ANKARA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İÇ ANADOLU'DA DAĞILIM GÖSTEREN PATATES BÖCEĞİ *Leptinotarsa decemlineata*, SAY POPULASYONLARINDA COI+COII (mtDNA) ve AChE2 (Nükleer) GENİ DNA DİZİ VARYASYONLARI

BURCU LAÇIN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA

2018

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Burcu LAÇIN tarafından hazırlanan "**İç Anadolu'da Dağılım Gösteren Patates Böceği *Leptinotarsa decemlineata*, Say Populasyonlarında COI+COII (mtDNA) ve AChE2 (Nükleer) Geni DNA Dizi Varyasyonları**" adlı tez çalışması 26/12/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. İrfan KANDEMİR
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

Eş Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Ayça ÖZKAN KOCA
Maltepe Üniversitesi Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü

Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. Selim Sualp ÇAĞLAR
Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

Üye : Prof.Dr. Ali ERGÜL
Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü

Üye : Prof. Dr. İrfan KANDEMİR
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof.Dr. Atila YETİŞEMİYEN
Enstitü Müdürü

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf olarak belirttiğimi beyan ederim.

26.12.2018

Burcu LAÇİN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İÇ ANADOLU'DA DAĞILIM GÖSTEREN PATATES BÖCEĞİ *Leptinotarsa decemlineata*, SAY POPULASYONLARINDA COI+COII (mtDNA) ve AChE2 (Nükleer) GENİ DNA DİZİ VARYASYONLARI

Burcu LAÇIN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. İrfan KANDEMİR

Eş Danışman: Dr. Ögretim Üyesi Ayça ÖZKAN KOCA

Bu tez çalışmasında İç Anadolu'da yayılım gösteren patates ekim alanlarında patates bitkisine zarar veren patates böceği *Leptinotarsa decemlineata*, Say (Coleoptera: Chrysomelidae) populasyonlarının moleküler belirteçler kullanılarak (*COI+COII* mtDNA gen bölgesinin) genetik yapısı ortaya çıkarılmış ve bu populasyonlara ait bireylerde organofosfat (OF) insektisit direncinde önemli rol oynayan Asetilkolinesteraz enzimini kodlayan Asetilkolinesteraz 2 (*AChE2*) geninin kısmi baz dizi analizi yapılmıştır.10 il 30 farklı lokasyondan alınan örneklerden mtDNA (*COI+COII)* gen bölgesi için 60 bireyin dizi analizi yapılmış ve analizler sonucunda tüm populasyonlarda sadece H1 Avrupa haplotinin görüldüğü tespit edilmiştir.*AChE2* gen bölgesi için 210 bireyin dizi analizi sonucunda ise toplamda 67 farklı haplotip tespit edilmiştir. Aminoasit değişimine neden olan OF direnci ile ilişkili non-sinonim mutasyon S291G belirlenmiştir. Populasyonların genetik çeşitliliği, direnç seviyeleri ve oluşan dirence yönelik yöntemler tartışılmıştır. χ^2 analizi ile tüm populasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olduğu bulunmuştur. *AChE2* haplotipleri ile Kimura 2 (KP2) parametresi temel alınarak Neighbour Joining ağacı çizilmiştir ve populasyonların temelde 2 gruba ayrıldığı tespit edilmiştir.

Aralık, 2018

Anahtar Kelimeler: *Leptinotarsa decemlineata*, Genetik varyasyon, mtDNA Asetilkolinesreraz 2 (ACHE 2) geni, Organofosfat

ABSTRACT

Master Thesis

DNA sequence variation in COI+COII (mtDNA) and AChE2 (nuclear) genes in potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*, Say populations distributed in Central Anatolia

Burcu LACIN

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Prof.Dr.İrfan KANDEMIR

Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Ayça OZKAN KOCA

In this thesis, the genetic structure of the potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*, Say (Coleoptera: Chrysomelidae) populations, potato plant pest in potato cultivation areas in Central Anatolia, was determined by using partial DNA sequences of mtDNA region *(COI + COII*) and Acetylcholinesterase 2 (*AChE2*) gene in nuclear DNA which encodes Acetylcholinesterase enzyme that plays an important role in organophosphate insecticide resistance in insects. Samples were collected from 10 different provinces in 30 locations, the sequence analysis of 60 individuals for the mtDNA (*COI + COII*) gene region resulted in only one haplotype in Central Anatolia which is H1 haplotype common in European. For the AChE2 gene region, a total of 67 different haplotypes were determined from the sequencing of 210 potato beetle individuals. In *AChE2* gene partial DNA sequences, non-synonymous mutation related to OF resistance (S291G amino acid change) was determined. The genetic diversity of populations, resistance levels and resistance methods are discussed. It is found that all populations were in Hardy-Weinberg equilibrium using χ^2 analysis. Based on the Kimura 2 (KP2) parameter, the Neighbor-Joining tree was constructed using *AChE2* haplotypes and found that the Central Anatolian populations were divided into two groups.

December, 2018

Key Words: *Leptinotarsa decemlineata*, Genetic variation, mtDNA Acetylcholinesterase 2(*AChE2*) gen, organophosphate

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, her zaman bana destek olan ve beni cesaretlendiren tez danışmanım, değerli hocam İrfan KANDEMİR'e (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı), bu süreçte birlikte çalıştığım, bilgisini ve desteğini esirgemeyen eş danışmanım Ayça ÖZKAN KOCA'ya (Maltepe Üniversitesi), laboratuarda birlikte çalıştığım çalışma arkadaşlarım Ezgi TAŞER ve S. Berkay BERKCAN'a, her zaman yanımda olan ve beni destekleyen sevgili aileme teşekkür ediyorum.

Bu çalışma TÜBİTAK 114Z945 No'lu "Patates Zararlısı *Leptinotarsa decemlineata*, Say (Coleoptera: Chrysomelidae) Populasyonlarının mtDNA (Sitokrom Oksidaz Alt Ünitesi *COI+COII*) & n DNA (Mikrosatellit) Karakterizasyonu ve İnsektisit Direnci İle İlişkili Asetilkolinesteraz 2 (*AChE2*) Genindeki Mutasyon Frekansı Farklılığı" başlıklı proje ile desteklenmiştir.

Burcu LAÇIN

ANKARA, Aralık 2018

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....i

ÖZET.....ii

ABSTRACT…….....……..…..iii

TEŞEKKÜR…….....…….....….iv

SİMGELER DİZİNİ……..…….....……..…..…vii

ŞEKİLLER DİZİNİ...…….....….....ix

ÇİZELGELER DİZİNİ.....……xi

1.GİRİŞ.....1

1.1 Patates (*Solanum tuberosum* L.).....1

1.1.1 Patatesin kökeni, tarihçesi ve yayılışı 1

1.1.2 Patatesin önemi 2

1.2 Dünya'da ve Türkiye'de Patates Üretimi 3

2. KURAMSAL TEMELLER 5

2.1 Patates Böceği (*Leptinotarsa decemlineata)* İle İlgili Genel Bilgile 5

2.2 *Leptinotarsa decemlineata* (Say, 1824).....5

2.2.1 Sistematikteki yeri 5

2.2.2 Coleoptera takımı özellikleri.....6

2.2.3 Patates böceğinin (*Leptinotarsa decemlineta*) tanımı ve yaşam döngüsü……8

2.2.4 Patates böceği tarihçesi ve yayılış ...……11

2.3 Patates Böceğinin Zarar Şekli ve Mücadele Yöntemleri……...14

2.4 Böceklerde Yaygın Olarak Kullanılan İnsektisidler……..16

2.4.1 Organoklorin……...…16

2.4.2 Piretroidler…….16

2.4.3 Karbamatlar……...17

2.4.4 Organofosfatlar……..17

2.5 Moleküler Belirteçler……18

2.5.1 Mitokondriyal DNA (mtDNA)....……..18

2.5.2 Asetilkolinesteraz geni (*AChE2*)…….……..19

2.6 Literatür Özeti……...20

3. MATERYAL VE YÖNTEM……....22

3.1 Örneklerin Toplanması……22

3.2 DNA İzolasyonu……28

3.2.1 CTAB DNA izolasyonu protokolü……...29

3.2.2 DNA miktar tayini……30

3.3 *COI+COII* mtDNA Gen Bölgesinin PZR ile Çoğaltılması ve DNA Dizi Analizi…….31

3.4 *AChE2* Gen Bölgesinin PZR ile Çoğaltılması ve DNA Dizi Analizi…….35

4. ARAŞTIMA BULGULARI……..42

4.1 mtDNA *COI+COI I* Gen Bölgesi Dizi Analizi Sonuçları.....42

4.2 Asetilkolinesteraz 2 (*AChE2*) Gen Bölgesi Verilerinin Analiz Sonuçları.....46

5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....52

5.1 mtDNA Bulgularına Göre İç Anadolu bölgesinde ki Patates Böceği Populasyonlarının Yapısı ve Haplotip Analizi.....52

5.2 Asetilkolinesteraz 2 (*AChE2*) Gen Bölgesi Bulgularına Göre İç Anadolu Bölgesinde Patates Böceği Populasyonlarının Yapısı ve Organofosfat Direncinden Sorumlu Mutasyonların Dağılımı.....53

KAYNAKLAR.....55

EKLER.....61

EK 1.....62

EK2.....64

ÖZGEÇMİŞ.....66

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
Mg^{+2}	Magnezyum
$MgCl_2$	Magnezyum diklorür
°C	Santigrat derece
+	Artı
&	Ve
ß	Beta
-	Eksi
µl	Mikrolitre
Na+	Sodyum
K+	Potasyum

Kısaltmalar

A	Adenin
ACh	Asetil kolin
AChE	Asetilkolinesteraz enzimi
AChE2	Asetilkolinesteraz 2
C	Sitozin
CTAB	Setil trimetil amonyum bromür
dATP	Deoksiribo adenin trifosfat
dCTP	Deoksiribo sitozin trifosfat
DDT	Dikloro difenil trikloroethan
dGTP	Deoksiribo guanin trifosfat
dH2O	Distile su
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksiribo nükleotid trifosfat
dTTP	Deoksiribo timin trifosfat
EPPO	European and Mediterranean Plant Protection Organization (Akdeniz ve Avrupa Bitki Koruma Örgütü)
EtBr	Etidyum bromür
EtOH	Etil alkol

FAO	Food and Agriculture Organization (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü)
Fst	Gruplar ve populasyonlar arası fiksasyon indeksi
G	Guanin
HCl	Hidroklorik asit
M	Molar
ml	Milimetre
mm	Milimetre
mtDNA	Mitokondriyal DNA
N	Örnek sayısı
NaCl	Sodyüm Klorür
ng	Nanogram
nm	Nanometre
OF	Organofosfat
pmol	Pikomol
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RAPD	Rastgele çoğaltılan polimorfik DNA
RFLP	Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
Rpm	Revolutions per minute (Dakikadaki devir sayısı)
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi
T	Timin
Ta	Primer bağlanma sıcaklığı
TAE	Tris asetikasit EDTA
TE	Tris-EDTA
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UV	Ultraviyole
βME	Beta-Merkaptoetanol

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Patates yumrusu *(Solanum tuberosum*) 3

Şekil 1.2 Dünyada patates ekim alanları 4

Şekil 1.3 Patates üretim miktarları 2017 4

Şekil 2.1 *Solanum rostratum* ..…….....6

Şekil 2.2 Rocky dağları……...6

Şekil 2.3 Coleoptera takımına ait filogeni diyagramı (Gillot, 1982) 7

Şekil 2.4 Patates Böceği (*Leptinotarsa decemlineata,* Say 1894) 8

Şekil 2.5 Patates böceği yumurtaları 9

Şekil 2.6 Patates böceği larvaları 10

Şekil 2.7 Patates böceği pupası 10

Şekil 2.8 Patates böceği ergin bireyi 11

Şekil 2.9 Patates böceğinin Dünya'daki dağılım 12

Şekil 2.10 Patates böceğinin Avrupa'da ki yayılışı (Lehmann, 2014) 12

Şekil 2.11 Patates bitkisine zarar veren larvalar 15

Şekil 2.12 Patates böceğinde, *AChE2* gen bölgesinde Adenin bazının (A) Guanin'e (G) değişimi ile meydana gelen mutasyon (Zhu ve Clark, 1997) 20

Şekil 3.1 Karayolu kenarında ekim yapılan bir patates tarlası (Nevşehir-Niğde karayolu) 22

Şekil 3.2 Patates üretimi yapılan büyük ekim alanı 22

Şekil 3.3 Patates bitkisi üzerinde yeşil yaprakları yiyerek beslenen ergin bireyler 23

Şekil 3.4 Tarladan toplanan falkon tüpler içerisindeki patates böceği erginleri …….....23

Şekil 3.5 Laboratura falkon tüpleri içerisinde getirilen patates böceği ergin ve larvaları……24

Şekil 3.6 Örneklerin toplandığı illerin haritadaki dağılımı 24

Şekil 3.7 DNA izolasyonu yapmak için toraks'ları alınan örnekler ……29

Şekil 3.8 Elektroforez jel görüntüleri 33

Şekil 3.9 Elektroforez jel görüntüleri 33

Şekil 3.10 Elektroforez jel görüntüleri 33

Şekil 3.11 Firmadan gelen kromotogram dosyaları 34

Şekil 3.12 FinchTV programı ile kontrol edilip fasta formatına çevrilen kromatogram dosyası 35

Şekil 3.13 Bioedit programında hizalanmış *COI+COII* mtDNA bölgesi dizileri 35

Şekil 3.14 *AChE2* gen bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonrası PZR ürünlerinin jel görüntüleri (M: 100 bp DNA marker-Fermantas) ……..……37

Şekil 3.15 Firmadan gelen kromotogram dosyaları 38

Şekil 3.16 Fasta formatına çevrilen *AChE2* gen bölgesi kromatogram dosyası 39

Şekil 3.17 Bioedit programında hizalanmış *AChE2* gen bölgesini dizileri 39

Şekil 3. 18 *AChE2* gen bölgesine ait dizilerin MEGA programında hizalanması ve mutasyon bölgesi …….....40

Şekil 3.19 *AChE2* gen bölgesine ait dizilerin MEGA programında hizalanması ve asit dizisi ……40

Şekil 4.1 577 bç'lik *COI+COII* mtDNA gen bölgesi dizisi 42

Şekil 4.2 mtDNA *COI+COII* gen bölgesi İç Anadolu ve *Genbank haplotipleri ile oluşturulan median-joining network (*Grapputo vd. (2005)) 43

Şekil 4.3 İllere göre *AChE2* gen bölgesinde OF ile ilişkili S291G mutasyonu için populasyonlarda heterozigot (291Ser/Gly) ve homozigot (291Ser/Ser ve 291Gly/Gly) bireylerin dağılımı 47

Şekil 4.4 İllere göre *AChE2* gen bölgesinde OP direnci ile ilişkili S291G mutasyonunun genotip frekansları 48

Şekil 4.5 *AChE2* haplotipleri ile Kimura 2 (K2P) parametresi temel alınarak oluşturulan Neighbour Joining ağacı 50

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2. 1 *Leptinotarsa decemlineata*'nın küresel dağılımı (EPPO, 2016) [(P) mevcut, (W) yaygın, (L) lokal olarak bulunmakta, (O) zaman zaman mevcut, (D) geçmişte rapor edilmiş, artık mevcut değil, (E) yok edilmiş, (I) yok] ……..……13

Çizelge 3.1 Örneklerin toplandığı lokasyonlar……..…..25

Çizelge 3.2 CTAB tamponu hazırlanışı 29

Çizelge 3.3 TE tamponu hazırlanışı 29

Çizelge 3.4 Nanodrop ile ölçülen örneklerin DNA miktarları (ng) ve elde edilen DNA'ların temizlik değerleri 30

Çizelge 3.5 *COI+COII* mtDNA gen bölgesine ait PZR koşulları 31

Çizelge 3.6 *COI+COII* mtDNA gen bölgesine ait primerler 32

Çizelge 3.7 *COI+COII* mtDNA gen bölgesini çoğaltmak için kullanılan PZR reaksiyonu bileşenleri (Fermantas *Taq*DNA Polimeraz ile) 32

Çizelge 3.8 *AChE2* gen bölgesine ait primerler 36

Çizelge 3.9 *AChE2* gen bölgesine ait PZR koşulları 36

Çizelge 3.10 *AChE2* gen bölgesi için PZR reaksiyonu bileşenleri (Thermo Dream Taq Green PZR master mix ile) 37

Çizelge 4.1 Mitokondriyal çeşitlilik: analiz edilen örnek sayısı (N), her populasyondaki haplotipler ve sayıları (Avrupa ve İç Anadolu populasyonlarında tek bir haplotip bulunduğu için populasyonlar bir araya toplanmıştır) 44

Çizelge 4.2 Amerika, Avrupa ve İç Anadolu populasyonlarının mtDNA *COI+COII* gen bölgesine bağlı genetik çeşitlilik değerleri, [Örnek sayısı (N), Haplotip sayısı (H), haplotip çeşitliliği (Hd), Nükleotid çeşitliliği (π), Nükleotid farklılıklarının ortalama sayısı (K) 45

Çizelge 4.3 Populasyonlardaki haplotip dağılımları 46

Çizelge 4.4 *AChE2* gen bölgesinde OF ile ilişkili S291G mutasyonu için il populasyonlarında heterozigot (291Ser/Gly) ve homozigot (291Ser/Ser ve 291Gly/Gly) birey sayıları 48

Çizelge 4.5 *AChE2* gen bölgesine bağlı genetik çeşitlilik değerleri, [Birey sayısı (N), Polimorfik sayısı (S), Haplotip sayısı (H), haplotip çeşitliliği (Hd), Nükleotid çeşitliliği (π), Nükleotid farklılıklarının ortalama sayısı (K)] 49

Çizelge 4.6 *AChE2* gen bölgesine bağlı nötralite testi 50

Çizelge 4.7 İllere göre hesaplanan fiksasyon indeksi (F_{ST}) değerleri 51

1.GİRİŞ

1.1 Patates (*Solanum tuberosum L.*)

Solanaceae üyeleri, çoğunlukla Güney Amerika'da yoğunlaşmış, dünyanın her tarafına yayılmışlardır. Birçok bitkinin yenilebilir olması familyanın ekonomik önemini oluşturur. *Solanum tuberosum* (Patates) bu familya üyeleri içerisinde ekonomik ve besinsel açıdan en çok tercih edilen türlerin başında gelmektedir (Simpson, 2012).

1.1.1 Patatesin kökeni, tarihçesi ve yayılışı

Kültür formları Güney Amerika kıtasında olan Patates (*Solanum tuberosum* L.) türleri, dünyanın birçok yerinde ve Amerika kıtasında yabanıl olarak bulunmaktadır.

Genetik ve bitki ıslahı çalışmalarından sonra, patatesin kökeni olarak; Şili'den Meksika'ya kadar olan alan, Peru sahilleri ve And Dağları olarak kabul edilmiştir (Onaran vd.,2000). Stevenson (1951)'a göre; patates ilk olarak, 1537 yılında İspanyollar tarafından, Güney Amerika'da And dağları bölgesinde keşfetilmiştir. İspanyollar, And dağlarında bulunan bir yerli evinde, yerlilerin "Truffles" adı verilen patatesi görmüşlerdir. Bu bitkiyi gören İspanyollar, patatese "papa" ismini vermişlerdir, ancak bu isim Avrupa'da pek yaygın olarak kullanılmamıştır.

Patates bitkisinin Avrupa'ya getirilişi ispanyollar tarafından 1570 yılında, İngilizler tarafından ise 1590 yılında gerçekleştirilmişitr. Avrupa'ya İspanyollar tarafından getirilen patates bitkisinin Güney İspanya, İtalya ve Portekiz'de ekimleri yapılmıştır. İngiltere'ye getirilen patates bitkileri, ilk olarak İrlanda'da yetiştirilmiş, daha sonra İskoçya ve Galler bölgelerin de ekilmiştir. 17. Yüzyılda patatesin tarımsal ve ekonomik önemini farkeden İrlandalılar patatesi tarla ziraatı halinde yetiştirilmeye başlamışlardır. Patates tarımı, İrlanda'da hızla gelişmiş ve 18. yüzyılda patates halkın temel gıda maddesi haline gelmiştir.

İlk zamanlar patates bitkisi Avrupa'da yaygınlaşmamıştır. 18. Yüzyılda bahçelerde küçük çapta üretilmeye başlanan patates bitkisi daha sonra geniş alanlarda ekilip, üretilmeye başlanmıştır (Onaran vd. 2000). Patatesin Türkiye'ye girişi ile ilgili farklı görüşler bulunmakdadır. Patates bitkisinin ülkemize 1850 yılında Rusya üzerinden Kafkasya yolu ile girdiği ve Doğu Anadolu ve Karadeniz bölgesi yaylalarında yetiştirildiği bildirilmiştir (İlisulu, 1957).

Diğer bir görüşe göre ise patates ülkemize 1853 yılında girmiş ve 19. Yüzyılda çiftçiler tarafından başlanmıştır (Zhukovsky 1933). Türkiye'de patates tarımına ilk defa Sakarya nehri vadisi, Karadeniz boğazı yakınları ve Adapazarı bölgelerinde başlanmış olup buradan tüm ülkeye yayılmıştır.

Ülkemizde patatesin ilk defa 1876 yılında Adapazarı ovasında yetiştirildiği bildirilmektedir (İpek, 1938). Patatesin, Adapazarı ovasında yetiştirilmesinde Hüdevandigar valisi Ahmet Vefik Paşa'nın büyük önemi bulunmaktadır. Patates, toprak kokan bir ürün olduğu için köylüler tarafından fazla ilgi görmemiş, ancak daha sonra 15 yıl süreyle öşürden muaf tutulmak suretiyle bölgeye yayılmasına çalışılmış ve daha sonra tarla ziraatı halinde yetiştirilmeye başlanmıştır Marsilya'dan sağlam ve hastalıksız patates tohumlarının getirilmesiyle verimde önemli artışlar elde edilmiş. Bu gelişmeden sonra, patates üretimi ülkemizde hızla gelişmiş ve bugünkü seviyelere ulaşmıştır.

1.1.2 Patatesin önemi

Tek yıllık bir kültür bitkisi olan patates, çeşitli iklim bölgelerine kolaylıkla uyum sağlayabildiği için, dünyanın hemen yer yerinde başarıyla yetiştirilmiş ve besin kaynağı olarak değişik şekillerde kullanılarak tüketimi hızlı bir şekilde artmıştır. Patates yumruları yaklaşık olarak %20-30 oranlarından nişasta, % 2 oranında protein, B1, B2 ve C vitaminleriyle bazı mineral maddeleri içermektedir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1 Patates yumrusu (*Solanum tuberosum*)

Patates özellikle az gelişmiş ülkelerde önemli bir besin maddesi haline gelmişitr. Yapılan bazı araştırmalar sonucunda ortalama 100 gr'lık bir patates; normal bir insanın ihtiyacı olan günlük protein miktarının en az %7'sini, demir elementinin %l0'unu, C vitamininin yaklaşık olarak %50'sini, B1 vitamininin ise %10'unu ve enerjinin %3'ünü karşıladığı tespit edilmişitr. Bu araştırmalar patatesin insan diyetindeki yerini ve önemini göstermektedir.

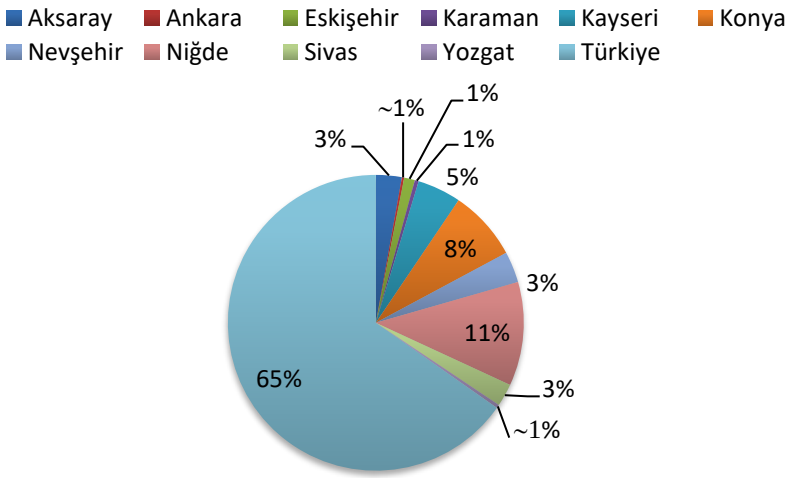
1.2 Dünya'da ve Türkiye'de Patates Üretimi

Günümüzde patates üretimi tüm dünya'da yoğun bir şekilde yapılmaktadır (Şekil 1.2). FAO 2016 yılı verilerine baktığımız zaman dünyada 19,3 milyon hektar alanda 376,8 milyon ton patates üretimi yapılmıştır. Ekim alanlarının %30,2'si Çin'de bulunmaktadır. Hindistan %11,1 ekim alanıyla 2. sırada yer alırken Rusya %10,5'lik bir paya sahiptir. Bu üç ülkede dünyadaki patates üretiminin %46,22'lik kısmı yapılmaktadır. Çin ve Hindistan gibi nüfus yoğunluğunun fazla olduğu ülkelerde birim alandan fazla ürün alınmasından dolayı patates önemli bir ürün haline gelmiştir. FAO verilerine göre 2016 yılında Çin'de 99 milyon ton, Hindistan'da 43,8 milyon ton patates üretimi yapılmıştır.



Şekil 1.2 Dünyada patates ekim alanları

Ülkemizde üretimin yoğun olarak yapıldığı iller sırasıyla Niğde, Nevşehir, İzmir, Bolu ve Afyonkarahisar'dır. Ülkemizde ki patates üretiminin %57,9'u bu illerimiz tarafından yapılmaktadır. Bu tez çalışması İç Anadolu'da ki 10 il'den örnek toplanarak yapılmıştır. Bu illerdeki 2017 yılına ait patates üretim miktarı ülkemizdeki üretimin %35'lik kısmını oluşturmaktadır (Şekil 1.3).



Şekil 1.3 Patates üretim miktarları 2017

2.KURAMSAL TEMELLER

2.1 Patates Böceği (*Leptinotarsa decemlineata)* İle İlgili Genel Bilgiler

Patates böceği, patates bitkisine zarar veren özellikle patateste %30-%50 arasında ürün kaybına yol açan önemli bir tarım zararlısıdır (Hare, 1980; Zhang vd. 2013). Patatesin yanı sıra domates, patlıcan, tütün ve biber gibi Solanaceae familyasındaki diğer bitkilerin de zararlısıdır. Hem ergin bireyler hem de larvalar patates yaprakları üzerinden beslenmekte ve verdikleri zarar ile patates ürünlerinde azalmaya neden olmaktadır (Ferro vd. 1985).

2.2 *Leptinotarsa decemlineata* (Say, 1824)

2.2.1 Sistematikteki yeri

Alem: Animalia

Şube: Arthropoda

Sınıf: Insecta

Takım: Coleoptera (Linnaeus, 1758)

Alttakım: Polyphaga

Aile: Chrysomelidae (Latreille, 1802)

Cins*:* *Leptinotarsa* (Chevrolat in Dejean, 1836)

Tür: *Leptinotarsa decemlineata* (Say, 1824)

Ülkemizde patates böceği olarak bilinen *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae), en önemli patates zararlısı böcek türlerinden biridir. Colorado'da yaygın olarak bulunduğundan tüm dünyada Colorado potato beetle olarak tanınmaktadır. Thomas Nuttall tarafından 1811 yılında Amerika'da ilk örnekler toplanmıştır. 1819-1820 yılları arasında ise Iowa-Nebraska yakınlarında Rocky dağlarında (Şekil 2.1) Thomas Say tarafından *Solanum rostratum* bitkisi üzerinden

toplanmış ve bilimsel sınıflandırılması yapılmıştır (Casagrande 1985, Jacques 1988) (Şekil 2.2).

İlk bilimsel sınıflandırılması 1824 yılında Thomas Say tarafından yapılan patates böceği ilk olarak Chrysomela cinsine dahil edilmiştir (Say 1824). Morfolojik özelliklerine göre daha sonra *Doryphora* cinsine taşınmıştır (Suffrian 1858). Son olarak Stal tarafından (1865) yeniden tanımlanmış ve *Leptinotarsa* cinsine eklenmiştir (Alyokhin 2012).





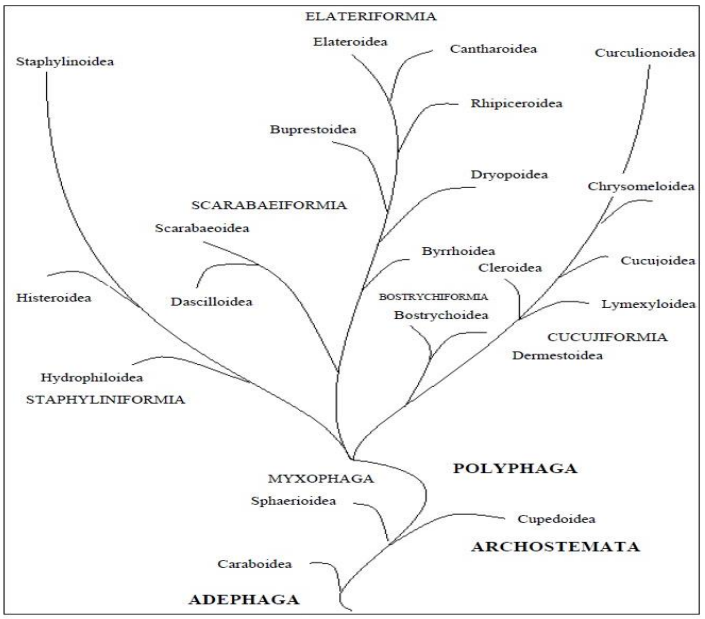
Şekil 2.1) Rocky dağları Şekil 2.2) *Solanum rostratum*

2.2.2 Coleoptera takımı özellikleri

Coleoptera takımı böcekler sınıfındaki en büyük takımdır. Yaklaşık olarak 390,000 tür, 4 alt takımdan (Archostemata, Myxophaga, Adephaga ve Polyphaga) oluşmaktadır (Şekil 2.3.) (Caterino vd., 2002; Gullan ve Cranston, 2010). Bu takımdaki böcekler 1 mm. den 15 cm arasında farklı boyutlarda bulunabilmektedir. Bu takımda bulunan böceklerin yaygın ortak noktaları sırtlarındaki sert, kalın ve kanat şeklinde bulunan

örtüleridir (Kın, Elytra). Bu takımdaki böcekleri diğer böceklerden ayıran en önemli özellik ön kanatlarının sertleşerek elitra'ya dönüşmesidir. Elitra abdomenin üst yüzeyini ve ince olan zarımsı alt kanadı korumaktadır ve uçuş sırasında alt kanatlardan ayrılıp açılarak uçma özelliğine yardımcı olmaktadır. Ağızları, çene yapıları ve antenleri genelde hepsinde bulunan ama türe göre farklılık gösteren özelliklerdir. Genellikle Anten segmentleri 11'i geçmez. Bacaklar işlevsel olarak kazıcı bacak, yüzücü bacak ve sıçrayıcı bacak olarak farklılaşmıştır. Takım üyeleri Holometabol gelişim göstermektedir (Gullan ve Cranston, 2010). Hem larva hem de erginler güçlü çeneye sahiptirler.

Kın kanatlılar geniş bir yaşama alanına sahiptirler. Hemen hemen toprağın bulunduğu her yerde yaşamaktadırlar ve suda yaşayan türleri de mevcuttur. Mağaralarda yaşayan gözsüz kın kanatlılar, buzullarda yaşayan kın kanatlılar, kutuplarda adalarda yaşayan ve çöllerde yaşayan kın kanatlılar da oldukça yaygın gözlenen türlerdendir. Açık denizlerde ve sürekli karla kaplı yerlerde bulunan kın kanatlıların en büyük yaşam alanı toprak üstüdür. Takımın birçok türü otçuldur (herbivor); kök, gövde, yaprak ve diğer bitki organları ile beslenebilirler.



Şekil 2.3 Coleoptera takımına ait filogeni diyagramı (Gillot, 1982)

2.2.3 Patates Böceğinin (*Leptinotarsa decemlineta*) tanımı ve yaşam döngüsü

Ergin bireyler 10-12 mm boyunda, sarı kırmızımsı renkli ve sırtları kuvvetli bombelidir. Sertleşmiş olan üst kanatlarının üzerinde 10 tane uzunlamasına siyah renkli belirleyici özellikte bantlar vardır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 Patates Böceği (*Leptinotarsa decemlineata*, Say 1894)

Ergin bireyler kış aylarını toprağın 5-30 cm derinliğinde geçirir. Baharın gelmesi ile toprak sıcaklığı 13 ºC'yi aştığı zaman toprak üstüne çıkar ve bulundukları yerdeki patates bitkileri ile beslenmeye başlarlar. Patates bitkisini bulamadıkları zamanlarda besin aramak için başka sahalara uçma kabiliyetleri zayıf olmasına rağmen göç ederler. Ancak şiddetli rüzgarların varlığında uzun mesafelerde göç etmektedirler (Ferro vd. 1985; Voss ve Ferro, 1990). Bu göç şekli uzak populasyonlar arasında önemli gen akışının olabileceğinin göstergesidir.

Patates böceğinin yumurtaları sarı koyu renkli ve oval şeklinde bulunmaktadır. Yumurtalar ortalama 1-2 mm uzunluğundadır. Dişiler genellikle yumurtaları dik kümeler halinde yaprakların alt yüzeylerine, ürettikleri özel bir salgı ile bırakırlar. Bir dişi bir yılda ortalama 300-5000 arasında yumurta bırakmaktadır (Şekil 2.5)



Şekil 2.5 Patates böceği yumurtaları

Larvalar ilk olarak koyu kırmızı renkte ve 1,5 mm uzunluğundadır. Olgun larva kambur duruşludur. Baş kısımları koyu kahverengi, vücudu portakal sarısı rengindedir. Baş ve bacak kısımları siyah renklidir. Sırt kısımlarının her iki tarafında uzanan iki sıra siyah noktalar vardır (Şekil 2.6).



Şekil 2.6 Patates böceği larvaları

Pupa sarımsı renkli ve 1 cm uzunuğundadır. Pupa kılıfı oluşturmazlar. Pupa evresi toprakta gerçekleşmektedir (Şekil 2.7)



Şekil 2.7 Patates böceği pupası

(© Jyrki Tomminen (https://creativecommons.org/licenses/by/2.0/legalcode)

Ergin 10-12 mm boyunda, sarı kırmızımsı renkli, sırtı kuvvetli bombelidir (Şekil 2.8). Genellikle erkek ergin bireyler daha küçüktür. Sertleşmiş olan üst kanatlarının üzerinde 10 tane uzunlamasına siyah renkli belirleyici özellikte bantlar vardır. Baş, toraks ve bacaklar turuncu renklidir.



Şekil 2.8 Patates böceği ergin bireyi

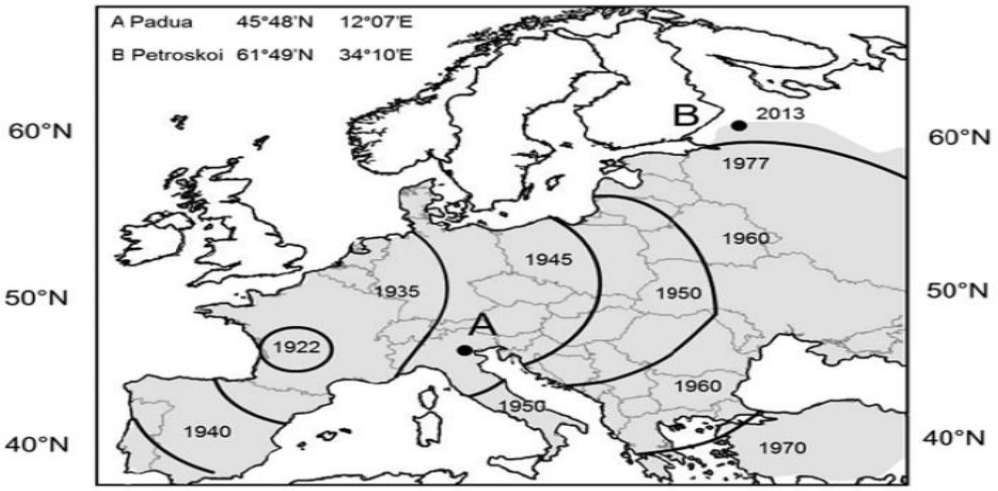
2.2.4 Patates Böceği tarihçesi ve yayılışı

Patates böceğinin kökeni Meksika'nın dağlık arazileri patates böceğinin orjinini oluşturmaktadır. Patatesin 1860'larda Amerika'nın Midwest bölgesine geçişi ile 1880'lerde patates böceği Amerika'nın doğu kıyılarına ulaşmıştır (Grapputo vd. 2005). Günümüzde patates böceği tüm Avrupa'da, Asya'nın büyük bir bölümünde, İran'da ve Çin'de görülmektedir. Kuzey Amerika'da yaklaşık olarak 16 milyon km^2 bir alanda görülmektedir ve Avrupa ve Asya da ise yayılmaya devam etmektedir (Weber 2003) (Şekil 2.9).



Şekil 2.9 Patates böceğinin Dünya'daki dağılımı (http://eol.org, 2012)

Avrupa'da ki ilk popülasyonlar 1875 yılında İngiltere'de ortaya çıkmıştır. 1877 'de ise patates böceği Almanya üzerinden tüm Avrupa'ya yayılmaya başlamıştır. Bir diğer yayılma ise Polonya'da görülmüştür. Tüm bu populasyonlar ilk zamanlar başarı ile yok edilmiştir (Feytaud 1950, Wegorek 1955, Jacques 1988). Karantina önlemleri ve yok etme kampanyaları ile 1922 yılına kadar patates zararlısı olan bu böceğin Avrupa'da yayılmasının önüne büyük ölçüde geçilmiştir ama bir grup populasyon Fransa'nın batısında ortaya çıkmış ve yayılmaya başlamıştır. Tüm bunlardan sonra patates böceği tüm Avrupa'ya yayılmaya başlamıştır (Şekil 2.10).



Şekil 2.10 Patates böceğinin Avrupa'da ki yayılışı (Lehmann, 2014)

2. Dünya savaşı boyunca ve soğuk savaş sırasında patates böceğinin hızlı yayılımı sebebinden dolayı biyolojik silah olarak kullanıldığı düşünülmüştür. Doğu Alman hükümeti, Amerika birleşik devletlerinin böcekleri patates tarlalarına bıraktığı konusu üzerine saldırgan bir propaganda başlatmıştır. Aynı zamanlarda benzer söylentiler Sovyet birliklerinde de konuşulmaktaydı. Savaştan önce Fransa, Almanya ve İngiltere de patates böceğinin biyolojik silah olarak kullanılması ile ilgili bazı araştırmalar yapılmıştır. Ancak patates böceğinin düşman bitkilerini sabote etmek amacıyla kullanıldığına dair hiçbir kanıt bulunmamaktadır. Tam tersine, yayılımın zamanlaması ve coğrafyası doğal bir yayılım olduğunu göstermektedir.

Uzun mesafeleri uçma kabiliyetine sahip olmasına rağmen böceğin hızlı bir şekilde yayılmasında insan hareketleri önemli olmuştur. Patates yaygın ve her yerde bulunan bir bitkidir, hasat sonrası genellikle farklı alanlara taşınmaktadır. Patatesin taşınması sırasında küçük boyutlu olan böcekler kolaylıkla bir yerden başka bir yere taşınmaktadır (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1 *Leptinotarsa decemlineata*'nın küresel dağılımı (EPPO, 2016) [(P) mevcut, (W) yaygın, (L) lokal olarak bulunmakta, (O) zaman zaman mevcut, (D) geçmişte rapor edilmiş, artık mevcut değil, (E) yok edilmiş, (I) yok]

Ülke	Dağılım	Ülke	Dağılım
ASYA	P	**AVRUPA**	W
Çin	L	Estonya	W
İran	P	Finlandiya	L
Japonya	I	Fransa	W
Kazakistan	L	Gürcistan	P
Kırgızistan	P	Almanya	W
Tacikistan	L	Yunanistan	L
Türkmenistan	P	Macaristan	W
Özbekistan	L	İrlanda	I
AFRİKA	Yok	İtalya	P
KUZEY AMERİKA	W	Letonya	P
Kanada	L	Litvanya	W
USA	W	Lüksemburg	L

Çizelge 2.1 *Leptinotarsa decemlineata*'nın küresel dağılımı (EPPO, 2016) [(P) mevcut, (W) yaygın, (L) lokal olarak bulunmakta, (O) zaman zaman mevcut, (D) geçmişte rapor edilmiş, artık mevcut değil, (E) yok edilmiş, (I) yok] (devam)

ORTA AMERİKA & KARAYİP	P	Makedonya	P
Cuba	P	Moldova	L
Guatemala	P	Norveç	I
Meksika	W	Polonya	W
GÜNEY AMERİKA	Yok	Portekiz	P
AVRUPA	P	Romanya	W
Ülke	**Dağılım**	**Ülke**	**Dağılım**
Arnavutluk	P	Rusya	L
Andora	P	Sırbistan	W
Ermenistan	P	Slovakya	P
Avusturya	W	Slovenya	W
Azerbayca	P	İspanya	P
Belarus	W	İsveç	E
Belçika	W	İsviçre	P
Bosna Hersek	P	Türkiye	L
Bulgaristan	W	Ukrayna	W
Hırvatistan	W	Birleşik Krallık	E
Çek Cumhuriyeti	W	**OKYANUSYA**	Yok
Danimarka	E		

2.3 Patates Böceğinin Zarar Şekli ve Mücadele yöntemleri

Patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata*) eğer kontrol altına alınmazsa önemli miktarda ürün kayıplarına neden olmaktadır. Hem ergin bireyler hem de larvalar patates yaprakları üzerinden beslenmekte ve verdikleri zarar ile patates ürünlerinde azalmaya neden olmaktadır (Ferro vd. 1985). Patates böceğinin ergin ve larvaları patates ve patlıcan yapraklarını, yaprakta bir delik açıp bu deliği genişleterek beslenmektedir (Şekil 2.11).

Virüs ve bakteri hastalıklarının (patates kahverengi çürüklüğü, iğ yumru ve patates halkalı çürüklüğü vb.) yayılmasında da etkileri bilinmektedir(Anonymous, 2011).

Patates böceği aynı zamanda bakteriyel halka çürüklüğü hastalığının vektörüdür ve iklim koşulları uygun olduğu takdirde patateslerde yüksek oranda ürün kaybına neden olabilmektedir (Christie vd. 1991).



Şekil 2.11 Patates bitkisine zarar veren larvalar.

Patates böceği ile mücadele yapılırken öncelikli olarak kültürel önlemlere dikkat edilmelidir. Sonbahar aylarında patates hasadının tamamıyla yapılmasına özen gösterilmeli ve tarlada yumru bırakılmamalıdır. İlkbaharda bir önceki yıl dikili olan alanlar dolaşılmalı ve kalan patates bitkileri, üzerindeki böcekler ile yok edilmesine özen gösterilmelidir. Bu böcek ile mücadele edilirken çeşitli organizmalar kulanılarak biyolojik yöntemlere de başvurulabilmektedir. Kimyasal yöntemlerle karşılaştırdığımız zaman biyolojik yöntemler yetersiz kalmaktadır.

Patates böceği ile mücadele yapılırken en çok kullanılan yöntem kimyasal mücadeledir. Kimyasallar ile yeşil aksam ve tohumluk ilaçlaması şeklinde mücadelesi yapılır. Patates bitkisi böcek yoğunluğuna, bitkinin dönemine ve gelişimine bağlı olarak yaklaşık olarak %40 oranında meydana gelecek ürün kaybını tolere edebilmektedir. İkinci döle karşı ilaçlama yapılmak istenirse yumurta açılımının tamamlanması beklenmelidir. Patates böceğinin pupa ve yumurta dönemi hariç diğer gelişim dönemleri ve ergin dönemlerinde bitki yapraklarıyla beslenerek bitki gelişiminin yavaşlamasına ve üretimin

azalmasına sebep olmaktadır. Bu nedenle kimyasal mücadelenin zorunlu olduğu kaydedilmektedir (Hare, 1980; Hare, 1990).

Kimyasal mücadele de çeşitli kimyasal ilaçlar kullanılarak zararlı olan türün yok edilmesini hedefleyen pestisit grubu ilaçlardan insektisitler kısa sürede hızlı etki göstermeleri, düşük maliyetli ve kullanımının kolay olması gibi nedenlerden dolayı çok fazla kullanılmaktadır.

2.4 Böceklerde Yaygın Olarak Kullanılan İnsektisidler

2.4.1 Organoklorin

Sentetik olarak üretilmiş ilk insektisit grubudur. Bu insektisitlerin birinci derecede etki yerlerinin böceklerin sinir sistemi olduğuna dair yeterli bilgiler bulunmaktadır (Yavuz ve Şanlı, 1999). Etki yerleri sinir hücre membranlarındaki Na+/K+ kanallarıdır. Memelilerde karaciğer ve yağ dokularında biriktiği için çevre ve besin kirliliğine neden olmaktadır. Çevre koşullarına karşı dayanıklı olmaları ve lipitlerde yüksek derecelerde çözünme özelliklerinden dolayı uygulama bölgelerinde uzun süre kalırlar. Bu grubun bilinen başlıca üyelerine örnek olarak DDT dieldrin, aldrin, lindan ve endosülfan gibi insektisitler verilebilir (Şanlı, 1998). İlk defa 1874'de kimyager Othmar Ziedler tarafından sentezlenen DDT (dikloro difenil trikloroethan) böcek ilacı olarak 1939 yılına kadar kullanılmamıştır.1970'li yıllara kadar yaygın bir şekilde kullanılan DDT zararlı etkilerinden dolayı günümüzde birçok ülkede kullanılması yasaklanmıştır.

2.4.2 Piretroidler

Piretroidler; kimyasal olarak, yüzyıllardır insektisidal aktivitesi bilinen Chrysanthemum'un (Kasımpatı) çiçeklerinden elde edilen doğal piretrumda bulunan piretrinlere benzeyen insektisitlerdir (Anonymous 2005). Bu insektisitler Tip-1 (permetrin, tetrametrin, piretrinler vb.) ve Tip-2 (sipermetrin, deltametrin vb.) olmak üzere iki gruba ayrılırlar (Çakır, 2004).

Tip I piretroidler tipik olarak sinirsel boşalımlarda kendini gösteren ve yere serici etkinliği ısıyla ters ilişkili, olan sinirsel eksitasyonlara yol açarlar (Çakır, 2004). Tip II piretroidler ise öldürücü ve sinirsel iletimi engelleyici yönde etki yaparlar (Şanlı, 1998). Bu grup insektisitlerin üretimi pahalı olmasına rağmen organofosfatlı ve karbamatlı insektisitlere oranla düşük konsantrasyonlarda uygulandıkları için avantajlıdırlar. Kalıcılığı düşük ve toksisiteleri yüksektir bununla birlikte memeliler üzerinde toksik etkisi düşüktür (Elliot vd. 1978). Piretroidler voltaj duyarlı sodyum kanalı üzerine toksik etki gösterirler (Rinkevich vd. 2006; Taşkın vd. 2011). Piretroidlerin en önemli avantajı böceklere karşı oldukça toksik olması ve memelilerin hızlı metabolizmalarından dolayı düşük toksisiteye sahip olmasıdır (Kakko, 2004).

2.4.3 Karbamatlar

Bu gruptaki insektisitler fenol ve fenol türevlerinden elde edilirler. Merkezi sinir sisteminde bulunan kolinesteraz enzimini inhibe ederek etki ederler. Birçok karbamat bileşiği oda sıcaklığında buharlaşıp toprak ve su yüzeyinden havaya dağılabilir. Bu gruptaki insektisitler direk AChE inhibitörleridir. Organik fosforlu insektisitlerin tersine inhibisyonları geri dönüşümlüdür. Bundan dolayı toksik etki şiddetleri daha düşüktür. Organofosfat grubundan ayıran özelliklerinden biride kolin esteraz enziminin anyonik yanı ile kompleks oluşturabilen kuaterner veya bazik nitelikli bir azot grubuna sahip olmasıdır. Karbamat grubu insektisidlere karbaryl ve karbafuran örnek verilebilir (Yavuz ve Şanlı, 1999).

2.4.4 Organofosfatlar

Dünyada pestisit tüketiminin hemen hemen yarıya yakınını bu grup insektisitler oluşturmaktadır (Ünal ve Gürkan, 2001). Sinir sistemindeki asetilkolinesteraz enziminin doğal substratı konumundaki asetil kolini taklit ederek bu enzime geri dönüşümsüz şekilde bağlanarak etki gösterirler. Bunun sonucu olarak organizmada sinyal iletimi sürekli devam eder ve motor kasların sürekli çalışmasına bağlı olarak organizmanın ölümüne yo açar (Ünal ve Gürkan, 2001; Lockridge vd. 1997).

Organofosfatlar fosfat grubuna eklenmiş farklı alkollerden oluşan esterler olarak da bilinir ve alifatikler, feniller ve heterosiklikler olarak üç grupta toplanırlar (Matsumura, 1985; Pedigo, 1996). Bu grubun temsilcileri arasında malathion, parathion, diklorvos, diazinon, malaoxon ve paraokzon yer almaktadır (Şanlı, 1998; Öncüer, 2004). Bu insektisit gruplarından organofosfatlar, diğer insektisit gruplarına oranla çok daha yaygın olarak kullanılmaktadır (Delen vd. 2005). Bu gruptaki insektisitlerin birincil hedefleri sinir sisteminde asetilkolinesteraz enzimidir.

2.5 Moleküler Belirteçler

2.5.1 Mitokondriyal DNA (mtDNA)

Mitokondrilerin ifade olabilen, çekirdekten bağımsız olarak kendilerine özgü DNA'ları bulunmaktadır. Çekirdek DNA'sından farklı olarak mitokondriyal DNA (mtDNA)'nın hücrede fazla sayıda bulunması önemli bir özelliktir ve bu özelliğinden dolayı moleküler genetik çalışmalarında yeterli miktarda mtDNA izole edilebilmektedir (Rokas vd. 2003). Maternal kalıtım (genetik materyalin anneden yavrulara aktarılması) gösteren mtDNA, çift zincirli, halkasal yapıda aerobik solunumda görev alan genleri içermektedir ve toplam genetik materyalin %0.3'ünü oluşturmaktadır (Rokas vd. 2003). MtDNA'nın genom büyüklüğü yaklaşık olarak 14-17 kb arasındadır. mtDNA, boyutu küçük ve elde edilmesi kolay olması nedeniyle birçok moleküler yöntemin (DNA dizileme, PZR, RFLP, SNP, v.s.) kullanımına elverişlidir (Smith 1991). mtDNA genomu birçok canlı grubu arasında önemli benzerlikler sergilemektedir ve nüklear DNA'da olduğu gibi intron bölgeleri içermediklerinden dolayı farklı türlerin karşılaştırılması mümkündür (Brown 1985). mtDNA'daki yüksek mutasyon oranının nedeninin metabolik solunum ürünlerinin birikimi ve nükleer DNA'ya oranla tamir mekanizmasının çok iyi olmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Wilson vd. 1985).

mtDNA'da transisyon mutasyonlar fazladır (Brown vd. 1982). Mitokondriyal genlerin daha hızlı evrimi, özellikle sinonim bölgelerde nükleer genlerden daha fazla nükleotid

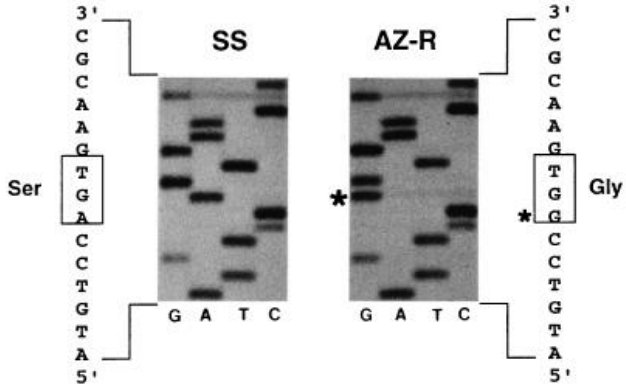
değişimi gösterdikleri anlamına gelmektedir (Goto ve Kimura 2001, Overton ve Rhoads 2004). Mitokondriyal ve nükleer genler arasındaki filogenetik yaklaşımları etkileyen bir diğer temel farklılık ise mtDNA'nın daha fazla nükleotid kompozisyonu eğiliminde olmasıdır ki özellikle böceklerdeki A+T eğilimi çok yüksek seviyede fazladır (Simon vd. 1994). mtDNA'nın nükleer genlere göre tercih edilmesinin diğer bir sebebi ise, bazı istisnai durumlar hariç mtDNA maternal kalıtıldığından dolayı rekombinasyonun olmamasıdır (Birky, 2001).

2.5.2 Asetilkolinesteraz geni

Ace geni tarafından kodlanan Asetilkolinesteraz enzimi asetil kolin seviyesini düzenler ve nörotransmistter asetilkolini hidrolizler. Asetilkolin (ACh) sinir impulslarının sinapslardan geçişine yardımcı olan nörotransmitter bir maddedir. ACh, Asetilkolinesteraz enzimi tarafından kolin ve asetata dönüştürülür (Chen vd. 2001).

Organofosfat grubu insektisitler asetilkolin analoğu olarak çalışırlar ve serin aminoasidini fosforlayarak veya karbamatlayarak enzimin geri dönüşümsüz ya da çok düşük seviyede geri dönüşümlü olarak inhibe olmasına sebep olurlar. Asetilkolin hidroliz olmasına rağmen, insektisitler, enzim-substrat kompleksi olarak sabit kalırlar. Bu durumda asetilkolin sinapslarda birikerek asetilkolin reseptörlerinin kalıcı olarak açık kalmasına sebep olur ve organizmanın ölümü gerçekleşir (Chen vd. 2001).

AChE2'de farklı böcek türlerinde insektisitlere bağlı olarak direnç gelişimi farklı böcek türlerinde çalışılmıştır (Mutero vd. 1994; Weill vd. 2003, 2004; Menozzi vd. 2004; Hawkes vd. 2005; Kim vd. 2012; Feng vd. 2015; Luo vd., 2015; Wu vd. 2015). Farklı gen ürünlerinin ortaya çıkması ve farklı mutasyonların görülmesinden dolayı böcek türlerinde insektisitlere karşı oluşan direnç farklılık göstermektedir. Patates böceğinde (*Leptinotarsa decemlineata*) AChE2 gen bölgesinde organofosfat direnci ile ilgili olarak direnç kazandıran mutasyon S291G mutasyonudur. Bu mutasyonda Serin'den Glisine amino asit değişimi meydana gelmektedir (Şekil 2.12).



Şekil 2.12 Patates böceğinde, *AChE2* gen bölgesinde Adenin bazının (A) Guanin'e (G) değişimi ile meydana gelen mutasyon (Zhu ve Clark, 1997)

2.6 Literatür Özeti

Büyük ekonomik kayıplara sebep olan patates böceği populasyonlarının genetik yapısını anlamaya yönelik yapılan çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Türkiye'de patates böceği populasyonlarının genetik yapısı, göç yolu ve kolonizasyonu ile ilgili genetik temellere dayanan bir çalışma daha önce yapılmamıştır.

Yapılan bazı sitogenetik çalışmalar patates böceğinde 3 kromozomal ırkın varlığını göstermiştir ancak bu çalışmalar populasyonların yapısını çözmek için yeterli olmamıştır (Hsiao ve Hsiao, 1983). Yapılan bir diğer çalışmada jel elektroforezi kullanılarak 11 Amerika ve 1 Avrupa populasyonunda, 11 genetik lokusdaki (ACPH, EST-1, EST-2, FUM, G-6PDH, GOT, α-GPDH, IDH, MDH, ME, SOD) enzim ürünleri bakımından varyasyonu incelenmişitr. (Jacobson, 1983). Bu çalışma sonucunda Amerika ve Avrupa populasyonlarının genetik olarak benzer olduğu, fakat Meksika populasyonlarında heterozigotluğun diğer populasyonlara göre düşük olduğu ve özellikle SOD lokusunun Meksika populasyonlarını ayırmada tanımlayıcı olduğunu bulunmuştur. Azeredo-Espin vd. (1991), RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk polimorfizmi) metodunu kullanarak Kuzey Amerika'nın farklı eyaletlerindeki 4 lokal populasyonlarda mtDNA'da 3 kesim enzimi (*EcoR*I, *Hpa*I, *Pst*I) ile kesim profillerini değerlendirmiş ve patates böceği populasyonları içindeki varyasyonun, populasyonlarının orjinininin ve türün Kuzey Amerika'ya yayılmasının belirlenmesinde bu yöntemin kullanılışlı olduğunu belirtmiştir. Azeredo-Espin vd. (1996) aynı kesim

enzimleri ve RFLP yöntemi ile farklı bir çalışma yapmıştır, 10 farklı populasyonda genetik varyasyonu, populasyonlar içindeki ve arasındaki polimorfizmi ve populasyon yapısını belirlemede bu yöntemi kullanmıştır. Analizler sonucunda Texas populasyonlarının Meksika'dan orijin alarak kolonize olduğunu göstermiştir.

Grapputo vd. (2005) mitokondriyal DNA (mtDNA) gen bölgesi dizisini ve AFLP (Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi) belirtecini kullanarak Kuzey Amerika (5 populasyon) ve Avrupa'daki (8 populasyon) populasyonların genetik yapısını ve genetik çeşitliliğini incelemiştir. Orta Amerika'daki populasyonlarda yüksek genetik çeşitlilik görülürken, Kuzey Amerika populasyonlarında yüksek düzeyde mitokondriyal ve nükleer değişkenlik bulunmuştur. Avrupa populasyonlarında H1 haplotipi fikse olmuştur. Avrupa populasyonlarının buradan orjin aldığı belirtilmiştir. AFLP sonuçlarına göre oluşturulan neighbour-joining ağacında ise her iki kıta populasyonları 2 grup şeklinde ayrılmıştır. Avrupa populasyonları tek bir kümede batı ve doğu populasyonları olarak 2 gruba ayrılmışır. Przybylska vd. (2014) mtDNA gen bölgesini (sitokrom oksidaz II alt ünitesi) kullanarak Polonya populasyonlarında genetik çeşitliliği araştırmıştır. Tüm populasyonlarda tek bir mitokondriyal haplotip olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Kuzey Amerika ve Avrupa'da patates böceğinin yayılışı sırasında orjini, genetik farklılaşmasının kapsamı ve gen akışı ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Azeredo-Espin vd. 1991, 1996; Grapputo vd. 2005; Grapputo, 2006).

3.MATERYAL VE YÖNTEM

Bu tez çalışması Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümü Böcek morfoloji laboratuarı ve Moleküler sistematik laboratuarı kullanılarak yürütülmüştür. Bu çalışmada kullanılan örnekler, 114Z945 numaralı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu projesi kapsamında toplanan İç Anadolu bölgesi örnekleridir.

3.1 Örneklerin Toplanması

Örnek toplamak için gidilen bölgelerde patates ekimlerinin ya ticari olarak yerleşim yerlerinden uzak büyük tarlalarda karayollarına yakın ya da yemelik olarak evlerin yakınlarında olduğu görülmüştür (Şekil 3.1, 3.2, 3.3)



Şekil 3.1 Karayolu kenarında ekim yapılan bir patates tarlası (Nevşehir-Niğde karayolu)



Şekil 3.2 Patates üretimi yapılan büyük ekim alanı



Şekil 3.3 Patates bitkisi üzerinde yeşil yaprakları yiyerek beslenen ergin bireyler

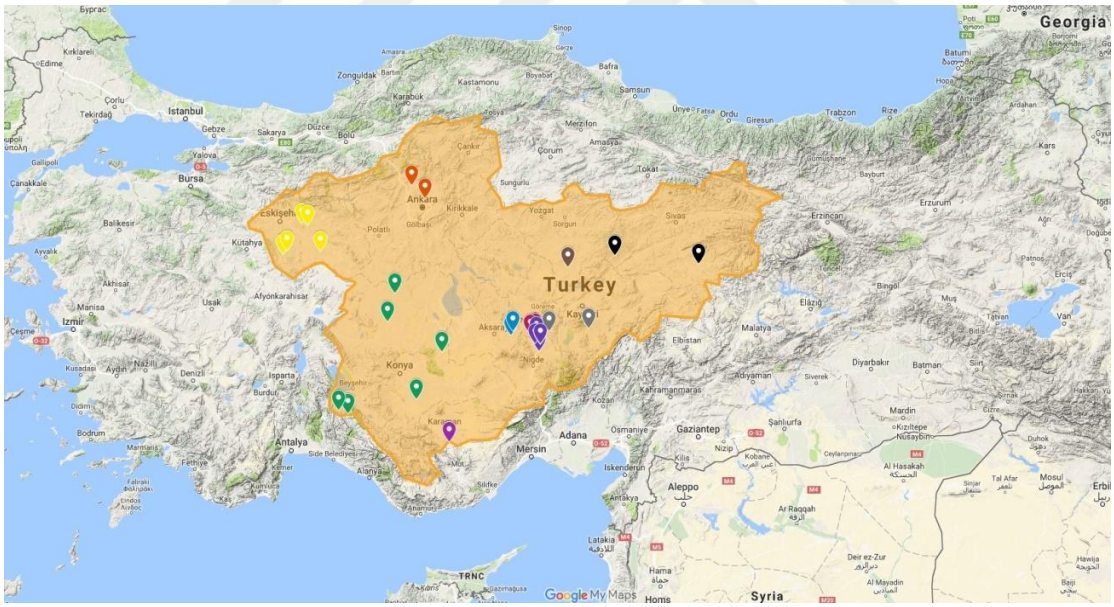
Bu alanlarda bazı tarlalarda ilaçlama yapılması nedeniyle böceğe rastlanmamıştır. Bazı tarlalarda ise ilaçlama zamanına bağlı olarak sadece ergin bireyler veya larvalar görülmüştür. Patates böceği erginleri ve larvaları aynı tarlanın farklı bölgelerinden alınarak %70 etil alkol içeren sintilasyon şişeleri veya falkon tüpler içerisine konularak bu koşullarda laboratuvara getirilmiştir (Şekil 3.4, 3.5). Bu tez çalışmasında toplamda 10 il 30 ilçe/köy'den toplanan örnekler kullanılmıştır (Şekil 3.6) (Çizelge 3.1).



Şekil 3. 4 Tarladan toplanan falkon tüpler içerisindeki patates böceği erginleri



Şekil 3. 5 Laboratuara falkon tüpleri içerisinde getirilen patates böceği ergin ve larvaları



Şekil 3.6 Örneklerin toplandığı illerin haritadaki dağılımı

Çizelge 3.1 Örneklerin toplandığı lokasyonlar

	Lokasyonlar İl/İlçe-Köy	**Koordinatlar**	***COI+COII* mtDNA bölgesi dizi**	***AChE2* gen bölgesi**
			Örnek sayısı (N)	**Örnek sayısı (N)**
Aksaray				
1	Gülağaç	38°22′10′′N 34°16′21′′E	2	10
2	Alanyurt Köyü	38°20′23′′N 34°18′53′′E	2	10
Ankara				
3	Kazan	40°10′39′′N 32°42′31′′E	2	10
4	Pursaklar	40°00′44′′N 32°50′00′′E	2	10
Eskişehir				
5	Alpu-Gökçeoğlu mh.	39°42′12′′N 30°53′10′′E	2	10
6	Alpu-Aktepe mh.	39°41′25′′N 30°57′33′′E	2	10
7	Çifteler-Körhasan	39°41′25′′N 30°57′33′′E	2	10
8	Seyitgazi	39°26′25′′N 30°40′55′′E	2	10
9	Seyitgazi-Sancar mh.	39°23′45′′N 30°38′45′′E	2	10

Çizelge 3.1 Örneklerin toplandığı lokasyonlar (devam)

Kayseri				
10	Yeşilhisar-Başköy mh.	38°22′58′′N 34°55′56′′E	2	10
11	İncesu-Beylik	38°36'33.2"N 35°15'31.6"E	2	10
Karaman				
12	Merkez-Lale mh.	36°59′33′′N 33°18′08′′E	2	10
Konya				
13	Karatay-Kızören köyü	38°08′04′′N 33°10′28′′E	2	10
14	Kadınhanı-Kolukısa mh.	38°31′32′′N 32°15′53′′E	2	10
15	Cihanbeyli-Zaferiye köyü	38°51′38′′N 32°23′48′′E	2	10
16	Çumra	37°34′13′′N 32°46′24′′E	2	10
17	Derebuçak-Kuyuyası köyü	37°23′00′′N 31°31′11′′E	2	10
18	Derebuçak	38°14′60′′N 31°67′68′′E	2	10
19	Derebuçak Çamlık mh.	37°21′36′′N 31°39′00′′E	2	10

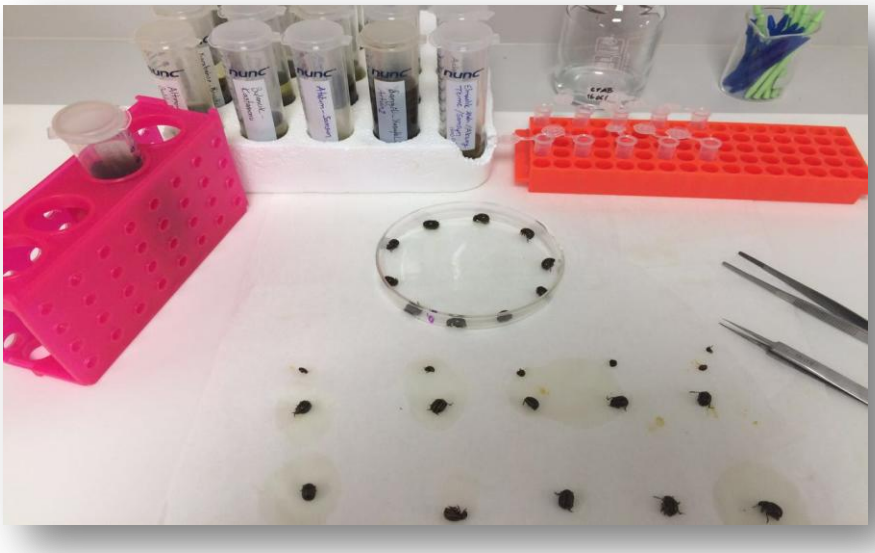
Çizelge 3.1 Örneklerin toplandığı lokasyonlar (devam)

Nevşehir				
20	Ürgüp	38°38′14′′N 34°55′22′′E	2	10
21	Derinkuyu	38°22′31′′N 34°44′03′′E	2	10
22	Derinkuyu-Yazıhöyük	38°20′39′′N 34°38′08′′E		
Niğde				
23	Merkez-Lale mh.	36°59′33′′N 33°18′08′′E	2	10
24	Merkez-Yeşilgölcük	38°13′11′′N 34°47′42′′E	2	10
25	M.Yeşilgölcük yukarı mh.	38°14'10.7"N 34°47'26.3"E	2	10
26	Tırhan-(Çiftlik)	38°14′41′′N 34°41′38′′E	2	10
27	Ağcaşar Köyü	38°19′09′′N 34°46′18′′E	2	10
Yozgat				
28	Boğazlıyan	39°08′31′′N 35°12′08′′E	2	10
Sivas				
29	Gemerek	39°10′12′′N 36°06′09′′E	2	10
30	Kangal	39°11′57′′N 37°23′48′′E	2	10

3.2 DNA İzolasyonu

Bu tez çalışmasında toplamda her lokasyondan 10 bireyin total DNA izolasyonu yapılmıştır. Yapılan analizlerde mtDNA gen bölgesi için 2, nükleer gen bölgesi için ise 10 birey ile çalışılmıştır. İzolasyon sonrası, her bir örneğin DNA'sı, nanodrop ile DNA miktarlarını belirlemek ve PZR işlemleri için kullanmak üzere TE (Tris-EDTA) içinde çözülerek -20^{o}C'de saklanmıştır. Çalışmanın devamında örnekler uzun süreli muhafazası için 80^{o}C'de saklanmıştır.

DNA izolasyonu için yapılan ön deneyler de farklı yöntemler ve DNA izolasyon kiti kullanılmıştır. Bu deneyler sonucunda DNA miktar, kalite ve temizliği bakımından en iyi sonuç CTAB (Doyle ve Doyle, 1991) izolasyon protokolü ile örneklerin toraksı kullanılarak elde edilmiştir (Şekil 3.7). Bu çalışmada patates böceklerinin DNA'ları CTAB izolasyon protokolü kullanılarak yapılmıştır. Her bir lokasyondan öncelikli olarak ergin bireyler kullanılmıştır. Ergin bireylerin ilaçlama vb. nedenlerden dolayı bulunmadığı tarlalardan larvalar toplandığı için ergin bireylerin bulunmadığı lokasyonlarda larvalardan DNA izolasyonu aynı protokol kullanılarak yapılmıştır. DNA izolasyonu yapıldıktan sonra her bir örneğin DNA'sı nanodrop cihazı kullanılarak miktar tayini yapılmıştır.



Şekil 3.7 DNA izolasyonu yapmak için toraks'ları alınan örnekler

3.2.1 CTAB DNA izolasyon protokolü

- Ependorf tüpüne konulan böcek toraksı üzerine 300µl CTAB solüsyonu eklenir.
- Bir pestle ile olabildiğince ezilen toraks üzerine 300µl daha CTAB ve 50 µl βME eklenir ve hafifçe karıştırıldıktan sonra 65^{o}C de 1 saat inkübe edilir.
- İnkübasyon sonucu tüp üzerine 500µl kloroform:izoamil alkol (24:1) eklenip, yavaşça karıştırılır.
- 4^{o}C'de 13000rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra üstteki sıvı faz alınıp üzerine 500 µl soğuk izopropanol eklenir ve -80^{o}C de 30 dakika veya -20°C'de bir gece inkübe edilir.
- 4^{o}C'de 13000rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant atılıp pellet iki kere 70%'lik EtOH ile yıkanır.
- Steril kabinde 1 saat süre ile kurutulan çökeltiler daha sonra 50 µl TE (ph:8) tamponu içerisinde çözülür.

Çizelge 3.2 CTAB tamponu hazırlanışı

CTAB tamponun hazırlanışı (100 ml için)			
CTAB	**: 2 gr**		
Tris-HCl	**: 1 M**	**10 ml**	**pH: 8.0**
EDTA	**: 0.5 M**	**4 ml**	**pH: 8.0**
NaCl	**: 5 M**	**28 ml**	

Karışım su ile 100 ml'ye tamamlanır. CTAB'ın çözülmesi için gerekirse sıcaklık uygulanabilir.

Çizelge 3.3 TE tamponu hazırlanışı

TE Tamponu pH: 8.0 hazırlanışı	
Tris Base çözeltisi (1M)	**: 1 ml**
EDTA	**: 20 µl**

Karışım su ile 100 ml'ye tamamlanır.

3.2.2 DNA miktar tayini

Kualitatif olarak DNA miktarlarının tespiti %1'lik agaroz jel görüntüleri ile elde edilmişitr. Kuantitatif olarak DNA miktarları ölçümü spektrofotometrik olarak nanodrop ile 260 ve 280 nm'de ölçülerek tespit edilmiştir. 260/280nm oranı izole edilen DNA'nın ne kadar temiz olarak elde edildiğine dair bir bilgi vermektedir (Bu değerin 1.8-2.0 arasında olması beklenmektedir). Çizelge 3.4'de izole edilen 10 örneğin spektrofotometrik olarak nanodrop ile ölçülen DNA miktarları ve temizlik değerleri verilmiştir. Bu tez çalışması için izole edilen tüm örneklerin ng olarak DNA miktarları ve temizlik değerler tablodaki değer aralıkları içerisindedir.

Çizelge 3.4 Nanodrop ile ölçülen örneklerin DNA miktarları (ng) ve elde edilen DNA'ların temizlik değerleri

Örnek numarası	DNA miktarı(ng/ml)	A260	A280	260/280
1	101,36	2,027	1,039	1,95
2	102,33	2,047	1,057	1,94
3	105,99	2,12	1,113	1,91
4	106,84	2,137	1,139	1,88
5	134,20	2,684	1,464	1,83
6	137,59	2,752	1,524	1,81
7	144,94	2,899	1,537	1,89
8	158,93	3,179	1,634	1,95
9	207,21	4,144	2,123	1,95
10	216,83	4,337	2,383	1,82

3.3 *COI+COII* mtDNA Gen Bölgesinin PZR ile Çoğaltılması ve DNA Dizi Analizi

Örnek topladığımız İç Anadolu bölgesinde ki farklı lokasyonlarda ki populasyonların mtDNA gen bölgesine (*COI+COII* gen bölgesine) bağlı genetik karakterizasyonunu belirlemek için bu tez çalışmasında her populasyondan 2 birey ile çalışılmıştır. *COI+COII* gen bölgesinin çoğalıp çoğalmadığını kontrol etmek ve PZR optimizasyonu yapmak için öncelikli olarak az sayıda örnek kullanılarak PZR işlemi yapılmış ve elde edilen ürünlerden dizi analizi sonuçları elde edilmiştir. Bu örneklerin mtDNA *COI* gen bölgesinin 3' ucunun sonundan *COII* gen bölgesinin 5' ucunun sonuna kadar uzanan (*COI* gen, *tRNA-Leu* gen ve *COII* gen bölgelerini içeren) 577 bç'lik mtDNA bölgesi, S2792 (Brower, 1994)/C2-N-3389 (Simon vd. 1994) çoğaltılmıştır. Bu çalışma kısmında Çizelge 3.5'de verilen PZR koşulları ve *COI+COII* mtDNA gen bölgesine ait primerler (Çizelge 3.6) kullanılmıştır. PZR reaksiyonu bileşenlerinin miktarları Çizelge 3.7'de verilmektedir. Her lokasyondan alınan 2 bireyde diziler arasında bir fark olmadığı belirlenerek tüm lokasyonlarda *COI+COII* mtDNA gen bölgesi için 2 birey ile çalışmaya devam edilmiştir

Çizelge 3.5 *COI+COII* mtDNA gen bölgesine ait PZR koşulları

PZR Koşulları (Grapputo vd. 2005)	
Ön denatürasyon	94°C 2 dk
30 döngü	
Denatürasyon	94°C 30 sn
Bağlanma	45°C 30 sn
Uzama	72°C 1 dk
Son uzama	72 °C 5 dk

Çizelge 3.6 *COI+COII* mtDNA gen bölgesine ait primerler

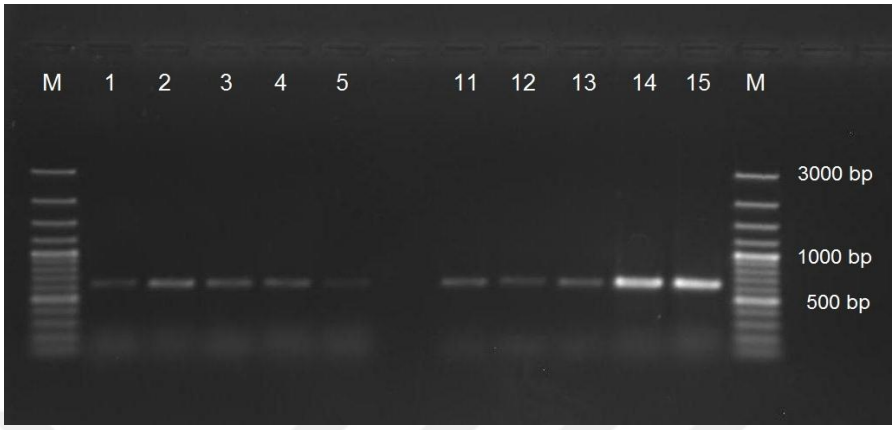
Bölge	**Primer**	**Primer (5'-3') dizisi**
COI+COII gen bölgesi	S2792	F:5'-ATACCTCGACGTTATTCAGA-3'
	C2-N-3389	R:5'-TCATAAGTTCARTATCATTG-3'

Çizelge 3.7 *COI+COII* mtDNA gen bölgesini çoğaltmak için kullanılan PZR reaksiyonu bileşenleri (Fermantas *Taq*DNA Polimeraz ile)

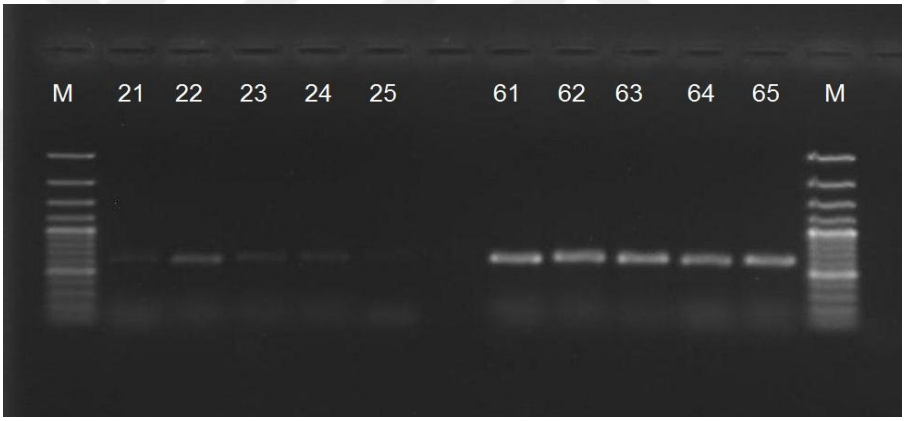
Reaksiyon bileşenleri	**Kullanılan miktar (µl)**
dH_2O	12,7
dNTP karışımı (dATP, dTTP, dCTP, dGTP)	4
Magnezyum klorür ($MgCl_2$)	2,5
Taq buffer	2,5
İleri primer (F)	1
Geri primer (R)	1
*Taq*DNA polimeraz	0,3
DNA	1
Toplam reaksiyon karışımı	25

Elde edilen PZR reaksiyon ürünleri %1'lik agaroz jelde sabit voltajda yürütülüp Etidium bromür (EtBr) ile boyandıktan sonra çalışmanın yapıldığı laboratuarda UV görüntüleme cihazı ile fotoğraflama işlemi yapılmıştır. Şekil 3.8, 3.9 ve 3.10'da 6 farklı lokasyondan alınan 5 örneğin *COI+COII* mtDNA gen bölgesinin PZR ile çoğaltılması

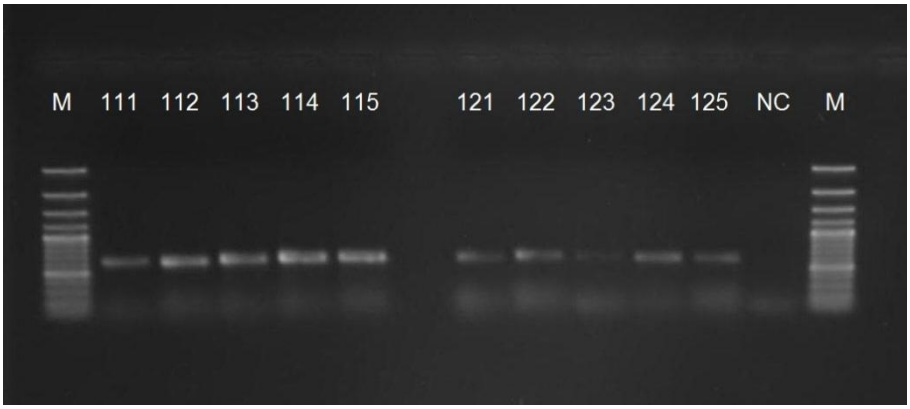
sonrası PZR ürünlerinin jel görüntüleri verilmiştir. Daha sonrasında PZR tüpü içerisinde ayrılan PZR ürünü dizi analizi yaptırmak için ilgili firmaya gönderilmiştir.



Şekil 3.8 Elektroforez jel görüntüleri



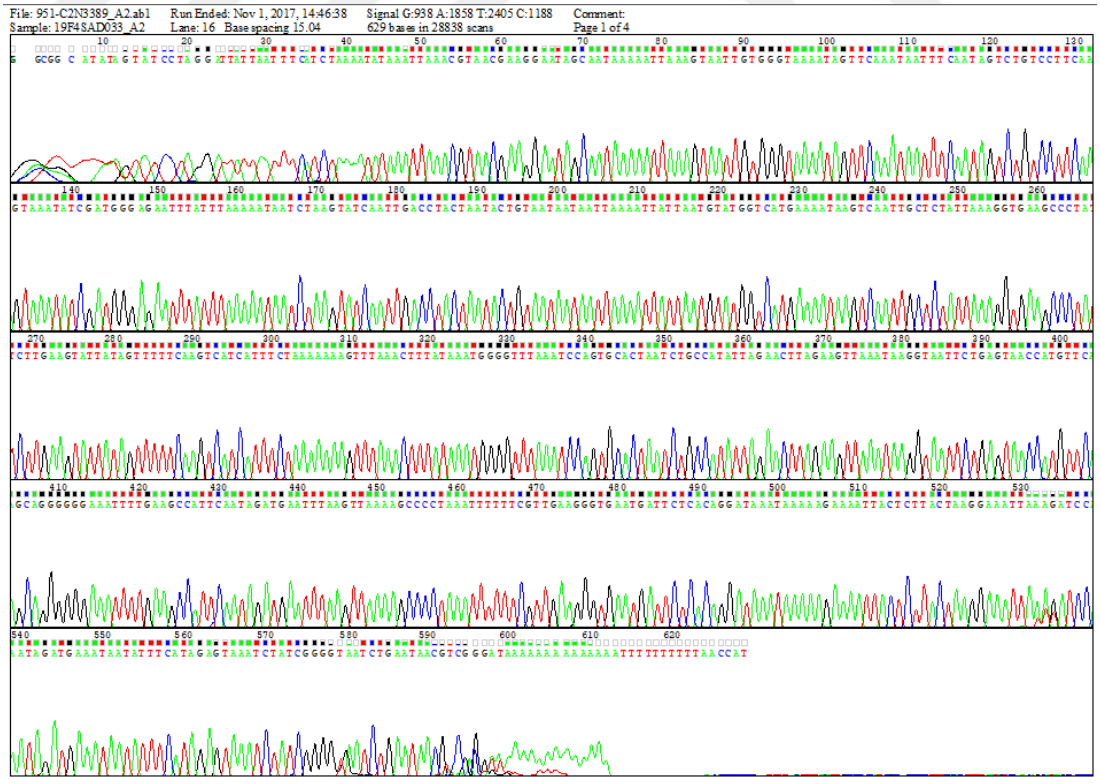
Şekil 3.9 Elektroforez jel görüntüleri



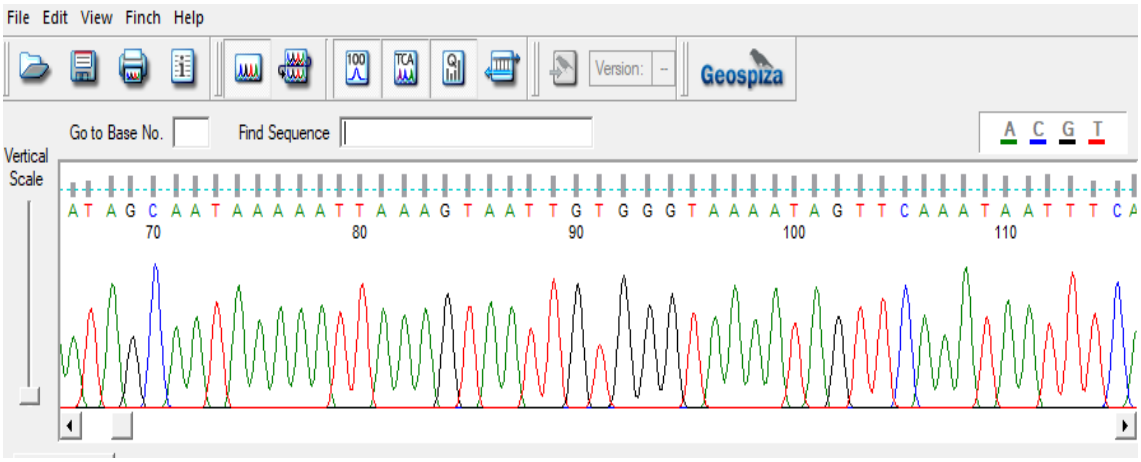
Şekil 3.10 Elektroforez jel görüntüleri

Dizi analizi sonuçları firmadan kromatogram dosyaları olarak alınmıştır (Şekil 3.11). Kromatogram dosyaları FinchTV version 1.4.0 programı ile kontrol edilip fasta formatına çevrilerek (Şekil 3.12) dizilerin hizalama işlemleri Bioedit 7.1.3 (Hall, 1999) programı ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.13). Diziler hizalandıktan sonra MEGA7 (Tamura vd. 2016) programında bulunan CLUSTALW kullanılarak sıraya (alignment) dizilmiştir. Populasyonlardaki haplotip çeşitliliği, sayısı, dağılımı ve haplotiplerdeki nükleotid çeşitliliği DNAsp (ver.5.0) (Librado ve Rozas 2009) programı kullanılarak yapılmıştır. Median-joing Network çizimi yapılabilmesi için DNAsp programı ile veri dosyası Roehl formatına dönüştürülmüştür.

Grapputo vd. (2005) yılında, Kuzey Amerika'dan 5 farklı lokasyondan (Colorado, Idaho, Kentucky, Minnesota ve New Brunswick) ve Avrupa'dan 8 farklı lokasyondan (İspanya, Fransa, İtalya, Polonya,Estonya, Rusya ve Finlandiya) olmak üzere 13 farklı bölgeden toplamış oldukları patates böceği örneklerinden, üzerinde çalıştığımız bölgeye ait mtDNA haplotipleri (GenBank erişim numaraları AJ884950-AJ884969) ile birleştirilerek karşılaştırmalı olarak analizler yapılmıştır.



Şekil 3.11 Firmadan gelen kromotogram dosyaları



Şekil 3.12 FinchTV programı ile kontrol edilip fasta formatına çevrilen kromatogram dosyası



Şekil 3.13 Bioedit programında hizalanmış *COI+COII* mtDNA bölgesi dizileri

3.4 *AChE2* Gen Bölgesinin PZR ile Çoğaltılması ve DNA Dizi Analizi

Asetilkolinesteraz 2-*AChE2* gen bölgesinin polimorfik olarak belirtilen 1037 bç'lik büyük parçasının baz dizilimleri, bu bölgeye özgü primerler (Çizelge 3.8) ve PZR koşulları (Piiroinen vd. 2013) (Çizelge 3.9) kullanılarak çoğaltılmıştır.

Çizelge 3.8 *AChE2* gen bölgesine ait primerler

Bölge	**Primer**	**Primer dizisi**
***AChE2* geni (1037 bç'lik bölge)**	AChE2 F	5′- ACTCAACCCGGTGTTTCA-3′
	AChE2 R	5′ACTGCTCTCATACAGTCCATCA-3′

Çizelge 3.9 *AChE2* gen bölgesine ait PZR koşulları

PZR koşulları (**Piiroinen vd. 2013**)	
Ön denatürasyon	94°C 3 dk
10 döngü	
Denatürasyon	94°C 30 sn
Bağlanma	*60°C 1 dk
Uzama	72°C 30 sn
30 döngü	
Denatürasyon	94°C 30 sn
Bağlanma	50°C 1 dk
Uzama	72°C 30 sn
Son uzama	72°C 5 dk

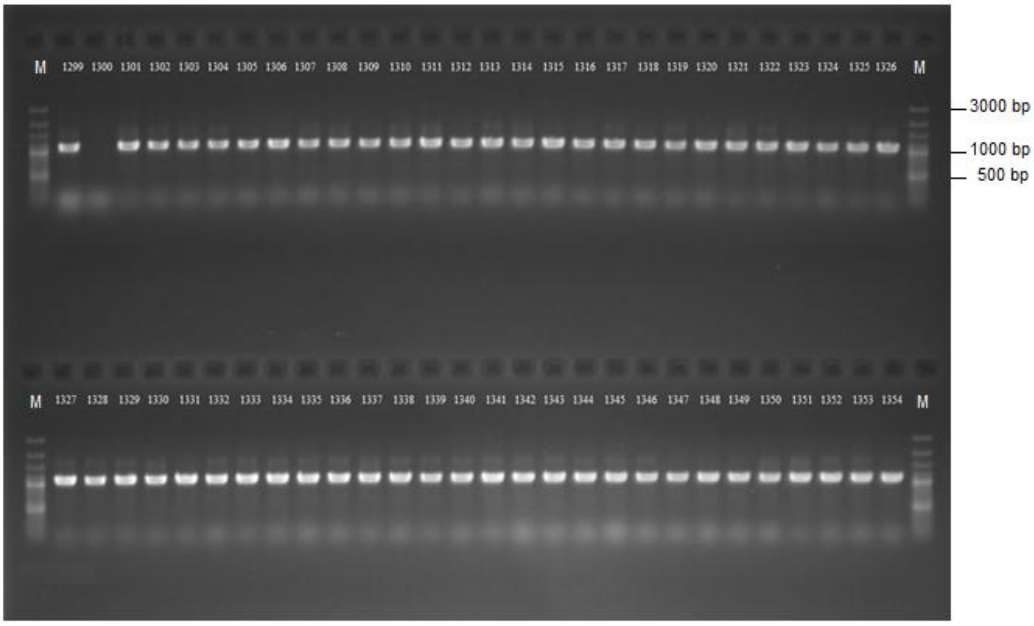
*İlk 10 döngüde T_a 1°C düşürülür

Thermo firmasının Thermo Dream Taq Green PZR Master (2X) olarak bilinen PZR bileşenlerinin karışım halinde bulunduğu ürünü *AChE2* gen bölgesini çoğaltmak için denenmiştir. Yapılan ön çalışmalar sonucunda bu ürün kullanılarak istenilen bölge çoğaltıldığı için tez çalışmasında AChE2 gen bölgesi çalışmaları sırasında Thermo

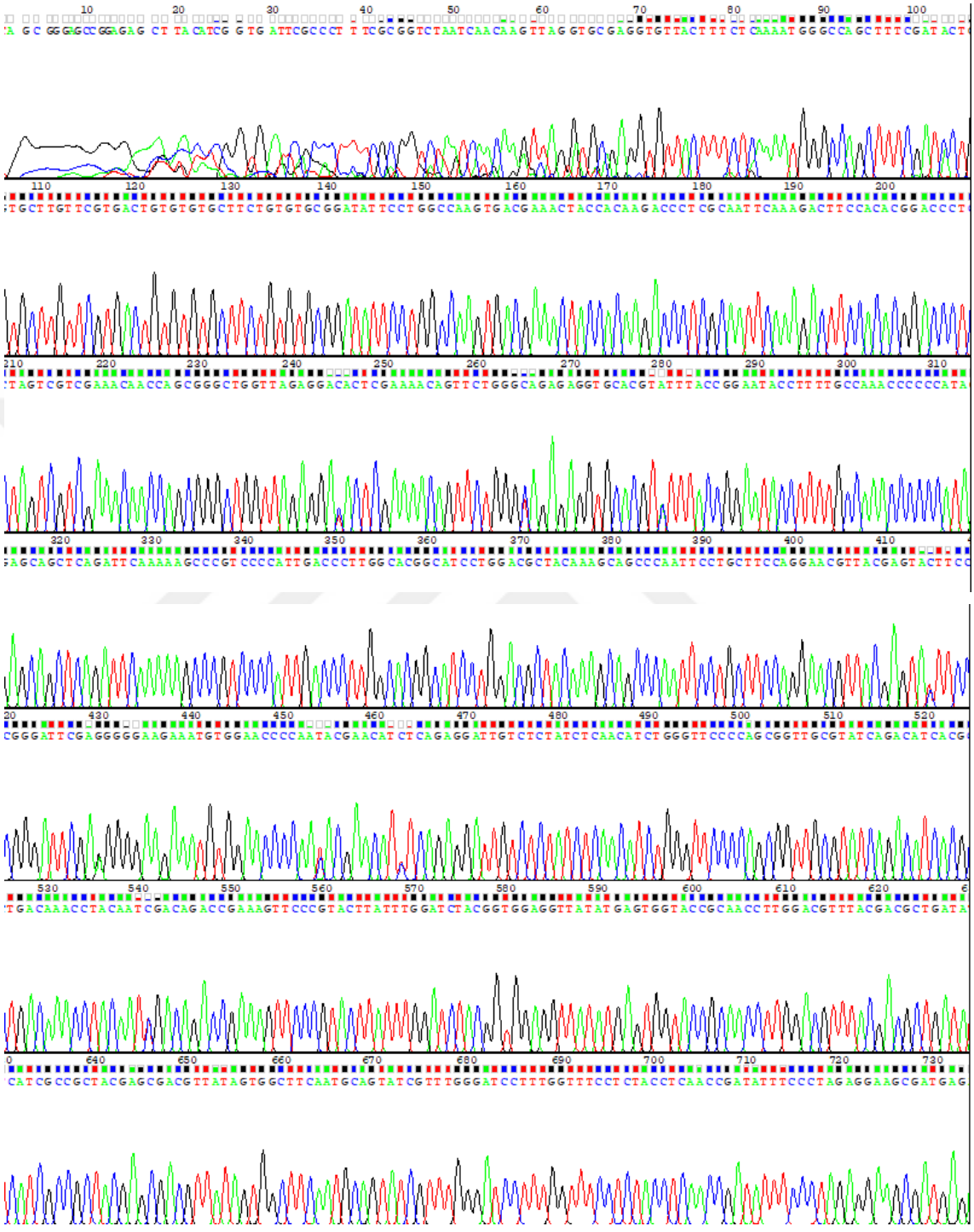
Dream Taq Green PZR Master (2X) kullanılmıştır (Çizelge 3.10). Elde edilen PZR ürünleri agaroz jelde (%1'lik) 70 V'da 45 dk yürütülüp EtBr ile boyandıktan sonra görüntülenerek fotoğraflama işlemi yapılmıştır (Şekil 3.14). Daha sonra mtDNA gen bölgesinde olduğu gibi dizi analizine gönderildikten sonra alınan kromatogram dosyaları (Şekil 3.15) kontrol edilerek fasta formatına çevrilmiştir (Şekil3.16) ve dizilerin hizalama işlemleri Bioedit 7.1.3 programı ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.17).

Çizelge 3.10 *AChE2* gen bölgesi için PZR reaksiyonu bileşenleri (Thermo Dream Taq Green PZR master mix ile)

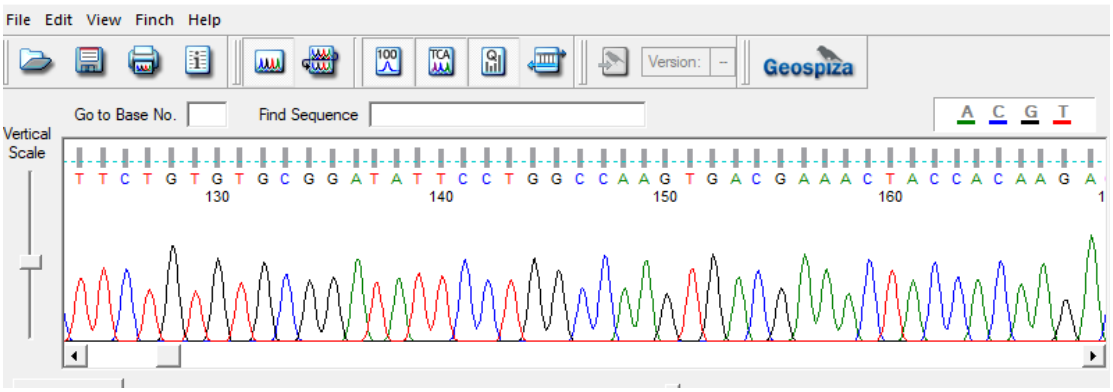
Reaksiyon bileşenleri	**Kullanılan miktar (µl)**
Dream Taq green PZR master mix	12,5
İleri primer (F)	1
Geri primer (R)	1
Su (H_2O)	9,5
DNA	1
Toplam reaksiyon karışımı	**25**



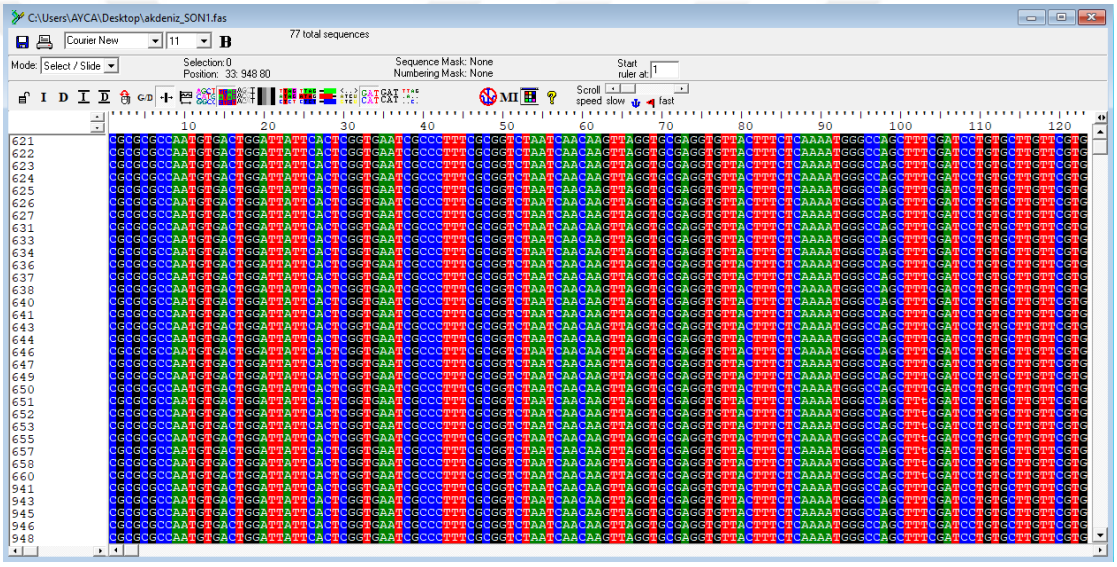
Şekil 3.14 *AChE2* gen bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonrası PZR ürünlerinin jel görüntüleri (M: 100 bp DNA marker-Fermantas)



Şekil 3.15 Firmadan gelen kromotogram dosyaları

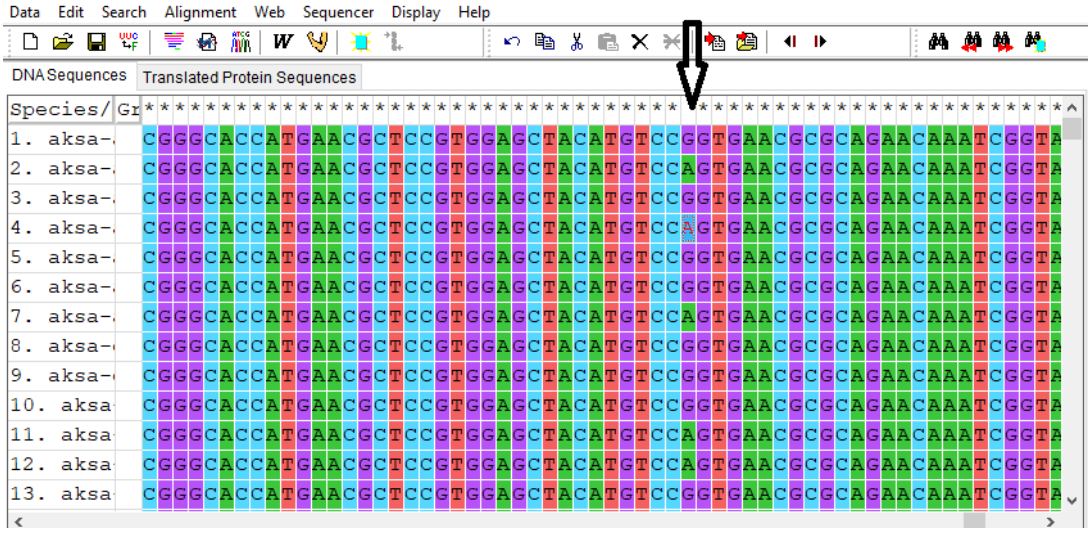


Şekil 3.16 Fasta formatına çevrilen *AChE2* gen bölgesi kromatogram dosyası

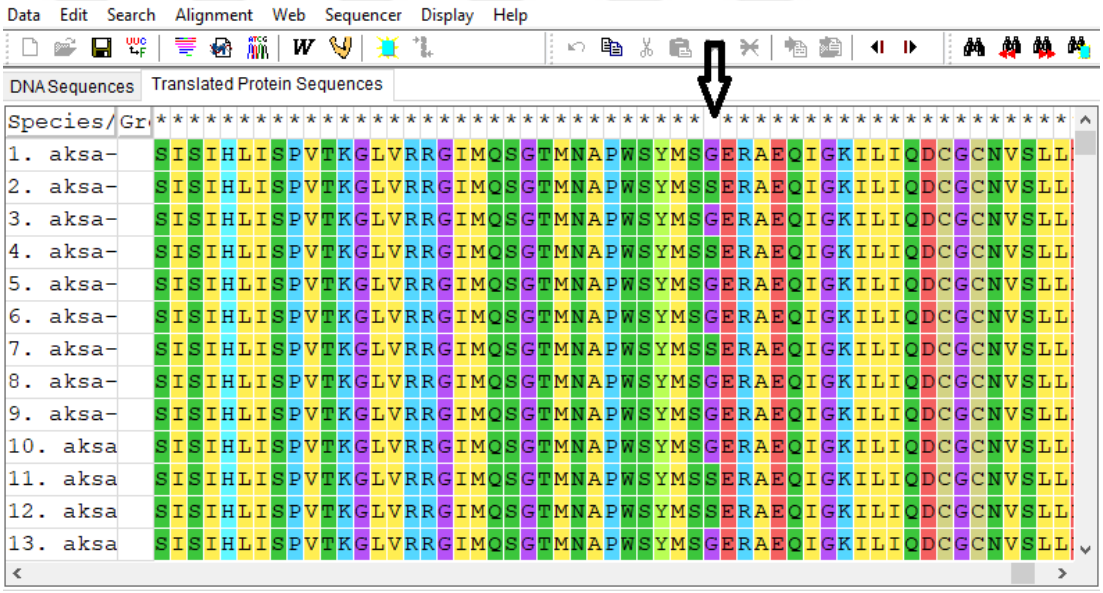


Şekil 3.17 Bioedit programında hizalanmış *AChE2* gen bölgesini dizileri

Organofosfat grubu insektisitlere dirençte rol oynayan asetilkolin esteraz enzimini kodlayan *AChE2* gen bölgesinde görülen Ser-Gly (AGT-*GGT) mutasyonu MEGA 7.0 (Kumar vd. 2016) programında dizilerin açılması ve MEGA içerisinde bulunan ClustalW analizi ile hizalanmasının ardından dizilerde manuel olarak kontrol edilmiştir (Şekil 3.18, 3.19). Bu tez çalışmasında 210 örneğe ait 1037 bç'lik *AChE2* nDNA gen bölgesi dizileri NCBI Genbankası'ndan Kuzey Amerika ve Avrupa populasyonlarına ait toplam 50 haplotip dizileri (GenBank erişim numaraları *GU066317–GU066339 ve KC342668-KC342694*; Piiroinen vd. 2013) ile birlikte hizalanmıştır.



Şekil 3. 18 *AChE2* gen bölgesine ait dizilerin MEGA programında hizalanması ve mutasyon bölgesi



Şekil 3. 19 *AChE2* gen bölgesine ait dizilerin MEGA programında hizalanması ve amino asit dizisi

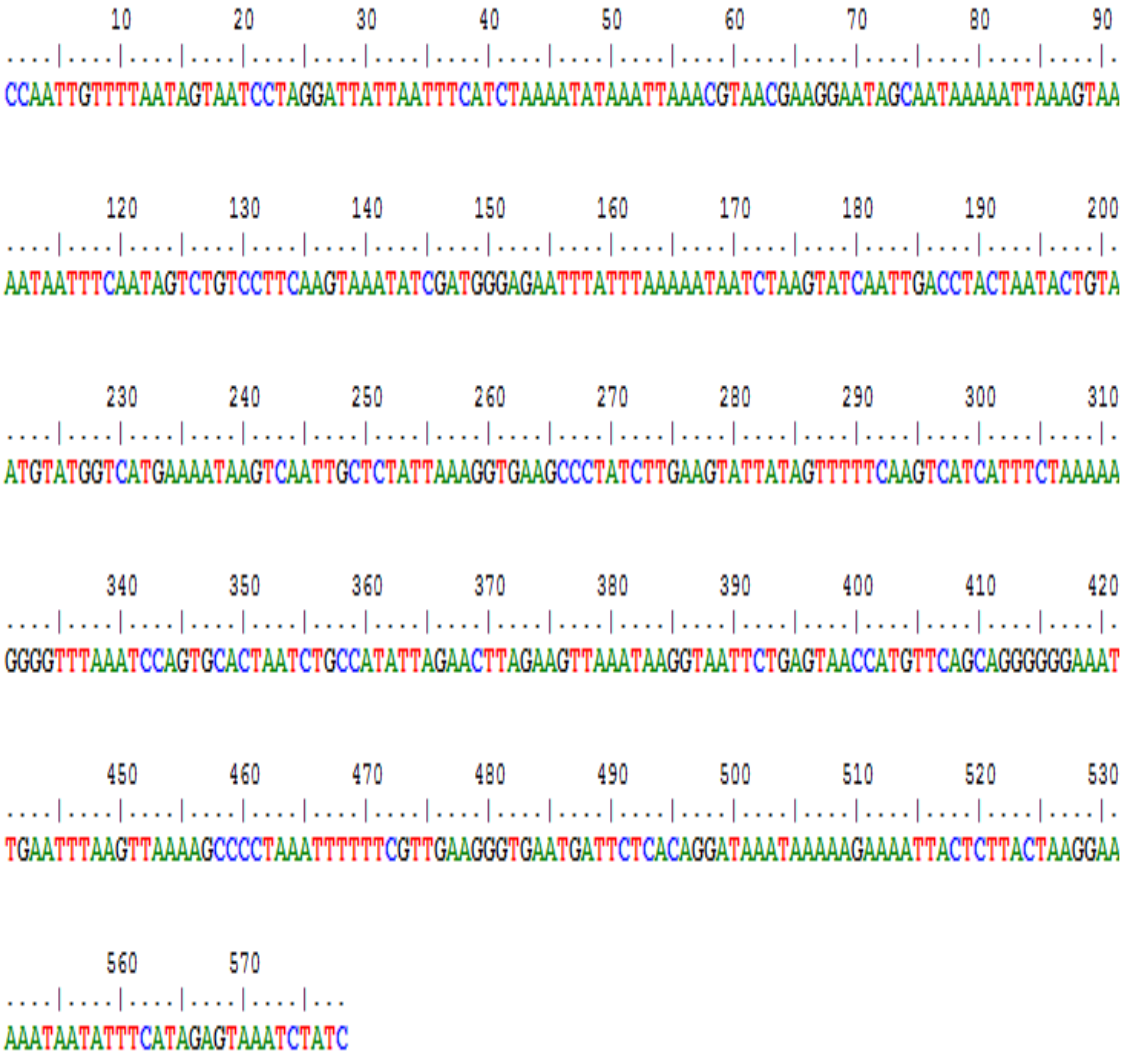
Diziler arasındaki nükleotit farklılıkları temel alınarak DnaSP 6.11.01 programıyla haplotipler belirlenmiştir (Rozas vd. 2003). Gen bank'tan elde edilen diziler ile karşılaştırmalı olarak analizler yapılmıştır (GenBank erişim numaraları *GU066317–GU066339 ve KC342668-KC342694*; Piiroinen vd. 2013). Nükleotid farklılıklarına göre

özgün haplotipler tespit edilerek haplotip sayısı (H), haplotip çeşitliliği (Hd) ve nükleotid çeşitliliği (π) ve nükleotid farklılıklarının ortalama sayısı (K) hesaplamaları yapılmıştır. MEGA 7.0 (Kumar vd. 2016) programında bulanan ClustalW ile diziler hizalandıktan sonra manuel olaraka diziler kontrol edilmiş ve amino asit değişimine neden olan baz değişimleri belirlenmiştir (Şekil 3.13 a, b). *AChE2* gen bölgesinde görülen Ser-Gly mutasyonu tüm bireylerde bakılmış ve bu mutasyonu gösteren bireylerin populasyon düzeyinde (il populasyon) sayıları belirlenmiştir. Fiksasyon indeksi olarak bilinen F_{ST} değerleri il düzeyinde hesaplanmıştır. Tajima'nın D (Tajima, 1989) ve Fu'nun Fs (Fu, 1997) değerleri kullanılarak nötralite testi yapılmış, populasyonların büyüme eğiliminde olup olmadığı ve dar boğaz etkisine bakılmıştır. F_{ST} değerlerinin hesaplamaları ve nötralite testi Arlequin ver. 3.5 programı ile belirlenmiştir (Excoffier ve Lischer, 2010).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 mtDNA *COI+COI I* Gen Bölgesi Dizi Analizi Sonuçları

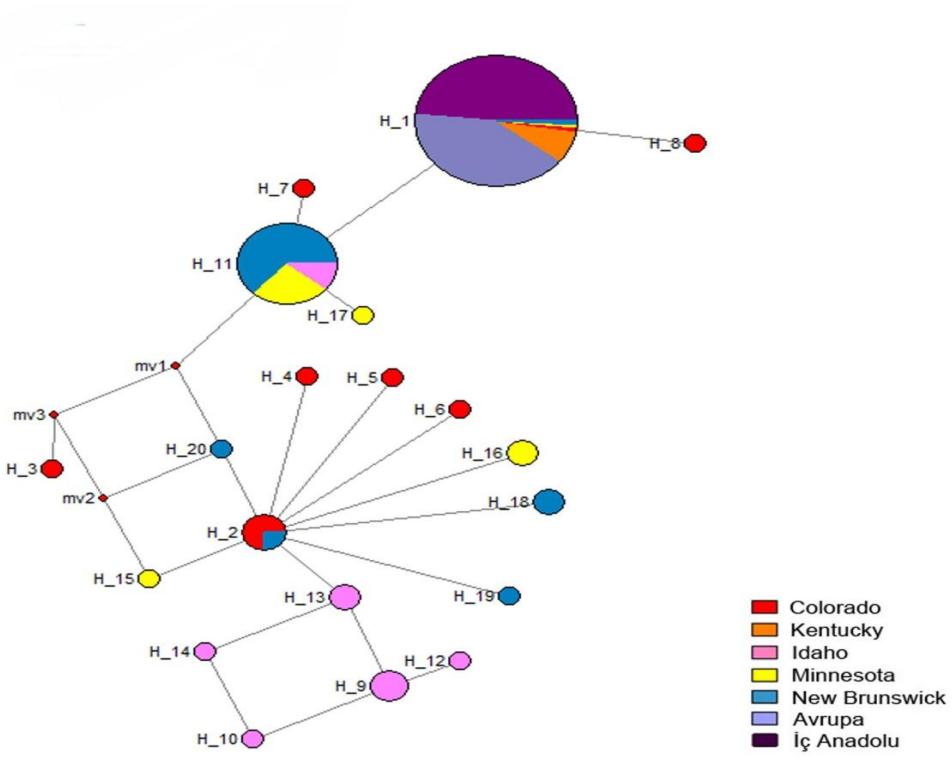
Bu tez çalışmasında mtDNA *COI+COII* bölgesi çalışması için her lokasyondan 2 örnek kullanılarak toplamda 60 örneğin dizi analizi yapılmıştır. Tüm örneklerin hizalama ve kesme işlemlerinden sonra toplamda 577 baz çifti uzunluğundaki bölge analiz edilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 577 bç'lik *COI+COII* mtDNA gen bölgesi dizisi

Grapputo ve arkadaşları (2005) tarafından yapılan çalışma sonucunda, GenBank'tan alınan Kuzey Amerika'dan 58 örnek (5 bölge: Colorado, Idaho, Kentucky, Minnesota ve New Brunswik) ve Avrupa'dan 51 örnek (8 bölge: Finlandiya, Rusya, Estonya, Polonya, Fransa, İspanya ve İtalya) populasyonlarına ait 20 haplotip dizisi (GenBank erişim numaraları

AJ884950-AJ884969) ile karşılaşırılmıştır (Şekil4.2). Elde edilen haplotiplerin dağılımı Çizelge 4.1'de verilmiştir. Haplotiplerin Kuzey Amerika'da bölgesel olarak farklı dağıldığı görülmektedir. H1, H4 ve H14 haplotipleri farklı populasyonlar arasında görülürken diğer haplotipler bölgesel olarak tek bir populasyonda görülmüştür. Avrupa örneklerinde ise sadece H1 haplotipi görülmektedir. İç Anadolu bölgesinden elde ettiğimiz tüm populasyonlarda Avrupa'da yaygın olarak görülen H1 haplotipi olduğu bulunmuştur. Avrupa ve Türkiye populasyonlarında tek bir haplotip (H1) fikse olduğundan dolayı bu populasyonlarda genetik çeşitlilik göstergesi bulunmamaktadır. Genetik çeşitliliğin göstergesi olan değerler en yüksek Colorado grubundadır. (Çizelge 4. 2).



Şekil 4.2 mtDNA *COI+COII* gen bölgesi İç Anadolu ve *Genbank haplotipleri ile oluşturulan median-joining network (*Grapputo vd. (2005))

Çizelge 4.1 Mitokondriyal çeşitlilik: analiz edilen örnek sayısı (N), her populasyondaki haplotipler ve sayıları

Populasyon	N	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20
Colorado	10	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	1	1	1	1	1	1
Idaho	10	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kentucky	10	-	3	1	2	1	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Minnesota	10	1	-	-	5	-	-	-	1	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
New Brunswik	18	1	-	-	12	-	-	-	-	-	-	2	1	1	1	-	-	-	-	-	-
Avrupa	51	51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İç Anadolu	60	60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Çizelge 4.2 Amerika, Avrupa ve İç Anadolu populasyonlarının mtDNA *COI+COII* gen bölgesine bağlı genetik çeşitlilik değerleri, [Örnek sayısı (N), Haplotip sayısı (H), haplotip çeşitliliği (Hd), Nükleotid çeşitliliği (π), Nükleotid farklılıklarının ortalama sayısı (K)

Populasyon	**N**	**Ayırıcı bölge**	**Parsimoni İnformatif bölge**	**H**	**Hd**	**π**	**K**
Colorado	10	13	4	8	0,933±0,077	0,00639	3,689
Idaho	10	0	0	1	-	-	-
Kentucky	10	9	9	6	0,889±0,075	0,00616	3,556
Minnesota	10	7	4	5	0,756±0,130	0,00408	2,356
New Brunswik	18	7	5	6	0,562±0,134	0,00312	0,00313
Avrupa	51	0	0	1	-	-	-
İç Anadolu	60	0	0	1	-	-	-

4.2 Asetilkolinesteraz 2 (*AChE2)* Gen Bölgesi Verilerinin Analiz Sonuçları

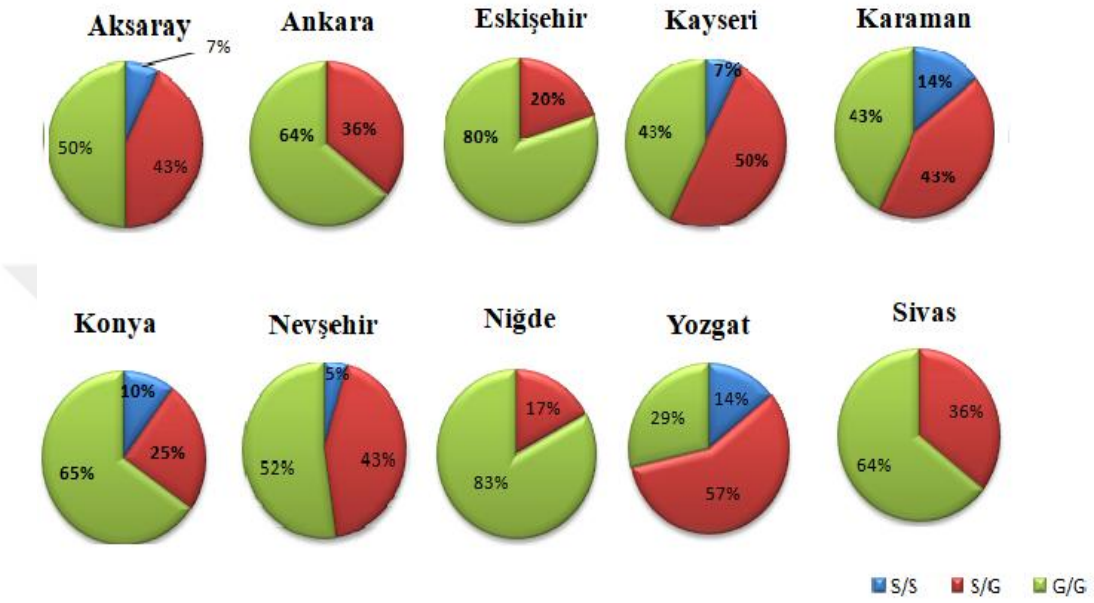
İç Anadolu bölgesinden toplamda 10 il 30 lokasyondan elde edilen populasyonlara ait örneklerin AChE2 gen bölgesinin 1037 bç'lik kısmını içeren diziler Genbank'tan alınan Amerika ve Avrupa haplotipleri ile karşılaştırılmıştır. İllere göre haplotip dağılımına baktığımız zaman İç Anadolu bölgesinde yaygın olarak görülen haplotipler H16, H9, H3 ve H5'dir. Toplamda 16 polimorfik bölge içeren 67 haplotip elde edilmiştir (Çizelge 4.3). En fazla haplotip çeşitliliği Konya populasyonlarında, en az haplotip çeşitliliği ise Yozgat populasyonlarında görülmektedir.

Çizelge 4. 3 Populasyonlardaki haplotip dağılımları

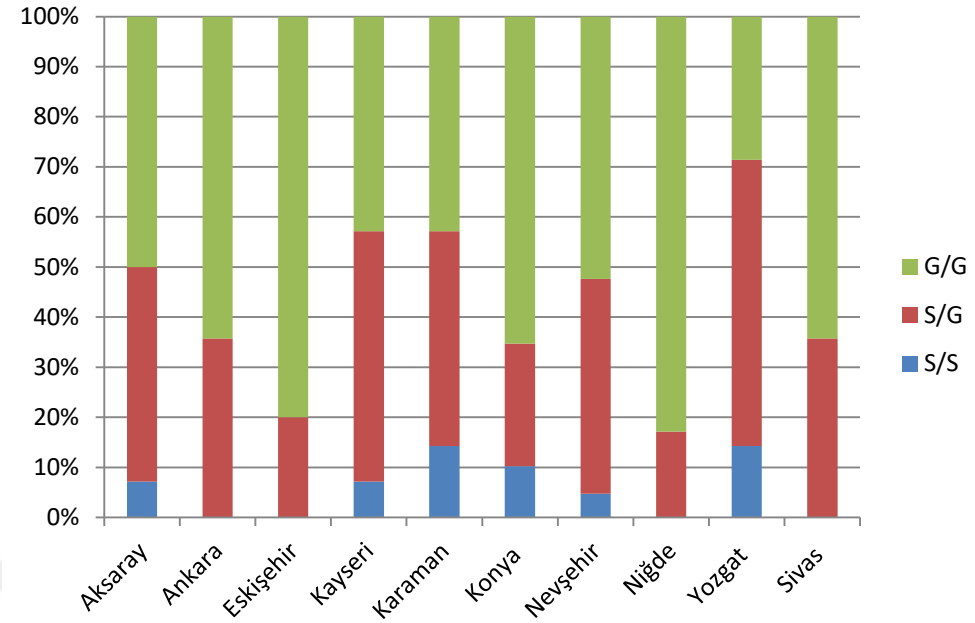
Populasyon	**Haplotipler**
Aksaray	H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12
Ankara	H1, H8, H9, H13, H14, H15, H16, H17
Eskişehir	H3, H5, H8, H9, H16, H18,H19, H20, H21, H22, H23, H24, H25
Kayseri	H1, H4, H5, H16, H29, H30, H31, H32, H33, H34
Karaman	H3, H4, H9, H16, H26, H27, H28,
Konya	H1, H3, H4, H5, H8, H9, H16, H21, H27, H29, H31, H35, H36, H37, H38, H39, H40, H41, H42, H43, H44, H45, H46, H47, H48, H49, H50
Nevşehir	H2, H3, H4, H5, H8, H9, H11, H16, H25, H35, H51, H52, H53
Niğde	H1, H2, H3, H5, H9, H16, H25, H32, H35, H54, H55, H56, H57, H58, H59, H60, H61
Yozgat	H2, H4, H5, H66, H67
Sivas	H5, H8, H9, H16, H30, H35, H58, H62, H63, H64, H65

Diziler aminoaside dönüştürüldüğünde, iki tane aminoasit değişimine neden olan non-sinonim mutasyon Y54H ve S291G bulunmuştur. Bu mutasyonlar (Piiroinen vd. 2013) tarafından Avrupa ve Amerika populasyonları ile yapılan çalışmada bildirilmiş olup S291G mutasyonu OF ile ilişkili başlıca mutasyondur. Bu tez çalışmasında kullanılan 210 bireyde S291G mutasyonu bakımından 64 tanesi (%30) heterozigot (291Ser/Gly), 146 tanesi de (%70) homozigot (291Ser/Ser veya 291Gly/Gly) birey olarak belirlenmiştir (Şekil 4.3) (Çizelge 4.4). Bu bireylerden 10 tanesi Serin (291Ser/Ser), 136

tanesi de Glisin (291Gly/Gly) homozigot bireyler olarak belirlenmiştir (Şekil 4.4). Direnç gelişiminde rol oynayan Ser/Gly mutasyonu açısından direnç alel frekansı (R) 200 (% 95,24), duyarlı birey aleli (S) 10 (% 4,76)'dır.



Şekil 4.3 İllere göre *AChE2* gen bölgesinde OF ile ilişkili S291G mutasyonu için populasyonlarda hererozigot (291Ser/Gly) ve homozigot (291Ser/Ser ve 291Gly/Gly) bireylerin dağılımı



Şekil 4.4 İllere göre *AChE2* gen bölgesinde OP direnci ile ilişkili S291G mutasyonunun genotip frekansları

Populasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığı, %5 güven aralığı kullanılarak, χ^2 analizi kullanılarak test edilmiştir. Bütün populasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 *AChE2* gen bölgesinde OF ile ilişkili S291G mutasyonu için il populasyonlarında heterozigot (291Ser/Gly) ve homozigot (291Ser/Ser ve 291Gly/Gly) birey sayıları

Populasyon	Birey sayısı	S/S	S/G	G/G	S alel	G alel	x2 toplam	Anlamlılık
Aksaray	14	1	6	7	0,29	0,71	0,037	p>0,05
Ankara	14	-	5	9	0,18	0,82	0,654	p>0,05
Eskişehir	35	-	7	28	0,1	0,9	0,432	p>0,05
Kayseri	14	1	7	6	0,32	0,68	0,301	p>0,05
Karaman	7	1	3	3	0,36	0,64	0,031	p>0,05
Konya	49	5	12	32	0,22	0,78	4,453	p>0,05

Çizelge 4.4 *AChE2* gen bölgesinde OF ile ilişkili S291G mutasyonu için il populasyonlarında heterozigot (291Ser/Gly) ve homozigot (291Ser/Ser ve 291Gly/Gly) birey sayıları **(**devam)

Nevşehir	**21**	**1**	**9**	**11**	**0,26**	**0,74**	**0,250**	**p>0,05**
Niğde	35	-	6	29	0,17	0,83	3,524	p>0,05
Yozgat	7	1	4	2	0,42	0,58	0,200	p>0,05
Sivas	14	-	5	9	0,18	0,82	0,654	p>0,05
Toplam	**210**	**10**	**64**	**136**				

Populasyon içindeki en yüksek haplotip sayısı (H=27) Konya ilinde görülmektedir. Haplotip çeşitliliğinin en yüksek olduğu il Karaman (Hd=1,000), en düşük olduğu il ise Ankara'dır (Hd=0,901). Genel olarak nükleotit çeşitliliği en fazla Nevşehir'de (π =0,00552) en az da Ankara'da (π =0,00317) görülmektedir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4. 5 *AChE2* gen bölgesine bağlı genetik çeşitlilik değerleri, [Birey sayısı (N), Polimorfik sayısı (S), Haplotip sayısı (H), haplotip çeşitliliği (Hd), Nükleotid çeşitliliği (π), Nükleotid farklılıklarının ortalama sayısı (K)]

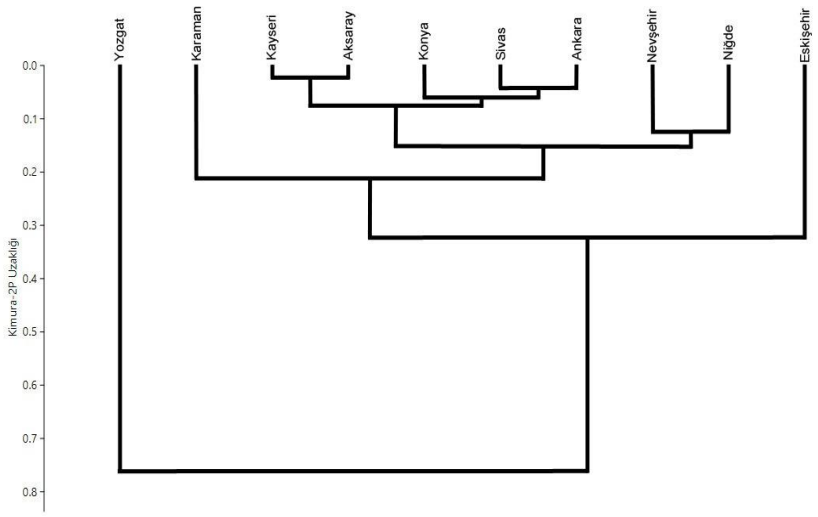
	N	**S**	**H**	**Hd**	**Pi**	**K**
Aksaray	14	13	12	0,978	0,00468	4,857
Ankara	14	9	8	0,901	0,00317	3,286
Eskişehir	35	13	13	0,916	0.00371	3,843
Kayseri	13	14	10	0,962	0,00396	4,103
Karaman	7	14	7	1,000	0,00538	5,714
Konya	49	14	27	0,948	0,00474	4,918
Nevşehir	20	14	13	0,926	0,00552	5,726
Niğde	35	12	17	0,951	0,00406	4,215
Yozgat	7	10	5	0,905	0,00441	4,571
Sivas	14	11	11	0,934	0,00391	4,055

Populasyonların seçilime uğrayıp uğramadığının göstergesi olarak nötralite testleri yapılmıştır. Tajima'nın D ve Fu'nun Fs testlerinde negatif değerler çıkması populasyon genişlemesi ve yeni mutasyonların yüksek oranda görülmesini, pozitif değerler ise populasyonlardaki daralmayı göstermektedir. Buna sonuca göre populasyonlar genişleme eğiliminde olduğu sonucuna varılmıştır (Çizelge 4.6). Populasyonlar arasındaki genetik ilişkiler ise *F*ST değerlerinin karşılaştırılması ile belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.6 *AChE2* gen bölgesine bağlı nötralite testi

	N	Tajima's D	Fu's FS	Fu ve Li's D	Fu ve Li's F
Aksaray	14	0,75618	-5,703	1,14289	1,18952
Ankara	14	0,61787	-1,651	0,02189	0,20686
Eskişehir	35	0,67199	-2,414	0,58460	0,71947
Kayseri	14	-0,37607	-3,767	-0,34019	-0,39917
Karaman	7	0,0000	-2,695	-0,07953	-0,06785
Konya	49	1,72468	-14,260	1,54215	1,89562
Nevşehir	21	1,65135	-3,124	1,13979	1,49550
Niğde	35	1,41154	-5,587	1,47283	1,70721
Yozgat	7	0,64390	0,121	0,89828	0,92224
Sivas	14	0,67909	-4,806	1,05596	1,09277

AChE2 haplotipleri ile Kimura 2 (K2P) parametresi temel alınarak Neighbour Joining ağacı çizilmiştir. Populasyonların temel olarak 2 gruba ayrıldığı görülmüştür. Yozgat örnekleri diğer populasyonlardan ayrılarak farklı bir dal oluşturmuştur. Diğer gruptaki populasyonlar da kendi aralarında 5 gruba ayrılmıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 *AChE2* haplotipleri ile Kimura 2 (K2P) parametresi temel alınarak oluşturulan Neighbour Joining ağacı

Çizelge 4.7 İllere göre hesaplanan fiksasyon indeksi (F_{ST}) değerleri

	Aksaray	**Ankara**	**Eskişehir**	**Karaman**	**Kayseri**	**Konya**	**Nevşehir**	**Niğde**	**Sivas**	**Yozgat**
Aksaray	0.00000									
Ankara	0.01722	0.00000								
Eskişehir	0.09850*	0.14112***	0.00000							
Karaman	-0.06549	0.01205	-0.01593	0.0000						
Kayseri	-0.00724	0.01624	0.13825***	-0.04109	0.0000					
Konya	-0.01209	0.00609	0.05755***	-0.06818	0.00966	0.0000				
Nevşehir	-0.01802	0.10297	0.09251***	-0.04851	0.04451	0.03359	0.0000			
Niğde	0.02745	0.07778	0.01255	-0.05420	0.03970	0.01609	0.03535	0.0000		
Sivas	0.00765	-0.01616*	0.04758	-0.06068	0.01941	-0.02281	0.05300	-0.00042	0.0000	
Yozgat	0.15430*	0.34362**	0.38348***	0.17702*	0.20206***	0.23700**	0.10091	0.30085***	0.32946***	0.0000

*P < 0.05; **P < 0.001; ***P < 0.0001

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında, mtDNA (Sitokrom Oksidaz Alt Ünitesi *COI+COI I*) bölgesi kullanılarak İç Anadolu bölgesindeki patates böceği populasyonlarının genetik yapısı, genetik çeşitliliği ve kolonizasyon durumu anlaşılmaya çalışılmış ve OF insektisit direncinde rol oynayan Asetilkolinesteraz enzimini kodlayan Asetilkolinesteraz 2 (AChE2) geninin kısmi baz dizi analizi yapılarak OF insektisit direnci ile ilişkili bu gendeki mutasyonlar ve genetik olarak potansiyel direnç seviyeleri belirlenmiştir.

5.1 mtDNA Bulgularına Göre İç Anadolu Bölgesindeki Patates Böceği Populasyonlarının Yapısı ve Haplotip Analizi

Bugüne kadar yapılan çalışmalar arasında mitokondriyal genom böceklerde en çok çalışılan genomik sistem olmuştur (Cameron, 2014). Özellikle populasyon genetiği çalışmalarında çok fazla mtDNA gen bölgeleri kullanılmıştır. Patates böceği ile yapılan populasyon genetiği çalışmalarında böceğin ortaya çıktığı Amerika'daki populasyonlar ve istilacı tür olarak Avrupa'ya yayıldığı bölgelerdeki populasyonlar üzerine yoğunlaşılmıştır (Azeredo-Espin vd.1991; Azeredo-Espin vd. 1996; Sidorenko ve Berezovska, 2002; Grapputo vd. 2005; Przybylska vd. 2014; Izzo vd. 2018). Bu çalışmalarda Amerika'da populasyonlarında yüksek genetik çeşitlilik görülürken Avrupa populasyonlarında düşük genetik çeşitliliği olduğu görülmüştür (Azeredo-Espin vd. 1996; Grapputo vd. 2005). mtDNA (Sitokrom Oksidaz Alt Ünitesi) belirteci kullanılarak yapılan çalışmada Avrupa'daki populasyonlarda tek bir mitokondriyal haplotipin fikse olduğunu bildirilmiştir (Grappo vd. 2005). Bu sonuçlar Avrupa'da bir tek kurucu etkisini göstermektedir. Patates böceği Meksika kökenli bir böcek türüdür ve Avrupa'da ilk populasyonlar 1920'lerde Fransa'nın batısında ortaya çıkmıştır (Lehmann, 2014), daha sonra tüm Avrupa'ya yayılmaya başlamıştır (Grappo vd. 2005). Avrupa'da tek bir mtDNA haplotipinin (H1) görülmesi, patates böceğinin Avrupa'ya tek bir kaynaktan yayıldığının göstergesi olabilir. Böceğin yayılışından itibaren çok uzun zaman geçmediği düşünüldüğü zaman populasyonlar arası farklılaşma olmaması beklenen bir durumdur. Bu tez çalışmasında Grapputo vd. (2005) tarafından yapılan çalışmada kullanılan aynı belirteçler kullanılmış, Amerika ve Avrupa haplotipleri ile yapılan karşılaştırma sonucunda İç Anadolu bölgesindeki tüm populasyonlar da sadece

H1 Avrupa haplotipi görülmüştür. Avrupa haplotipinin populasyonlarda bulunması böceğin Avrupa üzerinden ülkemize geçişini desteklemektedir. Ülkemizde patates böceğinin ilk görüldüğü yerler, Edirne'nin Yunanistan ile sınır olan bölgeleri olarak bildirilmiştir (Atak, 1973). Bunun dışında böceğin Türkiye'ye girişi ve yayılışı ile ilgili kesin bir bilgi bulunmamaktadır. Türkiye coğrafyasına yakın bölge etrafında patates böceği populasyonları ile ilgili çalışmaların olmaması böceğin Türkiye'ye yayılış tarihini anlamamızı zorlaştırmaktadır.

5.2 Asetilkolinesteraz 2 (*AChE2*) Gen Bölgesi Bulgularına Göre İç Anadolu Bölgesinde Patates Böceği Populasyonlarının Yapısı ve Organofosfat Direncinden Sorumlu Mutasyonların Dağılımı

Mücadelesinde birçok yöntem kullanılan patates böceği patatesin en önemli böcek zararlısıdır. İnsektisitler (organofosfatlar, karbamatlar, organoklorinler ve pyrethroidler) patates üreticileri tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır ve patates böceği ile mücadelenin temelini oluşturmaktadır. Kullanılan kimyasal ilaçlardan günümüzde uygulanan en yaygın grup asetilkolinesteraz inhibitörü olan organofosfatlardır (Alyokhin vd. 2013; Piiroinen vd. 2013). Bu grubun çok fazla kullanılması patates böceğinin bulunduğu ekim alanlarında bu insektisitlere karşı direnç gelişimi ile sonuçlanmıştır. Bu direnç farklı mekanizmalar yoluyla ortaya çıkmaktadır bu yüzden gelişen direnç mekanizmalarının daha iyi anlaşılması ve direnç yayılışının önlenmesinde stratejiler geliştirilebilmesi için bu böcekteki direncin moleküler mekanizmalarının araştırılması önemlidir. Tez çalışmasında OF insektisit direncinde önemli rol oynayan Asetilkolinesteraz enzimini kodlayan *AChE2* geninin kısmi baz dizi analizi yapılarak populasyonların genetik çeşitliliği, direnç seviyeleri ve oluşan dirence yönelik uygulanacak yöntemler tartışılmıştır.

İç Anadolu populasyonlarında *AChE2* gen bölgesi dizi analizi sonucunda toplamda 67 farklı haplotip tespit edilmiştir. İllere özgü haplotiplere raslanmıştır. Bu 10 il arasında en fazla haplotip çeşitliliği Konya populasyonlarında, en az haplotip çeşitliliği Yozgat populasyonlarında görülmüştür. *AChE2* haplotipleri ile Kimura parametresi kullanılarak

Neighbour Joining ağacı çizilmiştir. Temel olarak 2 dala ayrılma görülmüştür. Yozgat populasyonları çok farklılık göstrip tek bir dal oluştururken, diğer populasyonlar kendi içlerinde 5 gruba ayrılmıştır.

Piiroinen vd. (2013) Avrupa ve Amerika populasyonlarında, pulasyonlar arasında farklılık gösteren S291G mutasyonunda dahil olduğu toplam 12 tane mutasyon (Q3K, R30K, P41, L50M, Y54H, S55A, P150S, T151S,Y205F, A238D, A239T ve S291G) belirlemişlerdir. Bu tez çalışmasında *AChE2* gen bölgesinde populasyonlarda non-sinonim S291G ve Y54H mutasyonları tespit edilmiştir. Bu gen bölgesinde en önemli direnç kazandıran mutasyon Serin'den Glisin'e amino asit değişimidir (S291G) (Zhu vd. 1996). İkinci mutasyon ise Arginin'den Lizin'e olan (R30K) değişimidir. Bu ikinci mutasyon (S291G)'nin sağladığı direnci arttırmaktadır (Kim vd. 2007). Bu çalışmayı oluşturan örneklerde ikinci mutasyon görülmemiştir. Çalışmada kullanılan 210 bireyde S291G mutasyonu bakımından 64 tanesi (%30) heterozigot (291Ser/Gly), 146 tanesi de (%70) homozigot (291Ser/Ser veya 291Gly/Gly) birey olarak belirlenmiştir. İç Anadolu bölgesinde yüksek çeşitlilik bulunmuş ve populasyonların genişleme aşamasında bulunduğu nötralite analizi ile belirlenmiştir. Populasyonlar Hardy-Weinberg dengesindedir ($p>0,05$).

Sonuç olarak bu tez çalışmasında 114Z945 numaralı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu projesi kapsamında İç Anadolu bölgesine ait 10 il 30 farklı lokasyondan toplanan patates böceği örnekleri kullanılarak mtDNA çalışmaları ile tüm populasyonlar da sadece H1 Avrupa haplotipi olduğu tespit edilmiş ve organofosfat direnci ile ilişkili mutasyonların tanımlanması gerçekleştirilmiştir. Populasyonlar insektisitlere karşı direnç geliştirmeye devam ederse yaygın olarak kullanılan bu kimsayallar efektif olmayan bir hale gelecektir. Bu nedenle, kimyasal mücadele yöntemlerinin yerine alabilecek alternatif mücadele yöntemleri geliştirilmelidir.

KAYNAKÇA

Alyokhin, A., Udalov, M., Benkovskaya, G. 2012. Insect Pests of Potato. Academic Press, 11, USA.

Anonymous. 2011. Patates Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Yayını, Ankara.

Anonymous. 2005. World Health Organization (WHO) Safety of Pyrethroids for Public Health Use. World Health Organization (WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.10) (WHO/PCS/RA/2005.1). USA.

Atak, U. 1973. Trakya bölgesinde Patates böceği (Leptinotarsa decemlineata Say)'nin morfolojisi, bio-ekolojisi ve savaş metodları üzerinde araştırmalar. T.C.Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları Teknik Bülteni, 6; 63.

Azeredo, Espin, A.M.L., Schroder, R.F.W., Roderick, G. K. and Sheppard, W.S. 1996. Intraspesific Mitochondrial DNA variation in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). Biochemical Genetics, 34(7-8); 253-268.

Azeredo, Espin, A.M.L., Schroder, R.F.W., Huettel, M.D. and Sheppard, W.S. 1991. Mitochondrial DNA variation in geographic populations of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). Exprientia, 47(5); 483-485.

Birky, C.W.J. 2001. The inheritance of genes in mitochondria and chloroplasts: laws, mechanisms, and models. Annual Reviews of Genetics, 35; 125–48.

Brower, A.V.Z. 1994. Rapid morphological radiation and convergence among races of the butterfly *Heliconius erato* inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution. Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America, 91; 6491-6495.

Brown, W.M., Prager, E.M., Wang, A. and Wilson, A.C. 1982. Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution. Journal of Molecular Evolution, 18; 225-239.

Brown, W.M. 1985. The mitochonrial genome of animals. Molecular Evolutionary Genetics Plenum Pres, 130s., New York.

Cameron, S.L. 2014, Insect mitochondrial genomics: implications for evolution and phylogeny. Annual Review of Entomology, 59; 95-117.

Casagrande, R.A. 1985. The "Iowa" potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. Bull Entomol. Soc, Am. 31; 27–29.

Caterino, M.S., Shull, V.S., Hammond, P.M. and Volger, A.P. 2002. Basal relationships of Coleoptera inferred from 18s rDNA sequences. Zoologica Scripta, 31; 41-49.

Chen, Z., Newcomb, R., Forbes, E., McKenzie, J. and Batterham, P. 2001. The Acetylcholinesterase gene and organophosphorus resistance in the australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina*. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 31; 805.

Christie, R.D., Sumalde, A.C., Schutz, J.T. and Gudmestad, N.C. 1991. Insect transmission of the bacterial ring rot pathogen. American Potato Journal, 68; 363-372.

Çakır, Ş. 2004. Böceklerde insektisetlere direnç. Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi, 6(1); 21-29

Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C. ve Burçak, A. 2005. Türkiye'de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre, Ankara.

Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1991. Isolation of plant DNA from fresh tissue, Focus, 12(1); 13-15.

Elliot, M., Jamees, N.F. and Potter, C. 1978. The future of pyrethroids in insect control. Annu Rev Entomol, 23; 443-469.

EPPO. 2016. EPPO Global Database Leptinotarsa decemlineata (LPTNDE), Paris, France. European and Mediterranean Plant Protection Organization. http://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pgr.htm. Son erişim tarihi: 15.04. 2018

Excoffier, L., and Lischer, H.E.L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources, 10; 564-567

Feng, X., Yang C., Yang, Y., Li, J., Lin, K., Li, M., and Qiu, X. 2015. Distribution and frequency of G119S mutation in ace-1 gene within Anopheles sinensis populations from Guangxi, China. Malaria Journal, 14; 470.

Ferro, D.N., Logan, J.A., Voss, R.H. and Elkinton J.S. 1985. Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) temperature-dependent growth and feding rates. Environmental Entomology, 14; 343-348.

Ferro, D.N., Logan, J.A., Voss, R.H.and Elkinton J.S. 1985. Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) temperature-dependent growth and feding rates. Environmental Entomology, 14; 343-348.

Feytaud, J. 1950. Le Doryphore à la conquète de l'Europe. In: Proceedings of the VIII International Congress of Entomology.(643–646); Stockholm,Sweden.

Gillott, C. 1982. Classification and Identification Entomology. Plenum Press, 692.

Goto, S.G. and Kimura, M.T. 2001. Phylogenetic utility of mitochondrial COI and nuclear Gpdh genes in Drosophila. Molecular Phylogenetics and Evolution.18; 404.

Grapputo, A. 2006. Development and characterization of microsatellite markers in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. Molecular Ecology Notes, 6; 1177-1179.

Grapputo, A., Boman, S., Lindström, L., Lyytinen, A. and Mappes, J. 2005. The voyage of an invasive species across continents: genetic diversity of North American and European Colorado potato beetle populations. Molecular Ecology, 14; 4207-4219.

Grapputo, A., Boman, S., Lindström, L., Lyytinen, A., Mappes, J. 2005. "The voyage of an invasive species across continents: genetic diversity of North American and European Colorado potato beetle populations. Molecular Ecology, 14; 4207-4219.

Gullan, P.J. and Cranston P.S. 2010. Böcekler Entomolojinin Ana Hatları. Nobel yayınevi, 487 s., Ankara.

Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment, editor and analysis program for Windows 95/98/ NT. Nucleic Acids Symposium Series, 41; 95–98.

Hare, J.D. 1980. Impact of defoliation by the colorado potato beetle. Journal of Economic Entomology, 73(2); 369-372.

Hare, J.D. 1980. Impact of defoliation by the colorado potato beetle. Journal of Economic Entomology, 73(2); 369-372.

Hare, J.D. 1990. Ecology and management of the colorado potato beetle. Annual Review of Entomology, 35; 81-100.

Hawkes, N.J., Janes, R.W., Hemingway, J. and Vontas, J. 2005. Detection of resistance associated point mutations of organophosphate insensitive acethylcholinesterase in the olive fruit fly, Bactrocera oleae (Gmelin). Pesticide Biochemistry and Physiology, 81; 154-163.

Izzo, V.M., Chen, Y.H., Schoville, S.D., Wang, C. and Hawthorne, D.J. 2018. Origin of Pest lineages of the colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). Journal of Economic Entomology, 20(10); 1–11.

İlisulu, K. 1957. Türkiye'de Yetiştirilen Patates Çeşitlerinin Başlıca Vasıfları Üzerinde Araştırmalar, Ankara Üniv.Ziraat Fak.Yayın No: 118, 248s., Ankara.

Jacobson, J.J. 1983. Isozyme variation between geographic populations of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). Annals of the Entomological Society of America, 76(2); 162-166.

Jacques, R.L. 1988. The Potato Beetles. E. J. Brill, Leiden, The Netherlands.

Jyrki Tomminen https://creativecommons.org/licenses/by/2.0/legalcode. Erişim Tarihi: 18.12.2018

Kakko, I. 2004. Toxic mechanisms of pyrethroids studied in vitro. Academic Dissertation. Acta Universitatis Tamperensis, 1018.

Kim, H.J., Yoon, K.S. and Clark, J.M. 2007. Functional analysis of mutations in expressed acetylcholinesterase that result in azinphosmethyl and carbofuran resistance in Colorado potato beetle. Pesticide Biochemistry and Physiology, 88; 181–190.

Kim, J., Joo, Y.R., Kwon, M., Kim, H.G. and Lee, S.H. 2012. Mutation in ace1 associated with an insecticide resistant population of Plutella xylostella. Journal of Asia-Pacific Entomology, 15; 401–407.

Kumar, S., Stecher, G.and Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger data sets. Molecular Biology Evolution, 33; 1870–1874.

Lehmann, P., Piiroinen, S., Kankare, M., Lyytinen, A., Paljakka, M. and Lindström, L. 2014. Photoperiodic effects on diapause-associated gene expression trajectories in European Leptinotarsa decemlineata populations. Insect Molecular Biology, 23(5); 566-578.

Librado, P. and Rozas, J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics, 25(11);1451–1452.

Lockridge, O., Blong, R.M., Masson, P., Froment, M.T., Millard, C.B. and Broomfield, C.A. 1997. A single amino acid substitution, Gly-»His, confers phosphotriesterase (organophosphorus acid anhydride hydrolase) activity on human butyrylcholinesterase. Biochemistry-US, 36; 786-795.

Luo, G.H., Li, X.H., Zhang, Z C., Liu, B.S., Huang, S. J. and Fang, J. C. 2015. Cloning of two acetylcholinesterase genes and analysis of point mutations putatively associated with Triazophos resistance in Chilo auricilius (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Economic Entomology, 108(3); 1289–1297.

Menozzi, P., Shi, M.A., Lougarre, A., Tang, Z. H. and Fournier, D. 2004. Mutations of acetylcholinesterase which confer insecticide resistance in Drosophila melanogaster populations.BMC Evolutionary Biology, 4; 4-11.

Mutero, A., Pralavorio, M., Bride, J. M. and Fournier, D. 1994. Resistance associated point mutations in insecticide-insensitive acetylcholinesterase.PNAS, 91; 5922-5926.

Onaran, H., Ünlenen, A.L. ve Doğan, A. 2000. Patates Tarımı, Sorunları ve Çözüm Yolları. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Niğde Patates Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayını, Niğde.

Overton, L.C. and Rhoads, D.D. 2004. Molecular phylogenetic relationships based on mitochondrial and nuclear gene sequences for the Todies (Todus,Todidae) of the Caribbean. Molecular Phylogenetics and Evolution, 32; 524–38.

Piiroinen, S., Lindström, L., Lyytinen, A., Mappes, J., Chen, Y.H., Izzo, V. and Grapputo, A. 2013. Pre-invasion history and demography shape the genetic variation in the insecticide resistance-related acetylcholinesterase 2 gene in the invasive Colorado potato beetle. BMC Evolutionary Biology, 13; 13.

Przybylska, A., Budziszewska, M., Klejdysz, T., Nawrot, J. and Obrępalska-Stęplowska, A. 2014. High stability of a mitochondrial genetic marker mtCOII in Polish colorado potato beetle populations. American Journal of Potato Research, 91; 720–725.

Rinkevich, F.D., Zhang, L., Hamm, R.L., Brady, S.G., Lazzaro, B.P.and Scott, J.G. 2006. Frequencies of the pyrethroid resistance alleles of Vssc1 and CYP6D1 in house flies from the eastern United States. Insect Mol Biol, 15: 157-167.

Rokas, A., Ladoukakis, E. ve Zouros, E. 2003. Animal mitochondrial recombination revisited. Trends Ecol Evol, 18(8); 411-417.

Rozas, J., Sanchez-Delbarrio, J.C., Messeguer, X. and Rozas, R. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. Bioinformatics, 19; 2496–2497.

Sidorenko, A.P., Berezovska, O.P. 2002. Genetic structure of populations of the Colorado potato beetles *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). Russian Journal of Genetics, 38(11); 1256-1261.

Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H. and Flook, P. 1994. Evolution,weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. Annals of the Entomological Society of America. 87; 651–701.

Simpson, M.G. 2012. Bitki Sistematiği Nobel yayınevi, 416s., Ankara.

Smith, D.R., Brown, W.M. and Taylor, O.R. 1989. Neotropical Africanized bees have African mitochondrial DNA. Nature (Lond), 339; 213-215.

Stål, C. 1865. Till kannedomen om Amerikas chrysomeliner. Ofv. Svenska Vet.-Akad. Forh. 15; 469–478.

Suffrian, E. 1858. Ubersicht der in den Verein. Staaten von Nord-Amerika einheimischen Chrysomelen. Stettiner Ent. Zeitung 19; 237–278.

Şanlı, Y. 1998, Veteriner İlaçları Rehberi ve Bilinçli İlaç Kullanım El Kitabı. ICC Yayınevi, Ankara.

Taşkın, V., Başkurt, S., Doğaç, E. ve Taşkın, B.G. 2011. Frequencies of pyrethroid resistance-associated mutations of Vssc1 and CYP6D1 in field populations of Musca domestica L. in Turkey. Journal of Vector Ecology, 36 (2); 239-247.

Ünal, G. ve Gürkan, M.O. 2001. İnsektisitler kimyasal yapıları, toksikolojileri ve ekotoksikolojileri. Ethemoğlu Ofset Matbaacılık, 165s., Ankara.

Voss, R.H. and Ferro, D.N. 1990. Ecology of migrating Colorado potato beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) in western Massachusetts. Environmental Entomology, 19; 123-129.

Weber, D. 2003. Colorado beetle: Pest on the move. Pesticide Outlook, 14; 256–259.

Wegorek, W. 1955. Investigation on spring migration of the Colorado beetle (Leptinotarsa decemlineata, Say) and possibilities of combating the insect. Ecol. Pol. Ser. 3; 217–271.

Weill, M., Lutfalla, G., Mogensen, K., Chandre, F., Berthomieu, A., Berticat, C., Pasteur, N., Philips, A., Fort, P. and Raymond, M. 2003. Insecticide resistance in mosquito vectors. Nature, 423; 137-139.

Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. 1999. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18; 6531-6535.

Yavuz O. ve Şanlı, Y. 1999. Halk Sağlığı ve Vektör Kontrolünde Kullanılan Pestisidler, Pestisid Formülasyonları ve Uygulama Seçenekleri. I. Seminer .Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri.

Zhang, J., Yang, J., Li, Y., Liu, N. and Zhang, R.Z. 2013. Genetic relationships of introduced Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* populations in Xinjiang, China. Insect Science, 20; 643-654.

Zhu, K.Y. and Clark, J.M. 1997. Validation of a point mutation of acetylcholinesterase in Colorado patato beetle by polymerase chain reaction coupled in enzyme inhibition assay. Pesticide Biochemistry and Physiology, 57; 28-35.

Zhu, K. Y., Lee, S. H. and Clark, J. M. 1996. A point mutation of acetylcholinesterase associated with azinphosmethyl resistance and reducted fitness in Colorado patato beetle. Pesticide Biochemistry and Physiology, 55; 100-108.

Zhukovsky, P.M. 1933. Zemledel‘cheskaya Turtsiya (Aziatskaya chast‘ – Anatoliya). Moscow, Leningrad.

EKLER

Ek 1. *AChE2* gen dizisi nükleotid bölgeleri

Haplotypes	**250**	**255**	**270**	**285**	**420**	**435**	**459**	**468**	**546**	**582**	**588**	**840**	**879**	**961**
Hap_1	T	G	C	A	C	A	C	C	C	C	A	C	G	G
Hap_2	T	G	C	A	C	A	C	T	T	C	A	C	G	A
Hap_3	T	A	C	A	T	G	T	C	C	T	T	T	G	G
Hap_4	T	G	T	C	C	A	C	T	T	C	A	C	G	A
Hap_5	T	A	C	A	C	A	T	C	C	T	T	T	G	G
Hap_6	C	G	C	A	T	A	T	C	C	C	A	C	G	G
Hap_7	T	G	C	C	C	A	C	C	T	C	A	C	G	A
Hap_8	T	G	C	A	T	G	T	C	C	C	A	C	G	G
Hap_9	C	G	C	A	T	G	T	C	C	C	A	C	G	G
Hap_10	C	G	C	A	T	G	T	C	C	C	A	C	G	A
Hap_11	T	G	C	A	C	A	C	C	T	C	A	C	G	A
Hap_12	T	A	C	A	T	G	T	C	C	C	T	C	G	G
Hap_13	T	G	C	A	C	A	C	C	T	C	A	C	G	G
Hap_14	T	G	C	A	T	A	C	C	C	C	A	C	G	G
Hap_15	T	G	C	C	C	A	C	T	C	C	A	C	G	G
Hap_16	C	G	C	A	T	G	T	C	C	C	A	C	A	G
Hap_17	C	G	C	A	C	A	T	C	C	C	A	T	G	G
Hap_18	C	G	T	A	T	G	T	T	T	C	A	C	A	G
Hap_19	T	G	C	A	T	G	T	C	C	T	A	C	G	G
Hap_20	T	G	C	A	C	A	T	C	C	C	A	T	G	G
Hap_21	C	G	C	A	T	G	T	C	C	C	A	T	G	G
Hap_22	T	G	T	A	C	A	C	C	T	C	A	C	G	A
Hap_23	T	A	C	A	T	A	T	C	C	T	T	T	G	G
Hap_24	T	A	C	A	T	G	T	T	C	C	A	C	G	G
Hap_25	T	G	C	A	T	G	T	C	C	C	A	T	G	G
Hap_26	T	A	C	A	C	A	T	C	T	C	A	C	G	G
Hap_27	T	A	C	A	T	G	T	C	C	C	A	T	G	G
Hap_28	C	G	C	A	C	A	T	C	C	T	A	C	G	G
Hap_29	T	G	C	A	C	A	T	C	C	C	A	C	G	G
Hap_30	T	A	C	A	C	A	T	C	C	C	A	C	G	G
Hap_31	T	A	C	A	T	G	T	C	C	C	A	C	G	G
Hap_32	T	A	C	A	T	G	T	C	C	C	A	C	A	G
Hap_33	C	G	C	A	C	A	C	C	T	C	A	C	G	G
Hap_34	T	G	C	A	C	A	T	C	C	T	A	C	G	G
Hap_35	T	A	C	A	T	G	T	C	C	T	T	C	G	G
Hap_36	T	A	C	A	C	A	T	C	C	T	T	C	G	G
Hap_37	C	G	C	A	C	A	T	C	C	C	A	C	A	G
Hap_38	T	G	C	A	T	G	T	C	C	C	A	C	A	G

Hap_39	C	G	C	A	C	G	C	C	T	C	A	C	G	G
Hap_40	C	G	C	A	C	A	T	C	C	C	A	C	G	G
Hap_41	T	A	C	A	C	A	T	C	C	T	A	C	G	G
Hap_42	T	G	C	A	C	A	T	C	T	C	A	C	G	A
Hap_43	T	G	C	A	T	G	C	C	C	C	A	C	G	A
Hap_44	T	G	T	C	C	A	C	C	T	C	A	C	G	A
Hap_45	C	G	C	A	C	G	C	T	T	C	A	C	G	A
Hap_46	C	G	C	A	C	G	C	T	T	C	A	C	G	G
Hap_47	C	G	C	A	C	A	C	T	T	C	A	C	G	A
Hap_48	C	G	C	A	T	G	T	C	T	C	A	C	G	G
Hap_49	C	G	C	A	T	G	T	C	T	C	A	C	A	G
Hap_50	T	G	T	C	C	A	C	T	T	C	A	C	G	G
Hap_51	T	A	C	A	T	A	C	T	T	C	A	C	G	G
Hap_52	T	G	C	C	C	A	C	T	T	C	A	C	G	G
Hap_53	T	G	C	C	C	A	C	T	T	C	A	C	G	A
Hap_54	T	A	C	A	C	A	T	C	T	C	A	C	G	A
Hap_55	T	A	C	A	C	A	T	C	C	C	A	T	G	G
Hap_56	C	G	C	A	C	A	C	T	T	C	A	C	G	G
Hap_57	T	G	C	A	T	G	T	C	C	T	T	T	G	G
Hap_58	C	A	C	A	T	G	T	C	C	C	A	C	A	G
Hap_59	T	G	C	A	C	A	T	C	C	C	A	C	A	G
Hap_60	T	G	C	A	C	G	T	C	C	C	A	C	G	G
Hap_61	T	A	C	A	C	G	C	C	C	C	A	C	G	G
Hap_62	T	G	C	A	C	A	C	T	C	C	A	C	G	G
Hap_63	C	G	C	A	C	A	C	T	C	C	A	C	G	G
Hap_64	C	G	C	A	C	G	C	C	T	C	A	C	A	G
Hap_65	T	G	C	A	T	A	C	T	T	C	A	C	G	G
Hap_66	T	G	C	A	C	A	C	T	T	C	A	T	G	A
Hap_67	T	G	C	A	C	A	C	C	C	C	A	T	G	A

Ek 2. İllere Göre Haplotip Dağılımı.

	AKSARAY	ANKARA	ESKİŞEHİR	KAYSERİ	KARAMAN	KONYA	NEVŞEHİR	NİĞDE	YOZGAT	SİVAS	TOPLAM
HAP-1	1	1		2		1		2			**7**
HAP-2	1						3	2	1		**7**
HAP-3	1		4		1	3	5	4			**18**
HAP-4	1			1	1	4	1		1		**9**
HAP-5	1		4	1		3	1	1	2	1	**14**
HAP-6	1										**1**
HAP-7	1										**1**
HAP-8	2	1	3			1	1			1	**9**
HAP-9	2	3	4		1	5	1	4		4	**24**
HAP-10	1										**1**
HAP-11	1						1				**2**
HAP-12	1										**1**
HAP-13		3									**3**
HAP-14		1									**1**
HAP-15		1									**1**
HAP-16		3	7	2	1	9	2	4		1	**29**
HAP-17		1									**1**
HAP-18			1								**1**
HAP-19			1								**1**
HAP-20			1								**1**
HAP-21			2			1					**3**
HAP-22			1								**1**
HAP-23			2								**2**
HAP-24			1								**1**
HAP-25			3				1	2			**6**
HAP-26					1						**1**
HAP-27					1	1					**2**
HAP-28					1						**1**
HAP-29				2		2					**4**
HAP-30				1						1	**2**
HAP-31				1		2					**3**
HAP-32				1				2			**3**
HAP-33				1							**1**
HAP-34				1							**1**
HAP-35						1	1	3		1	**6**
HAP-36						1					**1**
HAP-37						1					**1**
HAP-38						1					**1**

HAP-39						1					**1**
HAP-40						2					**2**
HAP-41						1					**1**
HAP-42						1					**1**
HAP-43						1					**1**
HAP-44						1					**1**
HAP-45						1					**1**
HAP-46						1					**1**
HAP-47						1					**1**
HAP-48						1					**1**
HAP-49						1					**1**
HAP-50						1					**1**
HAP-51							1				**1**
HAP-52							1				**1**
HAP-53							1				**1**
HAP-54								1			**1**
HAP-55								1			**1**
HAP-56								1			**1**
HAP-57								1			**1**
HAP-58								1		1	**2**
HAP-59								1			**1**
HAP-60								3			**3**
HAP-61								2			**2**
HAP-62										1	**1**
HAP-63										1	**1**
HAP-64										1	**1**
HAP-65										1	**1**
HAP-66									1		**1**
HAP-67									2		**1**
Birey sayısı	**14**	**14**	**34**	**13**	**7**	**49**	**20**	**35**	**7**	**14**	

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Burcu LAÇIN

Doğum Yeri : BAKIRKÖY

Doğum Tarihi : 03.03.1992

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Orhan Cemal Fersoy Lisesi (2010)

Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2015)

Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı (Eylül2015 – Ocak 2019)

Ulusal Kongre Sunum

Koca,A.Ö., **Laçın B.** ve Kandemir, İ.2017. Genetic variation in the invasiv potato pest, *Leptinotarsa decemlineata,* populations based on insecticide resistance-related acetylcholinesterase2 gene, 11-13 July 2017. Abstract Book, p.57, Istanbul, Turkey

Uluslararası Kongre Sunum

Koca, A. Ö., Berkcan S. B**., Laçın B**. ve Kandemir, İ. 2018. Preliminary analysis on the colonization of the potato beetle populations in Turkey using microsatellite markers. XI European Congress of Entomology, 2-6 July 2018. Abstract Book, p. 110, İtalya (Sözlü sunum)

Koca, A. Ö., **Laçın B**., Berkcan S. B. ve Kandemir, İ. 2018. Genetic variation in the invasive potato beetle populations in Turkey based on nuclear (ACHE2 gene) and mithochondrial DNA (Cytochrome Oxidase I and II Subunits) markers. XI European Congress of Entomology, 2-6 July 2018. Abstract Book, p. 295, İtalya (Poster sunumu)

Koca, A. Ö., **Laçın, B.,** Berkcan, S. B. ve Kandemir, İ. 2018. Nükleer ve mitokondriyal DNA belirteçlerine bağlı olarak Türkiye'deki istilacı patates böceği populasyonlarının genetik karakterizasyonu. Türkiye VII. Bitki Koruma Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 14-17 Kasım 2018. Özet Bildiri Kitabı, s. 49, Muğla (Sözlü sunum)