

Batı Akdeniz Bölgesi Domates Güvesi *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) Popülasyonlarında Endosimbiont Bakteri Türlerinin Belirlenmesi

Merve KAVAK*¹, Erhan KOÇAK¹

Ziraat Fakültesi Dergisi,
Cilt 18, Sayı 1,
Sayfa 1-4, 2023

Journal of the Faculty of Agriculture
Volume 18, Issue 1,
Page 1-4, 2023

Öz: Çalışma kapsamında, Batı Akdeniz Bölgesi'nde Antalya, Muğla, Isparta ve Burdur illerinden 11 lokasyondan toplam 55 adet Domates güvesi *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) bireyi toplanmıştır. Söz konusu böcek türünde endosimbiont bakterilerden *Wolbachia*, *Rickettsia* ve *Spiroplasma* taraması yapılmıştır. Bu bireylerde endosimbiont bakteri olan *Wolbachia*, *Rickettsia* ve *Spiroplasma*'nın varlığı ve bulunma oranı PCR reaksiyonlarından sekans yapılarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, *Rickettsia* ve *Spiroplasma*'nın *T. absoluta* için dünya ve Türkiye genelinde ilk kayıt olduğu belirlenmiştir. Bu zamana kadar bulunamayan *Spiroplasma* ve *Rickettsia* çalışmamızda yüksek oranda değer göstermiştir. Batı Akdeniz Bölgesi'nde Domates güvesinde *Wolbachia*, *Rickettsia* ve *Spiroplasma* bulunma oranları sırasıyla %76.3, %78.1 ve %90.9 olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Tuta absoluta*, endosimbiont bakteri, *Wolbachia*, *Rickettsia*, *Spiroplasma*

Determination of Endosymbiont Bacteria Species of Tomato Leafminer *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) Populations from the West Mediterranean Region

Abstract: Within the scope of the study, a total of 55 tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) individuals were collected from 11 locations in the provinces of Antalya, Muğla, Isparta and Burdur in the Western Mediterranean Region. *Wolbachia*, *Rickettsia* and *Spiroplasma* from endosymbiont bacteria were screened in the insect species in question. The presence and rate of endosymbiont bacteria *Wolbachia*, *Rickettsia* and *Spiroplasma* in these individuals were determined by sequencing from PCR reactions. As a result, it was determined that *Rickettsia* and *Spiroplasma* were the first records for *T. absoluta* in the world and Turkey. *Spiroplasma* and *Rickettsia*, which could not be found until now, showed high value in our study. In the region, the presence ratios of *Wolbachia*, *Rickettsia* and *Spiroplasma* were determined as 76.3%, 78.1% and 90.9%, respectively.

Keywords: *Tuta absoluta*, endosymbiont bacteria, *Wolbachia*, *Rickettsia*, *Spiroplasma*

*Sorumlu yazar (Corresponding author)
merve.zdmirrr@gmail.com

Alınış (Received): 26/07/2022
Kabul (Accepted): 24/03/2023

¹Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi,
Ziraat Fakültesi,
Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü,
Isparta, Türkiye.

1. Giriş

Türkiye'de dört mevsim en çok tüketilen sebzelerden olan domatesin verimini oldukça sınırlayan birçok hastalık ve zararlı etmen mevcuttur. Domates güvesi [*Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)], zararlılar içerisinde domates yetiştiriciliğini tehdit eden en önemli türlerden biri durumundadır. Domates güvesi, yüksek üreme gücüne sahip bir zararlıdır. Akdeniz iklimine sahip yerlerde hızla çoğalan zararlı, seralarda yılda 10-12 döl vermektedir. Bir dişi yaşamı süresince 260 adet yumurta bırakmaktadır (Anonim, 2014).

Bitki, ürün ve hastalık vektörü olan zararlı böcek türleri dikey olarak bulaşan birçok endosimbiont bakteri barındırmaktadır. Bu bakteriler konukçularında birçok yaşamsal mekanizmayı etkilemektedir (Paredes vd., 2015). Eklembacaklılardaki simbiyotik mikroorganizmalar, konukçularının ekolojisinde ve evriminde önemli bir rol oynamaktadır. Tüm böcek türlerin %20-70'inde bulunan *Spiroplasma*, *Rickettsia* ve *Wolbachia* bakterilerinin enfeksiyona karşı konukçularını korudukları saptanmıştır (Shokal vd., 2016). Tarımda zararlıların biyolojik mücadelesi için böcek simbiyozunun etkileri birçok

böceğin mikrobiyal ortaklarına zorunlu olarak bağımlı olması, tarımsal zararlıların biyolojik kontrolü için potansiyel bir hedef sağlamaktadır. Tarımsal zararlıların mikrobiyal birlikteliklerinin hayatta kalma ve gelişmeyi etkilediğine dair kanıtların ötesinde simbiyontların böcek konukçusunun kullanabileceği ve beslendiği bitkilerin yelpazesini genişletebildiğine dair kanıtlar bulunmaktadır (Tsuchida vd., 2004). Domates güvesi, özellikle insektisitlerin yoğun kullanımını gerektiren ve artan insentisit direncinden dolayı mücadelesinde sıkıntılar yaşanabilen bir zararlıdır (Biondi vd., 2018).

Türkiye’de *T. absoluta* popülasyonlarında yapılan çalışmada endosimbiontlardan *Arsenophonus*, *Cardinium*, *Hamiltonella* ve *Spiroplasma*’ya rastlanamamışken *Wolbachia* ve *Pantoea* belirlenmiştir (Mehrkhou vd., 2021). Dünyada *T. absoluta* üzerinde yapılan çalışmalarda ise bu üç endosimbionttan sadece *Wolbachia*’nın varlığı belirlenmiştir. Bu çalışmada ise *T. absoluta*’da endosimbiontlardan *Wolbachia*, *Rickettsia* ve *Spiroplasma* varlığı araştırılmıştır.

2. Materyal ve Metot

Çalışmanın materyalini, Batı Akdeniz Bölgesi’nden Isparta, Antalya, Muğla ve Burdur popülasyonlarından denemelerde kullanılmak üzere 2021 yılında larvalar domatesin yaprağından ve meyvesinden toplanmıştır (Tablo 1). Toplanan larvalar ticari renksiz deterjan ve saf su içeren karışımın içerisinde 56°C’de 30 dakika su banyosu inkübasyonuna tabi tutulmuştur. Karışımın içerisinden çıkarılan örnekler saf su ile yıkanarak kurutulmuş ve ezme aparatları ile ezilmiştir. Ezilen örnekler ticari kit protokolüne göre DNA izolasyonu yapılmıştır. İzolasyon aşamasından sonra örnekler PCR aşamasından geçerek elektroforezde görüntülemeye alınmıştır.

Tablo 1. *Tuta absoluta* popülasyonlarının toplandığı lokasyonlar

İller	Lokasyon	Popülasyon
Antalya	Serik	B1
	Elmalı	E1
	Korkuteli	K1
	Dalyan	D1
Muğla	Dalaman	D2
	Ortaca	O1
	Yatağan	Y1
Burdur	Milas	M1
	Merkez	B2
Isparta	Tefenni	T1
	Merkez	I1

3. Bulgular

Türkiye’nin Batı Akdeniz Bölgesi’nin farklı lokasyonlarından *T. absoluta* toplanmış ve 11 farklı *T. absoluta* popülasyonundan rastgele seçilen beş adet

larvada endosimbiyont (*Wolbachia*, *Rickettsia* ve *Spiroplasma*) taramaları gerçekleştirilmiştir.

Popülasyonlardaki bireylerin endosimbiontlarla bulaşma durumları Tablo 2’de verilmiştir. Bireylerde genellikle ikili ve üçlü enfeksiyonların fazlalığı; *Spiroplasma*’nın Muğla ve Isparta illerindeki tüm popülasyonlardaki bireylerde pozitif olması ve de Muğla ili Ortaca ilçesi popülasyonlarında her üç endosimbiontun tüm bireylerde pozitif olması dikkat çekmiştir. İl bazında bakıldığında ise Antalya, Muğla, Isparta ve Burdur illerinde *T. absoluta*’da endosimbiontların bulunma oranları sırasıyla *Wolbachia* için %80, %84, %60 ve %60; *Rickettsia* için %60, %84, %100 ve %80; *Spiroplasma* için ise %86.6, %96, %80 ve %90 olarak belirlenmiştir. Batı Akdeniz Bölgesi’nde ise bu oranlar *Wolbachia* için %76.3, *Rickettsia* için %78.1 ve *Spiroplasma* için ise %90.9 olmuştur (Tablo 2).

Bireylerde genellikle ikili ve üçlü enfeksiyonların fazlalığı; *Spiroplasma*’nın Muğla ve Isparta illerindeki tüm popülasyonlardaki bireylerde pozitif olması ve de Muğla ili Ortaca ilçesi popülasyonlarında her üç endosimbiontun tüm bireylerde pozitif olması dikkat çekmiştir.

4. Tartışma ve Sonuç

Yapılan çalışmalarda aynı tür böceğin farklı bölge veya ülke popülasyonlarında endosimbiyont kompozisyonu farklılaşmaktadır. Yapılan bu çalışmada da *Wolbachia*’nın, sahil şeridinde yer alan Antalya ve Muğla illerinde Isparta ve Burdur illerine göre daha yüksek enfeksiyon oranlarına sahip olduğu görülmüştür.

Endosimbiontların detoksifikasyon yetenekleri ve hızlı evrim süreçleri göz önüne alındığında konukçularında oluşan pestisit direncine katkı sağladıkları düşünülmektedir (Su vd., 2013). *Wolbachia* ve *Rickettsia*, yaygın olarak böcek fakültatif simbiyontlarıdır (Anderson ve Karr, 2001). Bu iki ortak yaşam türü, böceklerin sadece partenogenezle ilişkili değildir, aynı zamanda insektisit direnci ile de ilişkilidir (Kontsedalov vd., 2008, Li vd., 2018). Simbiyotik aracılı insektisit direnci ve duyarlılığı, böcek türlerine, simbiyont türlerine ve kimyasal bileşiğe göre değişmektedir (Liu ve Guo, 2019). Domates güvesinde insektisit direncinin ülkemizde (Yalçın vd., 2015) ve dünyada (Roditakis vd., 2013) çok yaygın olması ile mevcut çalışmadaki simbiyontların yoğunluklarının paralellik göstermesi yukarıda belirtilen görüşleri desteklemektedir.

Bir başka çalışmada ise tüm böcek türlerinin %20-70’inde bulunan *Spiroplasma* ve *Wolbachia*’nin patojenik ve patojenik olmayan bakterilerin enfeksiyonuna karşı konukçularını korudukları saptanmıştır (Shokal vd., 2016). *Wolbachia*’nin yok edilmesi durumunda böcek gelişimini olumsuz etkileyeceği göz önüne alınmalıdır (Chen vd., 2012).

Tablo 2. Popülasyonlardaki beş bireyde bulunan endosimbiyont sayıları ve bulunma oranları

İller	Popülasyonlar	Endosimbiyontlar		
		Wolbachia	Rickettsia	Spiroplasma
Antalya	Serik	4	3	5
	Elmalı	4	4	5
	Korkuteli	4	2	3
Toplam	3	12 (%80)	9 (%60)	13 (%86.6)
Muğla	Dalyan	3	3	5
	Dalaman	5	4	5
	Ortaca	5	5	5
	Yatağan	3	5	5
	Milas	5	4	4
Toplam	5	21 (%84)	21 (%84)	24 (%96)
Burdur	Merkez	3	4	5
	Tefenni	3	4	4
Toplam	2	6 (%60)	8 (%80)	9 (%90)
Isparta	Merkez	3	5	4
Toplam ve %	1	3 (%60)	5 (%100)	4 (%80)
Genel Toplam ve Ortalama %	11	42 (%76.3)	43 (%78.1)	50 (90.9)

Dünyada *T. absoluta* üzerine yapılan çalışmalarda söz konusu zararlının popülasyonlarında *Wolbachia* enfeksiyonunu tespit etmişlerdir. Hırvatistan ve Karadağ'da enfeksiyon oranı %70-100 arasında değişirken yaptığımız çalışmada *Wolbachia* enfeksiyon oranı paralellik göstermiş ve %76.3 olduğu görülmüştür. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda *Rickettsia* ve *Spiroplasma*'nın ortaya çıkmamasının farklı metot ve materyal kullanılmasından kaynaklı olabileceğini düşündürmüştür.

Bu çalışma farklı Domates güvesi popülasyonların endosimbiyontlarla çok ciddi bir oranda bulaşık olduğunu ortaya koymuştur. Endosimbiyontlardan *Spiroplasma* ve *Rickettsia*, *T. absoluta*'da ilk kez bu çalışmada belirlenmiştir. Domates güvesi mikrobiyotasının karakterizasyonunun yanı sıra simbiyotik kompozisyonunu etkileyen faktörler ve simbiyotik bakterilerin konukçu üzerindeki beslenme, fizyoloji ve davranış gibi etkileri, bu istilacı zararlı için alternatif kontrol stratejileri geliştirmede önemli olmaktadır (Mehrkhou vd., 2021).

Özetlemek gerekirse; ülkemizde *T. absoluta* popülasyonları arasında ciddi bir bakteri yoğunluğu bulunmaktadır. Böcek endosimbiyontlarının bu mikroorganizmaların zararlı mücadelesinde kullanım olanaklarını arttırması beklenmektedir. Tarımsal ürünlerde zararlı olan *T. absoluta* endosimbiyontlar ile kurdukları ilişkinin tam olarak aydınlatılması büyük önem arz etmektedir. Çünkü zararlı ile mücadelede yeni çevreye duyarlı ve daha etkili mücadele yöntemleri gerekmektedir.

Teşekkür

2021-YL1-0124 No'lu Proje kapsamında tezi maddi olarak destekleyen Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederiz.

Yazar Katkı Oranları

Yazarlar bu çalışmanın hazırlanmasında eşit derecede katkı sunmuşlardır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir çıkar çatışması beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Etik Kurul Onayı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir etik kurul onay bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Kaynakça

- Anderson, C. L., & Karr, T. L. (2001). *Wolbachia*: evolutionary novelty in rickettsial bacteria. *BMC Evolutionary Biology*, 1(10). <https://doi.org/10.1186/1471-2148-1-10>
- Anonim (2014). *Tuta absoluta* Zirai Mücadele Teknik Talimatı. Erişim adresi http://www.tarim.gov.tr/tagem/menu/28/yayinlar_veriler.www.bku.tarim.gov.tr
- Biondi, A., Guedes, R. N. C., Wan, F. H., & Desneux, N. (2018). Ecology, worldwide spread, and management of the invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*: past, present, and future. *Annual review of entomology*, 63, 239-258. <https://doi.org/10.1164/annurev-ento-031616-034933>
- Chen, S. J., Lu, F., Cheng, J. A., Jiang, M. X., & Way, M. O. (2012). Identification and Biological Role of the Endosymbionts *Wolbachia* in Rice Water Weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology*, 41(3), 469-477. <https://doi.org/10.1603/EN11195>
- Kontsedalov, S., Fein, E. Z., Chiel, E., Gottlieb, Y., Inbar, M., & Ghanim, M. (2008). The presence of *Rickettsia* is associated with increased susceptibility of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides. *Pest*

Management Science, 64(8), 789-792.
<https://doi.org/10.1002/ps.1595>

- Li, Q., Fan, J., Sun, J. X., Wang, M. Q., & Chen J. L. (2018). Effect of the secondary symbiont *Hamiltonella defensa* on fitness and relative abundance of *Buchnera aphidicola* of wheat aphid, *Sitobion miscanthi*. *Frontiers in Microbiol*, 9, 582. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00582>
- Liu, X. D., & Guo, H. F. (2019). Importance of endosymbionts *Wolbachia* and *Rickettsia* in insect resistance development. *Current Opinion in Insect Science*, 33, 84-90. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2019.05.003>
- Mehrkhou, F., Güz, N., Korkmaz, E. M., & Çağatay, N. S. (2021). Analysis of genetic variation in an important pest, *Tuta absoluta*, and its microbiota with a new bacterial endosymbiont. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 45(1), 111-123. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079368>
- Paredes, J. C., Herren, J. K., Schüpfer, F., Marin, R., Claverol, S., Kuo, C. H., Lemaitre, B., & Béven, L. (2015). Genome sequence of the *Drosophila melanogaster* male-killing *Spiroplasma* strain MSRO endosymbiont. *MBio*, 6(2), 14. <https://doi.org/10.1128/mBio.02437-14>
- Roditakis, E., Skarmoutsou, C., Staurakaki, M., del Rosario Martínez-Aguirre, M., García-Vidal, L., Bielza, P., Haddi, K., Rapisarda, C., Rison, J. L., Bassi, A., & Teixeira L. A. (2013). Determination of baseline susceptibility of European populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) to indoxacarb and chlorantraniliprole using a novel dip bioassay method. *Pest Management Science*, 69(2), 217-227. <https://doi.org/10.1002/ps.3404>
- Tsuchida, T., Koga R., & Fukatsu T. (2004) Host plant specialization governed by facultative symbiont. *Science*, 303(5666), 1989-1989. <https://doi.org/10.1126/science.1094611>
- Shokal, U., Yadav, S., Atri, J., Accetta, J., Kenney, E., Banks, K., Kataham, A., Jaenike, J., & Eleftherianos, L. (2016). Effects of co-occurring *Wolbachia* and *Spiroplasma* endosymbionts on the *Drosophila* immune response against insect pathogenic and non-pathogenic bacteria. *BMC Microbiology*, 16(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0634-6>
- Su, J., Chow, B., Boulianne, G. L., & Wilde, A. (2013). The BAR domain of amphiphysin is required for cleavage furrow tip-tubule formation during cellularization in *Drosophila* embryos. *Molecular Biology of the Cell*, 24(9), 1444-1453. <https://doi.org/10.1091/mbc.e12-12-0878>
- Yalçın, M., Mermer, S., Kozacı, L. D., & Turgut, C. (2015). Insecticide resistance in two populations of *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) from Turkey. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 39(2), 137-145. <https://doi.org/10.16970/ted.63047>