from aphids

Gül SATAR^{ID}

Çukurova Üniversitesi, Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, Balcalı, ADANA

Sorumlu yazar (Corresponding author): G. Satar, e-posta (e-mail): satarg@cu.edu.tr

MAKALE BİLGİSİ

Alınış tarihi 15 Ocak 2020
Düzeltilme tarihi 05 Mart 2020
Kabul tarihi 05 Mart 2020

Anahtar Kelimeler:

Aphididae
Candidatus
Genetik ilişki
Sekonder simbiyontlar
Arsenophonus

ÖZ

Yaprakbitleri tarımsal alanlarda pek çok konukçu bitkide yaptığı zarardan dolayı önemlidir. Yaprakbitlerinin konukçu bitki seçimi, üreme, ilaçlara dayanıklılık gibi biyolojik aktivitelerinde anahtar öneme sahip endosimbiyotlar mevcuttur. Zararlının biyolojisini bu kadar etkileyen endosimbiyotlar üzerine ülkemizde pek çalışma yoktur. Bu nedenle yürütülen bu çalışmada da Adana ilinde farklı lokasyon ve bitkiler üzerinde toplanan yaprakbiti türlerindeki endosimbiyotlar universal bir primer ile tespit edilmiştir. Elde edilen endosimbiyotların filogenetik ilişkisi Maximum Likelihood metoduna göre ortaya konulmuştur. Yapılan analizler sonucunda yaprakbiti türleri üzerinden *Buchnera aphidicola*, *Arsenophonus*, *Candidatus* Hamiltonella defenza, *Ca. Fukatsua symbiotica*, *Ca. Serratia symbiotica* endosimbiyont türleri elde edilmiştir. Filogenetik ağaç üzerinde tüm endosimbiyont türler yüksek Bootstrap değerleriyle birbirlerinden ayrılmıştır. *Aphis craccivora*'nın *Robinia pseudoacacia*'ya özgü haplotip geliştirmesinde etken olduğu düşünülen fakültatif *Arsenophonus* bu çalışmada da belirlenmiştir.

ARTICLE INFO

Received 15 January 2020
Received in revised form 05 March 2020
Accepted 05 March 2020

Keywords:

Aphididae
Candidatus
Genetic relation
Secondary symbionts
Arsenophonus

ABSTRACT

Aphids are important in agricultural areas due to the damage they do to many host plants. The endosymbionts play a key role in the biological activities of aphids such as host plant selection, reproduction, and drug resistance. Very few studies on endosymbionts that affect the biology of the pest so much were conducted in our country. In this study, endosymbionts in aphid species collected on different locations and plants in Adana province were determined with a universal primer. The phylogenetic relationship among obtained endosymbionts was determined according to the Maximum Likelihood method. As a result of the analysis, *Buchnera aphidicola*, *Arsenophonus*, *Candidatus* Hamiltonella defenza, *Ca. Fukatsua symbiotica*, *Ca. Serratia symbiotica*, endosymbiont species obtained on the different aphid populations. All endosymbiont species on the phylogenetic tree were separated from each other by high Bootstrap values. The facultative *Arsenophonus*, which is thought to be a factor in the development of specific haplotype to *Aphis craccivora* on *Robinia pseudoacacia* was also identified in this study.

1. Giriş

Yaprakbitleri tarımsal üretimde tahıl, meyve ağaçları, turuncgiller, sebze ve yabancı otlar üzerinde önemli bir zararlı grubunu oluşturmaktadır (Baumann ve ark. 1995). Bitkilerde doğrudan emgi zararının yanında fumajine neden olarak ve en önemli zararlarından biri olan virüslere vektörlük yaparak da zarar oluşturmaktadırlar. Bugüne kadar 5100 yaprakbiti türü (Hemiptera: Aphididae) 11 alt familyada tanımlanmıştır. Bu yaprakbitlerinin neredeyse hepsinde hücreler arası simbiyont bakteriler mevcuttur (Fukatsu 2001; Blackman ve Eastop 2018; Favret 2018). Bu simbiyontlar *Buchnera aphidicola* Munson ve

ark. 1991 (Enterobacteriales: Enterobacteriaceae) gibi obligat olabilmektedir. Obligat mutualistik simbiyont olan *B. aphidicola* (Nikoh ve ark. 2010) yaprakbitlerinin fizyolojilerinin işleyebilmesinde görevlidir ve yaprakbitlerinde üremenin gerçekleşmesi bu endosimbiyonta bağlıdır (Baumann ve ark. 1995; Chen ve ark. 2009; Baldo ve ark. 2006; Simon ve ark. 2011; Satar 2019). Yaprakbitlerinde *B. aphidicola*'nın olmaması durumunda yaprakbitleri için gerekli bazı amino asit ve vitaminleri alamamasından dolayı dwarf fenotip dediğimiz cüce yaprakbitleri oluşumu, gelişimde yavaşlama, yavru verememe

veya yavru veriminde azalma görülmektedir (Douglas 1998; Akman Gündüz ve Douglas 2008). Diğer bir grup ise yaprakbitlerinde kalıtsal olarak aktarılan ama konukçunun üreme ve gelişimi için gerekli olmayan bazen horizontal olarak aktarılabilen bakteriyel fakültatif ya da sekonder olarak tanımlanan (Degnan ve ark. 2010) Rickettsia, (Rickettsiales: Rickettsiaceae), *Candidatus* Hamiltonella defenza, *Ca. Regiella insecticola* ve *Ca. Serratia symbiotica* (Enterobacteriales: Enterobacteriaceae) (Peccoud ve ark. 2013) gibi simbiyontlara sahiplerdir. Sekonder endosimbiyontlar avcı-av, parasitoid-av ilişkisi (Tsuchida ve ark. 2010; Vorburger ve ark. 2010; Telesnicki ve ark. 2012; Martine ve ark. 2013), böceklerin diş koşullara adaptasyonunda (Russell ve Moran 2006), insektisitlere dayanıklılıkta önemlidirler. Örneğin, *Ca. Hamiltonella defenza*, parazitoitlere karşı, *Regiella insecticola* bezelye afidinde fungal etmen *Pandora neoaphidis*' e karşı yaprakbitlerinde dayanıklılık sağlamaktadır (Burke ve ark. 2009). Bezelye afidinde, *Acyrtosiphon pisum* (Harris), fakültatif simbiyontlar PASS (pea aphid secondary symbiont) ya da PAR (pea aphid rickettsia) olmadan yüksek sıcaklıklarda üreme oranı %35'lerden %6'nın altına düşmektedir (Chen ve ark. 2000). Bu ilişkilerin ortaya konmasında en çok kullanılan yöntem moleküler yöntemlerdir. Hangi endosimbiyotun hangi yaprakbiti türünde var olduğu ve böceklerin hangi koşullara göre bu adaptasyonu geliştirdiklerini anlamak için bu endosimbiyonların varlığının tespiti önemlidir.

Bu çalışma farklı yaprakbiti tür ve popülasyonlarında bir universal proteobacterial primer kullanılarak elde edilebilecek farklı endosimbiyot türlerini belirlemek ve elde edilen türlerin 16S rRNA bölgesindeki farklılıklarını ortaya koymak amacıyla ele alınmıştır. Bu çalışma Adana ilinde yaprakbitlerinin endosimbiyotlarının belirlenmesi ile ilgili yürütülen ilk çalışma niteliğindedir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Arazi çalışmaları

Çalışmada kullanılmak üzere Adana ilinde farklı bitkiler üzerinden yaprakbiti örnekleri toplanmıştır. Bu amaçla Temmuz (2017)-Şubat (2018) ayları arasında arazi çıkışları yapılmıştır (Çizelge 1). Arazide kanatlı ve kanatsız ergin yaprakbitleri fırça yardımıyla eppendorf tüplerde %96 alkol içerisinde aktarılacak laboratuvara buz içerisinde getirilmiştir. Her örneğin toplanma tarihi, bitki ve toplandığı yer kaydedilmiştir. Örnekler kullanılacakları zamana kadar -80'de muhafaza edilmiştir. Yaprakbiti teşhisleri Dr. Işıl ÖZDEMİR tarafından gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 1. Filogenetik çalışmalarda kullanılan farklı obligat ve fakültatif simbiyotların tespit edildiği yaprakbitlerinin toplandığı yerler, tarih, konukçu bitki ve endosimbiyot türleri.

Table 1. The locations, collection date, and host plant of aphid species having different obligate and facultative endosymbionts used in phylogenetic studies and endosymbiont species.

No	Tarih	Yer	Konukçu bitki	Aphid türü	Endosimbiyot tür
1	07.09.2017	Çiftelhan	<i>Malus communis</i> L.	<i>Aphis pomi</i> De Geer	<i>Ca. Fukitima simbiotica</i>
2	07.09.2017	Çiftelhan	<i>Robinia pseudoacacia</i> L.	<i>Aphis craccivora</i> Koch	<i>Arsenophonus</i>
3	13.09.2017	Balcalı	<i>R. pseudoacacia</i> L.	<i>A. craccivora</i>	<i>Arsenophonus</i>
4	20.09.2017	Akkaya- Feke	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	<i>Aphis fabae</i> Scopoli	<i>Ca. Hamiltonella defenza</i>
5	20.09.2017	Gaffar Uşağı-Feke	<i>Zea mays</i> L.	<i>Rhopalosiphum maidis</i> (Fitch)	<i>Ca. Serratia symbiotica</i>
6	24.02.2018	Zeytinli	<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.)	<i>A. craccivora</i>	<i>Buchnera aphidicola</i>

2.2. Moleküler Çalışmalar

2.2.1. DNA İzolasyonu

Yaprakbilerinde endosimbiyotları belirlemek için 24 popülasyonda (Çizelge 1) 45 örnekten DNA izolasyonun yapılmıştır. DNA'ları elde etmek için QIAGEN'nin DNAeasy Blood & Tissue Kiti (QIAGEN, 69504) kullanılmış ve izolasyon, kitin metodunda birkaç modifikasyon yapılarak tek bir kanatsız yaprakbiti ergininin gerçekleştirilmiştir. Çalışmada Liu ve ark. (2013) ve Marutani-Hert (2011)'nin farklı böceklerde farklı endosimbiyotları belirlemek amacıyla kullandığı 16S rRNA bölgesini hedefleyen universal primerler 16SF (5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTG-3') ve 16SR (5'-TACCTTGTACGACTTCACCCCAG-3') kullanılmıştır. Her bir PCR reaksiyonunda 25 µl toplam miktar için; 3 µl DNA, 17.25 µl H₂O, 2.5 µl 10X Dream taq green buffer, 0.5 µl dNTP (final konsantrasyonda; 0.2 mM), her bir primerden 0.75 µl ve 0.25 µl Taq (Dream Taq DNA polymerase) karışımları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Thermocycler (Applied Biosystems AB (Veriti)) ise; 95°C'de 3 dk, 95°C'de 15 sn, 55°C'de 15 sn, 72°C'de 30 sn 35 döngü ve 72°C'de 7 dk olarak ayarlanmıştır. Elde edilen PCR ürünü %1'lik agaroz jelde 50 volt 100 mA'da 60 dk koşturmaya takiben Etidium bromürde yakanmasından sonra jel görüntüleme sistemi ile görüntülenmiştir. Pozitif sonuç veren örnekler gen dizileme için ticari bir firmaya gönderilmiştir.

2.2.2. Dizi analizi ve sonuçların değerlendirilmesi

Gen dizileme sonucunda elde edilen nükleotid dizileri National Center for Biotechnology Information'ın Blast analiz programına girilerek gen bankasındaki genlerle karşılaştırılmıştır. Bu sayede elde edilen gen bölgeleri doğrulanmış ve gen bankasında bulunan yaprakbiti türlerinden elde edilmiş farklı endosimbiyotlara ait benzer gen bölgeleri de bu çalışma için referans genler olarak çalışmaya dahil edilmiştir.

Doğrulaması yapılan gen bölgeleri "Molecular Evolutionary Genetics Analysis (Mega 6.0)" programı (Felsenstein 1985) ile görüntülenmiştir. Gen dizilemesi yapılan her bir örnek için gen bölgelerinin dizilimleri her iki yönü Mega 6.0 programında üst üste getirilip hizalamış ve Finch TV programında görüntülenmiştir. Bu sayede elde edilen dizilimlerin temizliği ve doğruluğu çift yönlü olarak yapılarak doğrulanmıştır. Gen bankasında alınan referans genler ile bu çalışmadan elde edilen gen dizilimleri arasındaki filogenetik ilişkilerin ortaya konulması için en uygun parametre modeli Mega 6.0 programında belirlenmiştir. Elde

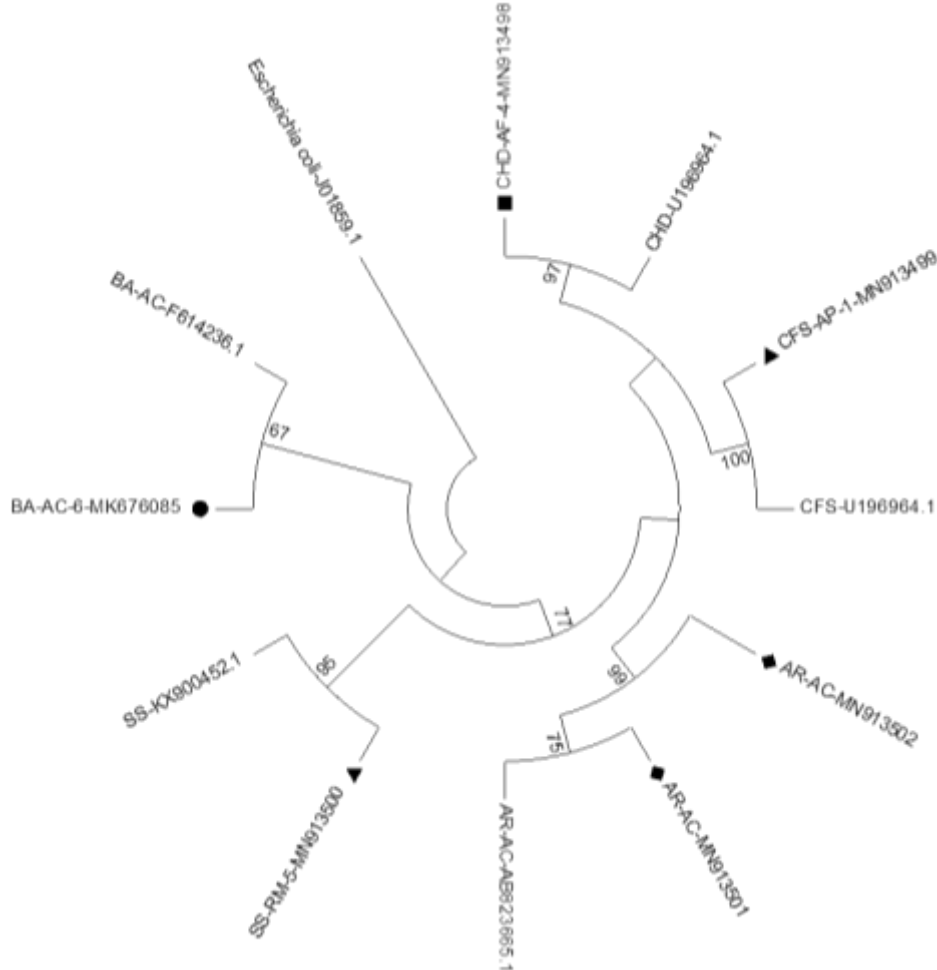
edilen en uygun model Kimura 2-parametresi olmuştur. Bu model yardımıyla Maximum likelihood metodu kullanılarak filogenetik ilişkiler ortaya konulmuştur (Tamura ve ark. 2013). Bootstrap konsensüs ağacı 1000 tekrara göre yapılmıştır (Nei ve Kumar 2000). Filogenetik analizde endosimbiontlara ait referans genler ve dış grup olarak *Escherichia coli* (J01859.1) geni gen bankasından (NCBI) alınarak kullanılmıştır. Elde edilen endosimbiont türlerin nükleotid dizilimleri arasındaki farklılıkları göstermek için Genedoc programı kullanılmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

Adana ilinde *Aphis craccivora* Koch, *Aphis fabae* Scopoli, *Aphis pomi* De Geer ve *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) (Hemiptera:Aphididae) yaprakbiti türlerinden elde edilen endosimbiontlar referans genlerle karşılaştırılmıştır ve filogenetik ağaç Maximum-Likelihood metoduna göre oluşturulmuştur. Analizlerde 620 bp'lik 16S rRNA bölgesi çalışılmıştır. Toplam 45 örnekle çalışma yürütülmüş bunların 40'ında *B. aphidicola* bulunurken, diğer beş örnekte ise farklı fakültatif endosimbiont türler elde edilmiştir. *B. aphidicola* *A. craccivora*, *A. fabae*, *A. gossypii* Glover, *A. pomi*, *Myzus ceraci*

(F.), *M. persicae* (Sulzer) ve *R. maidis* türleri üzerinden saptanmıştır. Yedi yaprakbiti üzerinden her yaprakbiti türüne özgü *B. aphidicola* suşları elde edilmiş aradaki farklılık Satar (2019) tarafından ortaya konulmuştur. Neredeyse tüm yaprakbiti türlerinde saptanan *B. aphidicola* böceğin fizyolojisinin, özellikle üreme ve beslenmesinin sürebilmesi için elzemdir (Douglas 1998) ve bu çalışmada daha fazla elde edilmesi normal görülmüştür.

Çalışmadaki diğer beş örnekten *Arsenophonus*, *Candidatus Hamiltonella defensa*, *Ca. Fukatsuia symbiotica*, *Ca. Serratia symbiotica* fakültatif endosimbiont türleri elde edilmiştir (Çizelge 1). Türleri ait farklı nükleotid dizilimine sahip beş örneğin dizilimleri NCBI gen bankasına MN913498-502 kodları ile yüklenmiştir (Şekil 1). *Arsenophonus* sadece *A. craccivora* üzerinde, *Ca. S. symbiotica* *R. maidis* üzerinde, *Ca. Hamiltonella defensa* *A. fabae*, *Ca. Fukatsui symbiotica* ise *A. pomi* üzerinden tespit edilmiştir (Çizelge 1). *Aphis craccivora*'nın endosimbiontları üzerine yapılan çalışmalar göstermiştir ki *Arsenophonus* simbiyontu *Robinia* sp. konukçu bitkilerinden toplanan *A. craccivora*'lar üzerinde yaygın iken,



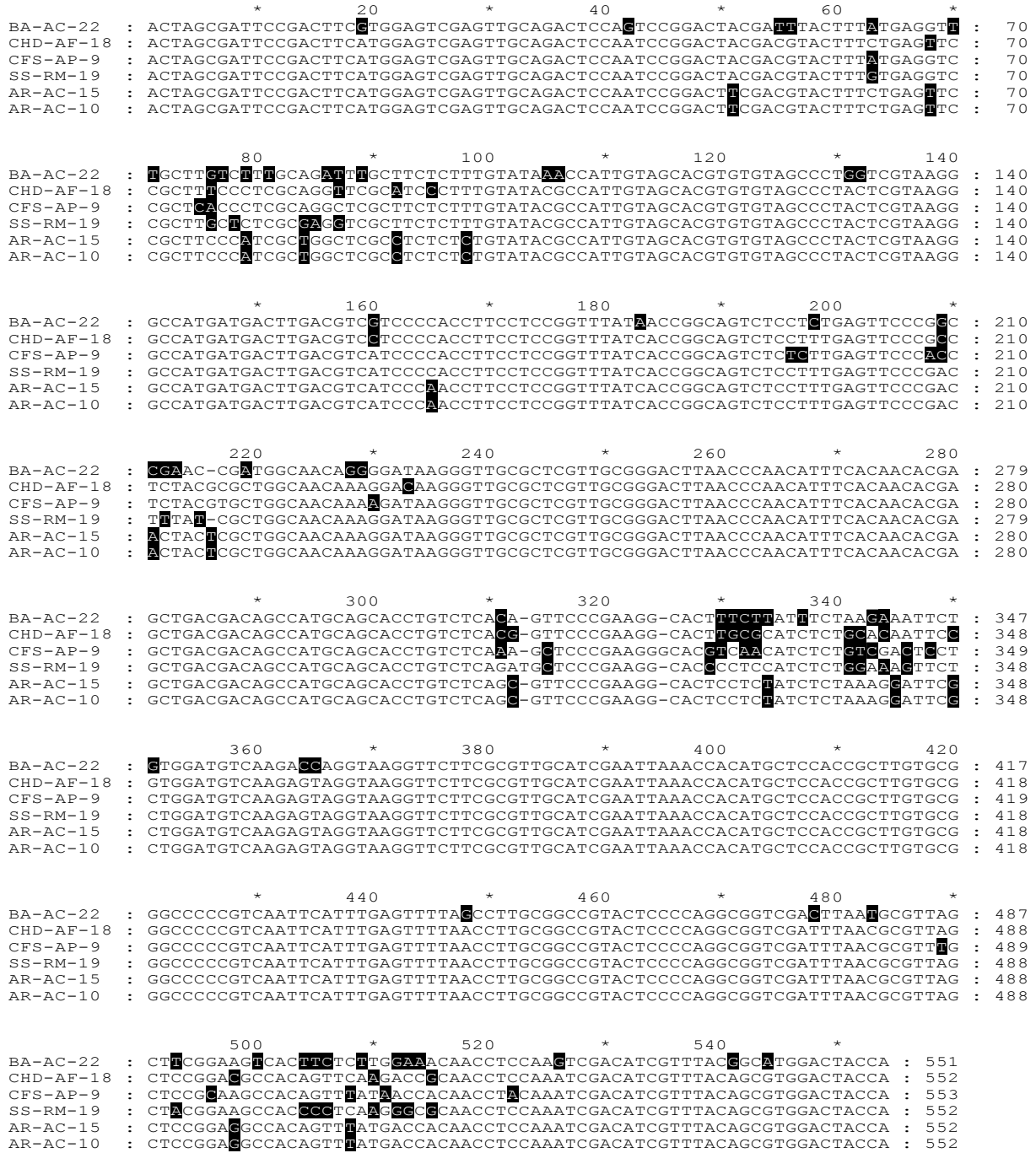
Şekil 1. Farklı yaprakbiti türleri üzerinde saptanan endosimbiontların filogenetik ilişkileri (BA: *Buchnera aphidicola*, AR: *Arsenophonus*, CHD: *Candidatus Hamiltonella defensa*, CFS: *Candidatus Fukatsuia symbiotica*, SS: *Serratia symbiotica*, AC: *Aphis craccivora*, AF: *Aphis fabae*, AP: *Aphis pomi*, RM: *Rhopalosiphum maidis* ve endosimbiontlara ait referans numaralarıyla verilmiş referans genler).

Figure 1. Filogenetic relationships of endosymbionts detected on different aphid species (BA: *Buchnera aphidicola*, AR: *Arsenophonus*, CHD: *Candidatus Hamiltonella defensa*, CFS: *Candidatus Fukatsuia symbiotica*, SS: *Serratia symbiotica*, AC: *Aphis craccivora*, AF: *Aphis fabae*, AP: *Aphis pomi*, RM: *Rhopalosiphum maidis* and Reference gene numbers).

yonca üzerindeki *A. craccivora*'lar da ise Hamiltonella'nın yaygın olduğu ve *A. craccivora*'ların bu bitkilere özelleşmiş muhtemel haplotiplerinin gelişiminde bu fakültatif simbiyontların etkili olduğu bildirilmiştir (Brady ve ark. 2013; Brady ve ark. 2014). Bu çalışmada da hem Çiftahan hem de Balcalı'dan *Robinia pseudoacacia* üzerinde toplanan *A. craccivora*'larda fakültatif *Arsenophonus*'un saptanmış olması bu çalışmaları destekler niteliktedir. Çiftahan 1000 m rakım, Balcalı 127 m rakımda olmasına rağmen iki farklı coğrafik bölgeden toplanan örneklerin nükleotid dizilimlerinde farklılık

saptanmamıştır (Şekil 2). Ancak Pozantı'dan aynı bitkiden toplanan örnekte *Arsenophonus* yerine *B. aphidicola* elde edilmiştir.

Çalışmada saptanan *B. aphidicola* ve *Arsenophonus* hariç diğer endosimbiont türlerin hepsinin parazitoit ve predatörlere karşı yaprakbitlerinde savunma mekanizmasının çalışmasıyla ilişkili olduğu (Tsuchida ve ark. 2010; Vorburger ve ark. 2010; Telesnicki ve ark. 2012; Martine ve ark. 2013) düşünüldüğünde bu populasyonlar üzerinde muhtemel bir doğal düşman



Şekil 2. Farklı yaprakbiti türlerinden elde edilmiş olan farklı endosimbiont türlerin baz düzeyinde karşılaştırılması.

Figure 2. Comparison of different endosymbiont species obtained from different aphid species at the base level.

baskısı olduğu ve bu nedenle bu endosimbiontların miktarının fazla olmasından dolayı diğer örneklerle aynı anda yapılan PCR amplifikasyonlarından farklı endosimbiontların elde edildiği düşünülmektedir. *Ca. Hamiltonella defenza* ile infekteli *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae) yaprakbiti parazitoitleri *Aphidius ervi* ve *Aphidius eadyi* (Hymenoptera: Braconidae)'ye karşı hayatta kalmada daha başarılı olduğu saptanmıştır (Degnan and Moran 2009). Benzer sonuçlar *A. pisum* üzerinde *Lysiphlebus fabarum*, *A. craccivora* üzerinde *Binodoxys communis*, *B. koreanus*, *Lysiphlebus orientalis* ve *Aphidius colemanii* Viereck için de saptanmıştır (Asplen ve ark. 2014). Çukurova bölgesinde de bu yaprakbiti türleri mevcut olup (Uygun ve ark. 2001) bu türler üzerinde yaygın olan *Aphidius* (*Aphidius colemani*, *A. ervi*), *Lysiphlebus* (*Lysiphlebus fabarum*, *L. confusus*), *Binodoxy* (*Binodoxy angelicae*, *B. acalaphae*) cinsine bağlı türlerin (Satar ve ark. 2014; Satar ve ark. 2019) salım çalışmaları ya da doğada destekleme çalışmaları yapılırken bu endosimbiontların varlığının tespiti önemli olacaktır. Böylece bölgede evrimsel süreçte parazitoitlere karşı yaprakbitlerinin geliştirdiği savunma mekanizmaları veya yaprakbiti-parazitoit-konukçu bitki arasında oluşan trofik ilişkilerin daha anlaşılır olmasına katkı sağlanabilir. Özellikle ticari olarak da üretilip satılan *A. colemani*'nin salındığı alanlarda başarısızlık durumlarında da problem endosimbiontlar ile ilişkilendirilebilir. Örneğin, Prado ve ark. (2015) serada yaprakbitlerinde endosimbiont varlığında yaprakbitlerinin *A. colemani*'ye dayanıklı olabileceklerini, ya da infekteli ve infektersiz konukçu yaprakbitlerini ayıramayan parazitoidin yumurtalarını ve enerjilerini boşa harcayabileceklerini belirtmiştir.

Candidatus Serratia symbiotica parazitoitlere karşı koruma sağlamanın yanı sıra ısı şokuna karşı bakteriyositlerdeki simbiyontları korur, ayrıca konukçu yaprakbiti için bazı aminoasitleri üreterek yaprakbitinin *Buchnera*'ya bağımlılığını azaltarak beslenmede rol oynamaktadır (Burke ve ark. 2009). Örneğin *Cinara cedri* (Lachnini)'de tryptophan biyosentezinde *S. symbiotica*'nın görev aldığı Pe'rez-Brocal ve ark. (2006) tarafından saptanmıştır. Bu çalışmada Adana'nın yayla kesiminde bulunan Feke ilçesinden *R. maidis* popülasyonunda *Ca. S. symbiotica* saptanmıştır. Özellikle küresel ısınmanın etkisini artırdığı günümüzde oluşabilecek ani sıcaklık değişimlerine karşı popülasyon içerisinde bu endosimbiont türünü barındıran bireylerin varlığı bakteriositler içerisinde bulunan ve yaprakbitlerinin beslenmesinde büyük rol oynayan *B. aphidicola*'yı koruyarak popülasyonun devamlılığının sağlanması için belki önemli olacaktır. *Arsenophonus*'un ise henüz yaprakbitlerine olan fenotipik etkisi kesin olarak çözülememiştir. Ancak yaprakbitlerinin konukçu bitkiye özelleşmesinde önemli olduğu düşünülmektedir (Brady ve ark. 2014; Tian ve ark. 2019). Diğer bir çalışmada da popülasyonun genişlemesinde ve yaprakbitinin zarar düzeyinin artmasında etkili olabileceği düşünülmektedir (Wulff ve White 2015).

Çalışmada elde edilen farklı endosimbiont türlerin birbirleriyle genetik ilişkileri incelendiğinde obligat *B. aphidicola* diğer sekonder endosimbiontlardan yüksek bir Bootstrap değeriyle ayrılmıştır. Sekonder endosimbiontlar ise 90'ın üzerinde bootstrap değerleriyle birbirlerinden ayrılmışlardır (Şekil 1). Patel ve ark. (2019) da bezelye afidi üzerinde *Ca. S. symbiotica*, *Ca. H. defenza*, *Ca. F. Symbiotica* türleriyle Maximum likelihood yöntemi kullanılarak oluşturdukları filogenetik ağaçta bu türlerin 99-100 gibi Bootstrap değerleriyle birbirlerinden ayrıldıklarını saptamışlardır. Çalışmada elde edilen endosimbiont türlerin nükleotid dizileri karşılaştırıldığında türler arası korunmuş

bölgeler olmasına rağmen, pek çok baz farklılığı da saptanmıştır (Şekil 2). Bu korunmuş bölgeler bir çift primerle farklı endosimbiontların elde edilebileceğini göstermektedir.

Kullanılan üniversal primer değerlendirildiğinde örneklerin büyük bir bölümünden obligat *B. aphidicola* elde edilmiş az sayıda fakültatif endosimbiont türleri elde edilmiştir. Literatürde bu primer çifti farklı yaprakbitlerinde *B. aphidicola*'yı saptamak için kullanılırken yaprakbitlerinde diğer endosimbiont türlerin saptandığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak, bu primer çiftiyle *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllida:)'de syncytium endosimbiont ve *Wolbachia* endosimbiontları belirlenmiştir (Marutani-Hert 2011). Başka bir çalışmada bu primer çiftinin *Bacillus thuringiensis* strainlerinde tüm 16S rDNA bölgesini elde etmede kullanıldığı görülmektedir (Shojaaddini ve ark. 2012). Bu nedenlerden dolayı farklı türler bu çalışmada elde edilmiş olabilir. *B. aphidicola* elde edilmeyen örneklerde bu türün olmadığı anlamına gelmemekte olup bu örneklerde ekolojik nedenlerle diğer endosimbiont türlerin daha fazla var olmasından dolayı öne çıktığı düşünülmektedir.

Yaprakbitlerinde bulunan endosimbiontlar, yaprakbiti-doğal düşman, yaprakbiti-konukçu bitki ve dış koşullara adaptasyona yönelik yapılan çalışmalarda göz ardı edilmemelidir. Yapılan son çalışmalar göstermiştir ki yaprakbitlerinin biyolojileri düşünüldüğünde daha fazla endosimbiontlarla ilişkilidir. Bu nedenle bir bölgede bir zararlıyı araştırırken ve mücadeleye karar verirken sadece zararlı değil ayrıca endosimbiontları da göz önünde bulundurmada yarar vardır.

Teşekkür

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi BAP birimi (Proje No: FBA-2017-8202) tarafından desteklenmiştir. Çalışmada yaprakbitlerinin morfolojik teşhislerini yapan Dr. Işıl ÖZDEMİR'e teşekkür ederim.

Kaynaklar

- Akman Gündüz E, Douglas AE (2008) Symbiotic bacteria enable insect to use a nutritionally inadequate diet. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 276(1658): 987-991.
- Asplen MK, Bano N, Brady CM, Desneux N, Hopper KR, Malouines C, Oliver KM, White JA, Heimpel GE (2014) Specialisation of bacterial endosymbionts that protect aphids from parasitoids. *Ecological Entomology* 39(6): 736-739.
- Baldo I, Dunning Hotopp JC, Jolley KA, Bordenstein SR, Biber SA, Choudhury RR, Hayashi C, Maiden MC, Tet-Telin H, Werren JH (2006) Multilocus sequence typing system for the endosymbiont *Wolbachia pipientis*. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 7098-7110.
- Baumann P, Baumann L, Lai CY, Rouhakhsh D, Moran NA, Clark MA (1995) Genetics, physiology, and evolutionary relationships of the genus *Buchnera*: intracellular symbionts of aphids. *Annual Review of Microbiology* 49: 55-94.
- Blackman RL, Eastop VF (2018) *Aphids on the World's Plants: An Online Identification and Information Guide*. Available from: <http://www.aphidsonworldsplants.info>. Erişim 19 Aralık 2019.
- Brady CM, White JA (2013) Cowpea aphid (*Aphis craccivora*) associated with different host plants has different facultative endosymbionts. *Ecological Entomology* 38(4): 433-437.
- Brady CM, Asplen MK, Desneux N, Heimpel GE, Hopper KR, Linnen CR, Oliver KM, Wulff JA, White JA (2014) Worldwide populations of the aphid *Aphis craccivora* are infected with diverse facultative bacterial symbionts. *Microbial Ecology* 67(1): 195-204.

- Burke GR, Normark BB, Favret C, Moran NA (2009) Evolution and diversity of facultative symbionts from the aphid subfamily Lachninae. *Applied Environmental Microbiology* 75(16): 5328-5335.
- Chen DQ, Montllor CB, Purcell AH (2000) Fitness effects of two facultative endosymbiotic bacteria on the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, and the blue alfalfa aphid, *A. kondoi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 95(3): 315-323.
- Chen CY, Lai CY, Kuo MH (2009) Temperature effect on the growth of *Buchnera* endosymbiont in *Aphis craccivora* (Hemiptera: Aphididae). *Symbiosis* 49: 53-59.
- Degnan PH, Yu Y, Sisneros N, Wing RA, Moran NA (2009) *Hamiltonella defensa*, genome evolution of protective bacterial endosymbiont from pathogenic ancestors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(22): 9063-9068.
- Degnan, PH, Leonardo TE, Cass BN, Hurwitz B, Stern D, Gibbs RA, Richards S, Moran NA (2010) Dynamics of genome evolution in facultative symbionts of aphids. *Environmental Microbiology* 12(8): 2060-2069.
- Douglas AE (1998) Nutritional Interactions in Insect-Microbial Symbioses: Aphids and Their Symbiotic Bacteria *Buchnera*. *Annual Review of Entomology* 43: 17-37.
- Favret C (2018) Aphid Species File, Version 5.0/5.0. Available from: <http://Aphid.SpeciesFile.org>. Erişim 19 Kasım 2019.
- Felsenstein J (1985) Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Fukatsu T (2001) Secondary Intracellular Symbiotic Bacteria in Aphids of the Genus *Yamatocallis* (Homoptera: Aphididae: Drepanosiphinae). *Applied Environmental Microbiology* 67: 5315-5320.
- Liu L, Huang X, Zhang R, Jiang L, Qiao G (2013) Phylogenetic congruence between *Mollitrichosiphum* (Aphididae: Greenideinae) and *Buchnera* indicates insect-bacteria parallel evolution. *Systematic Entomology* 38: 81-92.
- Martine AJ, Weldon SR, Oliver KM (2013) Effects of parasitism on aphid nutritional and protective symbioses. *Molecular Ecology* 23(6): 1594-1607.
- Marutani-Hert M, Hunter WB, Morgan JK (2011) Associated bacteria of Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae: Diaphorina citri). *Southwestern Entomologist* 36(3): 323-331.
- Munson MA, Baumann P, Clark MA, Baumann L, Moran NA, Voegtlin DJ, Campbell BC (1991) Aphid-eubacterial endosymbiosis: Evidence for its establishment in an ancestor of four aphid families. *Journal of Bacteriology* 173: 6321-6324.
- Nei M, Kumar S (2000) *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
- Nikoh N, McCutcheon JP, Kudo T, Miyagishima SY, Moran NA, Nakabachi A (2010) Bacterial genes in the aphid genome: Absence of functional gene transfer from *Buchnera* to its host. *PLoS Genetic* 6: 18-21.
- Patel V, Chevignon G, Manzano-Marin A, Brandt JW, Strand MR, Russell JA, Oliver KM (2019) Cultivation-Assisted Genome of *Candidatus Fukatsuia symbiotica*; the Enigmatic "X-Type" Symbiont of Aphids. *Genome Biology and Evolution* 11(12): 3510-3522.
- Peccoud J, Bonhomme J, Mahéo F, de la Huerta M, Cosson O, Simon JC (2013) Inheritance patterns of secondary symbionts during sexual reproduction of pea aphid biotypes. *Insect Science* 1-10.
- Pe´rez-Brocal V, Gil R, Ramos S, Lamelas A, Postigo M, Michelena JM, Silva FJ, Moya A, Latorre A (2006) A small microbial genome: The end of a long symbiotic relationship?. *Science* 314: 312-313.
- Prado S, Jandricic S, Frank S (2015) Ecological interactions affecting the efficacy of *Aphidius colemani* in greenhouse crops. *Insects* 6(2): 538-575.
- Russell JA, Moran NA (2006) Costs and benefits of symbiont infection in aphids: Variation among symbionts and across temperatures. *Proceedings: Biological Sciences* 273(1586): 603-610.
- Satar S, Satar G, Karacaođlu M, Uygun N, Kavallieratos NG, Starý P, Athanassiou CG (2014) Parasitoids and hyperparasitoids (Hymenoptera) on aphids (Hemiptera) infesting citrus in east Mediterranean region of Turkey. *Journal of Insect Science* 14: 178.
- Satar G (2019) Phylogenetic of *Buchnera aphidicola* Munson et al., 1991 based on 16S rRNA amplified from seven aphid species. *Türkiye Entomoloji Dergisi* 43(2): 227-237.
- Satar G, Karacaođlu M, Uygun N, Satar S (2019) Some Demographic Parameters of *Lysiphlebus confusus*, *L. fabarum*, and *L. testaceipes* (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). *Journal of Economic Entomology* 112(3): 1105-1111.
- Shojaaddini M, López MJ, Moharramipour S, Khodabandeh M, Talebi AA, Vilanova C, Latorre A, Porcar M (2012) A *Bacillus thuringiensis* strain producing epizootics on *Plodia interpunctella*: a case study. *Journal of Stored Products Research* 48: 52-60.
- Simon JC, Boutin S, Tsuchida T, Koga R, Le Gallic J-F, Frantz A, Fukatsu T (2011) Facultative symbiont infections affect aphid reproduction. *PloS One* 6(7): 1-10.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725-2729.
- Telesnicki MC, Ghersa CM, Martínez-Ghersa MA, Arneodo JD (2012) Molecular identification of the secondary endosymbiont *Hamiltonella defensa* in the rose-grain aphid *Metopolophium dirhodum*. *Revista Argentina de Microbiología* 44(4): 255-258.
- Tian PP, Chang CY, Miao NH, Li MY, Liu XD (2019) Infections with *Arsenophonus* Facultative Endosymbionts Alter Performance of Aphids (*Aphis gossypii*) on an Amino-Acid-Deficient Diet. *Applied and Environmental Microbiology* 85(23).
- Tsuchida T, Koga R, Horikawa M, Tsunoda T, Maoka T, Matsumoto S, Simon JC, Fukatsu T (2010) Symbiotic bacterium modifies aphid body color. *Science* 330(6007): 1102-1104.
- Uygun N, Toros S, Ulusoy R, Satar S, Özdemir I (2001) Dođu Akdeniz Bölgesi Aphidoidea (Homoptera) türleri ile bunların parazitoid ve predatörlerinin saptanması. TUBİTAK, Proje no: 105-O-581.
- Vorburger C, Gehrler L, Rodriguez PA (2010) A strain of the bacterial symbiont *Regiella insecticola* protects aphids against parasitoids. *Biology Letters* 109-111.
- Wulff JA, White JA (2015) The endosymbiont *Arsenophonus* provides a general benefit to soybean aphid (Hemiptera: Aphididae) regardless of host plant resistance (Rag). *Environmental Entomology* 44(3): 574-581.