

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BÖRÜLCE TOHUM BÖCEĞİ'NİN, *Callosobruchus maculatus*(F), BÖRÜLCE VE
NOHUTTAKİ KONUKÇU ADAPTASYONLARI VE DNA POLİMORFİZMİNİN
AFLP TEKNİĞİ İLE BELİRLENMESİ**

Sedef BEREKET

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

2014

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BÖRÜLCE TOHUM BÖCEĞİ'NİN, *Callosobruchus maculatus*(F), BÖRÜLCE VE
NOHUTTAKİ KONUKÇU ADAPTASYONLARI VE DNA POLİMORFİZMİNİN
AFLP TEKNİĞİ İLE BELİRLENMESİ**

Sedef BEREKET

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

Bu tez .././2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Cengiz İKTEN

Prof. Dr. Bülent UZUN

Yrd. Doç. Dr. Fatih DAĞLI

ÖZET

BÖRÜLCE TOHUM BÖCEĞİ'NİN, *Callosobruchus maculatus*(F), BÖRÜLCE VE NOHUTTAKİ KONUKÇU ADAPTASYONLARI VE DNA POLİMORFİZMİNİN AFLP TEKNİĞİ İLE BELİRLENMESİ

Sedef BEREKET

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Cengiz İKTEN

Mayıs 2014, 35 sayfa

Bu çalışmada, börülce tohum böceğinin (BTB), *Callosobruchus maculatus* (F.), nohut ve börülce tohumlarına adaptasyonu araştırılmıştır. Adaptasyonun moleküler aşaması AFLP yöntemi ile biyolojik aşaması ise farklı baklagiller üzerinde BTB populasyonlarının yumurta sayıları ile belirlenmiştir. Adaptasyon çalışmaları sonucunda, BTB başta nohut üzerindeki yumurtlama tercihleri % 4,98 iken 8 generasyon sonunda bu oran % 23,09 olmuştur. Börülcede ise en başta yumurtlama tercihleri % 48,32 iken 8 generasyon sonunda bu oran çok değişmemekle birlikte % 47,72 olduğu saptanmıştır. Bu adaptasyon çalışmaları sonucunda ana populasyon ile birlikte nohut ve börülce populasyonları olmak üzere üç ayrı populasyon oluşturulmuş ve farklı baklagillerde performansları gözlemlenmiştir. Her üç populasyon için farklı baklagil tohumlarında yumurtlama tercihlerine bakılmıştır ve sonuçta her üç populasyon arasında çok fazla fark olmadığı, tercihlerinin birbirlerine yakın olduğu saptanmıştır. Genetik farklılıklar DNA polimorfizminin AFLP tekniği ile ortaya konulmuştur. Populasyonlar arası farklılaşmayı gösteren Gst değeri (0.046) sonucunda populasyonlar arasında genetik bir farklılık olmadığı bulunmuştur. Genetik uzaklık-benzerlik matriksi değerlerine göre hem populasyonlar arasında hem de populasyonların generasyonları arasında genetik olarak herhangi bir fark bulunmamıştır.

ANAHTAR KELİMELEER: *Callosobruchus maculatus* (F.), adaptasyon, AFLP, polimorfizm

JÜRİ: Yrd. Doç. Dr. Cengiz İKTEN (Danışman)

Prof. Dr. Bülent UZUN

Yrd. Doç. Dr. Fatih DAĞLI

ABSTRACT

ADAPTATION of COWPEA WEEVIL, *Callosobruchus maculatus*(F), on COWPEA and CHICKPEA HOST PLANTS and COMPARISON of DNA POLYMORPHISM by AFLP ANALYSIS

Sedef BEREKET

MSc Thesis in Department of Plant Protection

Supervisor: Yrd. Doç. Dr. Cengiz İKTEN

May 2014, 35 pages

In this study, host plant adaptation of cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.), was investigated on chickpea and cowpea. While molecular studies were conducted by using AFLP technique, biological adaptation was measured thru the number of eggs laid on different legume hosts. Selection based on egg laying preference on chickpea-bean seeds resulted in an increase from 4.98% to 23.09% of chickpea preference after 8 cycles of selection. On the other hand, selection with cowpea-bean seeds at the first cycle of selection was 48.32% and remained at similar levels after 8 cycles of selection (47.72%). After selection studies, three populations, “original” (unselected), “selected toward chickpea”, and “selected toward cowpea” were used for biological fitness on several legumes and DNA polymorphism. The results showed that all three populations had similar preference for egg-laying on any given legume seeds tested. The G_{st} value measured by AFLP technique was 0.046 indicating no differences among populations. The genetic distance matrix values among original and selected populations at different generations were also similar supporting the limited adaptation of egg laying preference toward different legume hosts.

KEYWORDS: *Callosobruchus maculatus* (F.), adaptation, AFLP, Polymorphism

COMMITTEE: Asst. Prof. Dr. Cengiz İKTEN (Supervisor)
Prof. Dr. Bülent UZUN
Asst. Prof. Dr. Fatih DAĞLI

ÖNSÖZ

İnsan beslenmesinde önemli rolü olan baklagillerin ekonomik öneme sahip zararlıları bulunmaktadır. Bu zararlılardan en önemlileri tohum böcekleridir. Tohum böceklerini barındıran Bruchidae familyasında bulunan börülce tohum böceği (BTB), *Callosobruchus maculatus*, dünya üzerinde depolanmış börülcelerin ve diğer baklagillerin en önemli zararlılarından biri olarak kabul edilmektedir. Büyük bir öneme sahip olmasına rağmen ülkemizde BTB hakkında çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Mevcut çalışmada zararlının börülce ve nohut tohumlarındaki adaptasyonları araştırılmıştır.

Çalışma kapsamında kullanılan tüm teknikleri ve gerekli donanımı sağlayan Sayın hocam Yard. Doç. Dr. Cengiz İKTEN'e göstermiş olduğu desteğinden dolayı teşekkür ederim. Yardımlarını esirgemeyen Akdeniz Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda bulunan hocalarım, Arş. Gör. İnci ŞAHİN, Esra ALAGÖZ ve diğer çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim. Yüksek lisans öğrenimim boyunca her zaman sevgi ve desteğini esirgemeyen annem Serpil BEREKET, babam Yaşar BEREKET, ablam Şerife BEREKET SOYTÜRK, kardeşim Hüseyin Ali BEREKET ve nişanlım Kadir HOYRAZLI'ya teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
1.GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMASI	3
2.1. <i>Callosobruchus maculatus</i> Hakkında Genel Bilgiler.....	3
2.1.1. Sistematığı ve yayılışı.....	3
2.1.2. Yaşayışı ve biyolojisi	3
2.1.3. Morfolojisi	4
2.1.4. Zararı	5
2.1.5. Mücadele	6
2.2. Kaynak Taramaları.....	6
2.3. AFLP (Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi).....	8
3. MATERYAL VE METOT	10
3.1. Materyal.....	10
3.1.1. Böcek materyali.....	10
3.1.2. Bitki materyali	10
3.1.3. Böcek yetiştirmede kullanılan materyaller	11
3.2. Metot	11
3.2.1. Börülce ve nohuttaki adaptasyonun belirlenmesinde kullanılan yöntemler	11
3.2.2. Oluşturulan populasyonların yumurtlama tercihlerinin karşılaştırılması	13
3.2.3. Generasyonlar arasındaki polimorfizmin belirlenmesi.....	14
3.2.3.1. DNA izolasyonu.....	14
3.2.3.2. AFLP	14
3.2.3.3. Poliakrilamid jel hazırlanması	17
3.2.3.4. Poliakrilamid jele örneklerin yüklenmesi ve Li-Cor cihazında koşturulması.....	17
3.2.4. Data analizi	17
4. BULGULAR.....	18
4.1. Biyolojik parametrelere ait bulgular.....	18
4.1.1. Börülce ve nohut tohumlarına adaptasyon	18
4.1.2. Populasyonların farklı baklagillerdeki performansları	18
4.2. Moleküler çalışmalara ait bulgular.....	21
4.2.1. Generasyonlar arasındaki polimorfizmi AFLP yöntemi ile ortaya koyan genetik yapıya ait bulgular	21
5. TARTIŞMA	24
6. SONUÇ	27
7. KAYNAKLAR	28
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

g	Gram
°C	Santigrad Derece
cm	Santimetre
mm	Milimetre
mg	Miligram
lt	Litre
sn	Saniye
da	Dekar
h	Saat
%	Yüzde
>	Büyüktür
bp	Baz çifti
ng	Nanogram
µl	Mikrolitre

Kısaltmalar

vd	Ve diğerleri
UV	Mor Ötesi
PCR	Polimorfik Zincir Reaksiyonu
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
RFLP	Restriksiyon Fragmenti Uzunluk Polimorfizmi
AFLP	Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
SSR	Basit Dizi Tekrarlaması
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi
BTB	Börülce Tohum Böceği

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. BTB'nin erkek ve dişi bireyleri	4
Şekil 2.2. BTB'nin nohut bitkisinde oluşturduğu zarar	5
Şekil 2.3. AFLP tekniğinde izlenen aşamalar	9
Şekil 3.1. Denemelerde kullanılan baklagil tohumları.....	10
Şekil 3.2. Denemelerde kullanılan 1 litrelik plastik kavanozlar	11
Şekil 3.3. Seleksiyon çalışmalarına ait deneme görüntüsü	12
Şekil 3.4. Yedi farklı ortamdaki baklagil tohumları	13
Şekil 4.1. Beş farklı BTB popülasyonunun 5 AFLP primer kombinasyonu ile oluşturduğu dendogram	23

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan tohum materyalleri ve özellikleri	11
Çizelge 3.2. Denemede kullanılan yedi ortamda bulunan baklagil çeşitleri	13
Çizelge 3.3. Selektif amplifikasyona ait PCR döngüleri.....	16
Çizelge 3.4. Kullanılan selektif primer kombinasyonları	16
Çizelge 4.1. BTB'nin 8 generasyonun yumurta sayıları, nohut ve börülcedeki yumurta sayılarının tercih yüzdeleri	18
Çizelge 4.2. Ana popülasyon, nohut popülasyon ve börülce popülasyonun yumurta sayıları	19
Çizelge 4.3. Ana popülasyon, nohut popülasyon ve börülce popülasyonun yumurtlama yüzdeleri	20
Çizelge 4.4. BTB popülasyonları için 5 AFLP primer kombinasyonu ile hesaplanan genetik çeşitlilik değerleri.....	21
Çizelge 4.5. AFLP tekniği ile beş farklı BTB popülasyonu için hesaplanan gen çeşitliliği, genetik farklılaşma ve gen akışı parametreleri	22
Çizelge 4.6. Beş farklı BTB popülasyonun 5 AFLP primer kombinasyonu ile oluşturduğu genetik uzaklık-benzerlik matrisi	22

1.GİRİŞ

Baklagiller (Fabaceae) dünyanın en geniş üç bitki familyasından birisidir (Ceyhan 2007). Fabaceae familyası Dünyada 350 cins içerisinde 10,000 türü, Türkiye’de ise yaklaşık 61 cins içerisinde 900’den fazla türü bulundurmaktadır (Tabur vd 2009).

Yemelik baklagiller, bitkisel üretimde; beslenme, ekim nöbeti ve ekonomik yönden önemli bir yere sahiptir. Yemelik baklagillerin kuru taneleri; bileşiminde %18-36 oranında protein içermelerinin yanı sıra proteinlerinin sindirilebilme dereceleri de (%78) oldukça yüksektir. Ayrıca yemelik baklagillerin kuru taneleri, vitamin (A,B,C,ve D) ve mineral maddelerce de zengin olup proteinleri, mutlak gerekli aminoasitler yönünden hayvansal proteinlere yakın değerler göstermektedir. Bu özelliklerinden ötürü, gelişmekte olan ülkelerde düşük proteinli ve yüksek enerjili besinlerin eksikliklerini giderici olarak, o ülkelerde kültürü yapılan yemelik baklagilin daha fazla kullanılma olanağı bulunmaktadır (Çiftçi 2004).

Türkiyede kuru baklagillerin 2013 yılında toplam ekim alanı 8,066,462 dekar, toplam 1,147,735 ton üretilmiştir. Toplam üretimin %44’ü nohut, % 34’ü kırmızı mercimek, % 17’si fasulye ve % 5’i diğer baklagillerdir (TUİK 2013).

Baklagillerin, tarla ve depolanma aşamasında önemli kayıplara sebep olan zararlıları vardır. Bu zararlılar içerisinde Coleoptera takımı Bruchidae (Baklagil tohum böcekleri) familyasına bağlı türler, meydana getirdikleri kayıplar nedeniyle ayrı bir önem taşımaktadır (Turanlı ve Kısmalı 2011).

Bruchidae familyasının en az 30 türü, önemli zararlıları kapsamaktadır ve bunlardan en az 9’u kozmopolit zararlıdır (Kingsolver 2004). Bruchidae familyasının bazı türleri yenilebilir baklagil depolarındaki ürünleri yok etme yeteneğindedir (Kingsolver 2004). Bu familyada bulunan *Bruchus*, *Callosobruchus* ve *Acanthoscelides* cinsleri en zararlı türleri kapsamaktadır. *Callosobruchus* cinsi içerisinde en az 20 tür bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri: *Callosobruchus chinensis* (L), *Callosobruchus analis*(F), *Callosobruchus maculatus* (F)’tur. Dünya genelinde BTB’nin depolanmış bürülcelerin ve diğer baklagillerin en önemli zararlısı olduğu (Taylor 1981) ve orijininin ise Batı Afrika olduğu düşünülmektedir (Decelle 1981). Bürülce tohum böceğinin zararı 6 ayda %90, mücadele edilmediği takdirde ise %100’e kadar ulaşmaktadır (ICRISAT 1992, Seck vd 1996).

Böcekler okyanus derinlikleri dışında yeryüzünde kutuptan ekvatora, yüksek dağlardan denizlere kadar her alana yayılmışlardır. Her türlü iklim koşuluna adapte olmuşlardır. Geniş alanlara yayılabildikleri gibi bir böcek buğday tanesi içinde bile hayat devrelerini tamamlayabilir. Bu derece başarılı olmalarındaki etken evrimsel gidişlerinin büyük adaptasyon kabiliyetine imkan vermesidir (Anonim, 2001). Herbivor böcek popülasyonlarının yeni tanıdığı bitkilere hızlı adaptasyon gerçekleştirdiği ve farklı, alışılmamış konukçularda da genetik varyasyondan dolayı adaptasyon gözlemlendiği saptanmıştır (Messina vd 2009). Konukçu değişimi ile ekolojik çeşitlilik herbivor böceklerin çeşitliliğini arttırmada katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Matsubayashi vd 2010, Nosil vd 2012) Doğada herbivor böceklerin konukçu

değişiminin genetik değişiklik mi yoksa fenotipik değişiklik mi olduğu kolay bir şekilde fark edilememektedir (Malaua vd 2007). Börülce tohum böceği gibi kültür bitkilerinde zararlı böcek populasyonlarını daha iyi tanımamız amacıyla konukçu seçiminde genetik varyasyon ve çevresel faktörlerin etkisinin tespiti önem kazanmaktadır.

C. maculatus ile ilgili ülkemizde yapılan çalışmalarda Özar ve Genç (1987) zararını, Tamer (1996) farklı sıcaklık ve konukçuda gelişme sürelerini, Mergen ve Çağatay (1996) sistematüğını, Ferizli vd (2004) farklı sıcaklıktaki ölüm oranlarını, Erler vd (2009) dayanıklı çeşitlerin araştırılmasını, Kutbay vd (2011) yüksek basınç altında karbondioksitin etkisini, Turanlı ve Kısmalı (2011) yayılışlarını çalışmışlardır. Ancak ülkemizde börülce tohum böceği üzerine adaptasyon ya da genetik çalışmalara rastlanılmamıştır.

Bu nedenle, yapılan tez çalışmasında BTB'nin börülce ve nohut tohumlarına yumurta bırakma tercihleri ve adaptasyonları araştırılarak, generasyonları arasında bulunan genetik farklarının moleküler bir teknik olan AFLP tekniğı ile ortaya konulması, nohuta ve börülceye adaptasyonu sağlanan populasyonların ve ana populasyonun farklı baklagil tohumlarındaki performanslarının incelenmesi amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMASI

2.1. *Callosobruchus maculatus* Hakkında Genel Bilgiler

2.1.1. Sistematığı ve yayılışı

C. maculatus Coleoptera takımı, Chrysomeloidea üst familyası ve Bruchidae familyası içerisinde yer almaktadır. Bu takıma ait zararlılar içerisinde Bruchidae (Coleoptera) (Baklagil tohum böcekleri) familyasına bağlı türler, meydana getirdikleri kayıplar nedeniyle ayrı bir önem taşımaktadır (Turanlı ve Kısmalı 2010).

Antartika ve Yeni Zelanda dışında her kıtada Bruchidea (tohum böcekleri) familyası türlerine rastlanılmaktadır (Kingsolver 2002). Tohum böceklerinin büyük bir kısmı Asya, Afrika ve Orta ve Güney Amerika'nın tropikal bölgelerinde bulunmaktadır (Southgate 1979). Bruchidae familyasına bağlı Baklagil tohum böcekleri özellikle bakla, bezelye, nohut, börülce, fasulye ve mercimek gibi yemeklik bitkiler ile yonca, tırfıl, fiğ, korunga gibi yem bitkilerinde önemli zararlara neden olurlar (Lodos 1998, Seçkin 1981). Bruchidea familyasında bulunan *Callosobruchus* cinsi dünyanın özellikle sıcak bölgelerinde baklagil depolarındaki tohumlarda önemli zararlar yapmaktadır (Angus vd 2010). *Callosobruchus* cinsi içerisinde en az 20 tür bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri: *Callosobruchus chinensis* (L), *Callosobruchus analis* (F), *Callosobruchus maculatus*(F) türleridir.

Callosobruchus cinsi içerisinde en yaygın olanı BTB'dir. *Callosobruchus maculatus* dünya üzerinde depolanmış börülcelerin ve diğer baklagillerin en önemli zararlılarından olup (Taylor 1981), orijininin ise Batı Afrika olduğu düşünülmektedir (Decelle 1981). BTB 1775 yılında Fabricus tarafından ilk defa tanımlanmıştır. Alkan (1966)'a göre Türkiye'de ilk defa 1952 de var olduğu gösterilen zararlı, ülkemizde yaygın ve yerleşik bir türdür.

2.1.2. Yaşayışı ve biyolojisi

BTB'nin dişileri tohum yüzeyine yumurtalarını yapıştırarak koymaktadır (Messina vd 2009). Dişiler bir tohuma yumurta koyarken larva rekabetini önlemek için tohumdaki yumurta sayısına göre yumurtlamaktadır, ama bazen konukçu bulamadığında uygun olmayan yüzeylere de yumurta koymaktadır (Wang ve Horn 2004, Cheng vd 2008). Ovipozisyon süresi 8-10 gün devam etmektedir (Beck ve Blumer 2006). Yaklaşık 4-5 gün sonra (26-28°C) yumurtadan çıkan birinci dönem larvalar tohum kabuğunu delerek tohum içerisine girmektedir (Fox vd 1993). Tohuma giren larva tohumun nişasta deposu olan kotiledon taslaklarından beslenmeye başlamaktadır (Farias vd 2007).

Gelişim tamamen tek bir tohumda gerçekleşmektedir (Messina vd 2009). *C.maculatus* tek bir tohum içinde dört larva evresi ve pupa dönemi geçirmektedir (Fox vd 1993). Dördüncü dönem larva pupa dönemine geçmeden hemen önce tohum kabuğunun hemen altındaki yeri yiyerek pencere açmakta ve pupa döneminden sonra erginin buradan kolayca çıkmasını sağlamaktadır (Ojmelukwe ve Ogwumike 1999). Tohumdan çıkan erginler ne su nede yiyecek tüketirler, tohumdan çıktıktan birkaç saat

sonra çiftleşmektedir ve ardından yumurta koymaya başlamaktadır (Messina vd 2009). Erginler ortaya çıktıktan 10-12 gün sonra ölmektedirler (Credland 1987).

Moreno vd (2000), *C. maculatus*'un bürülcede farklı koşullarda gelişimini incelemiştir: Yumurta dönemi ortalama 6.48 gün, larva 31.84 gün, prepupa 3.41 gün, pupa dönemi 3.67 gün sürmüştür. Ergin dişinin ömrü 11.45 gün, ergin erkek ise 10.9 gün ve dişilerin ovipozisyon süresi ortalama 10.2 gün olarak saptanmıştır. Toplam 63.42 yumurtanın %46 oranında verimlilik gösterdiği saptanmıştır (23.48°C, %74.85 bağıl nem).

Araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda BTB'nin büyüme ve gelişmesini; tohumdaki besin değerlerinin miktarı, sıcaklık ve nem, konukçunun büyüklüğü, annenin yaşı, nüfus yoğunluğu, rekabet ve *C. maculatus*'un ırkları etkilemektedir (Malaikozhundan ve Raj 2011).

2.1.3. Morfolojisi

BTB'nin uçan (dispersal) ve uçamayan (sedentary) olmak üzere iki formu bulunmaktadır. Laboratuvar kültüründe ya da baklagil depolarında yüksek sayıda larva olması ve yüksek sıcaklık (30°C ve üzeri) sonucu uçucu formlar ortaya çıkmaktadır. Bunun sonucunda daha kaliteli alanlara ulaşmaktadırlar (Utida 1954, 1972). Uçan form uzun ömürlü ancak düşük doğurganlık gösterirken, uçamayan form kısa ömürde yüksek doğurganlık göstermektedir (Utida 1954, 1972).

Erginler yaklaşık 2.5-3.5 mm büyüklüğündedir; antenler dişli, fakat tarak şeklinde değildir; vücut oval bir izdüşüme sahiptir. Elitra üzeri ince tüylerle kaplı, zemin pas renginde, 2 yanda kahverengi veya siyah 2 benek bulunur; bu benekler özellikle dişilerde belirgindir ve bir 'X' şekli oluştururlar (Özgür 1996).

Dişi ve erkek bireyler arasında morfolojik olarak farklılıklar gözlemlenerek fark edilebilmektedir (Beck ve Blumer 2006). Dişi bireylerde elytra rengi siyah olup üzerinde kahverengi desenler bulunmaktadır ve abdomenin dorsal kısmının her iki tarafında koyu çizgiler bulunmaktadır (Beck ve Blumer 2006). Dişi vücudu erkeklere göre %17.1 oranında daha ağırdır (Colgoni ve Vamosi 2006). Erkek bireylerde elytra açık kahverengi renginde olup abdomen kısa ve şerit bulunmamaktadır. Erkek bireylerin anteni %15.3 oranında dişilerden uzun olmaktadır (Colgoni ve Vamosi 2006).



Şekil 2.1. BTB'nin erkek ve dişi bireyleri

2.1.4. Zararı

Callosobruchus maculatus tarlada ürünler olgunlaştığında yumurtlar, ancak genellikle hasattan sonra ortaya çıkmaktadır (Booker 1967), depolama aşamasında ikincil istilaya neden olur ve 3 ayda bütün ürünün kaybına neden olabilmektedir (Singh ve Jackai 1985). *C. maculatus*'un tarla döneminde sadece börülcede, depolama döneminde ise börülce, nohut, bakla, mürdümük, mercimek ve soya fasulyesinde zararlı olabildiği saptanmıştır (Yücel ve Özer 1989).

BTB tarafından saldırıya uğrayan depolanmış baklagiller üzerindeki etkiler; ağırlık kaybı, besinsel değişimler, düşük çimlenme oranı ve ekonomik kayıplar olarak sıralanmaktadır (Tamer 1996).

Börülce tohum böceğinin zararı 6 ayda %90, mücadele edilmediği takdirde ise %100'e kadar ulaşmaktadır. (ICRISAT 1992, Seck vd 1996). Keyder ve ark. (1973) tarafından Marmara Bölgesinde BTB'nin tarlada bulaşma oranının ortalama %27.4, yeni mahsulde depolamada %7.3 ve eski mahsulde ise %100 olduğu bildirilmektedir.



Şekil 2.2. BTB'nin nohut bitkisinde oluşturduğu zarar

Ege bölgesi'nde Uşak ili Eşme ilçesinde börülce ekim alanlarında, hasat dönemi örneklerinde zararının neden olduğu bulaşma oranı ortalama %11.2, ağırlık kaybı oranı ortalama %0.087, 6 aylık ambarlama süresini dolduran örneklerde ise bu oranlar sırasıyla ortalama %36.4 ve %0.7 olarak saptanmıştır. Ayrıca zararlı için uygun koşullarda zararın 2 ay gibi kısa bir sürede %100 düzeyine dek çıktığı gözlenmiştir. Buna ek olarak salt tarla dönemi bulaşmasının çimlenmeyi ortalama %15.2 oranında geriletmediği saptanmıştır (Özar ve Genç 1993).

2.1.5. Mücadele

Geleneksel kimyasallar, tohum koruyucular ve fumigantlar yoğun depolanmış ürünlerde BTB'nin zararlarını kontrol etmek için dünyada kullanılmaktadır. Ancak böceğin larva dönemi tamamen tohum içerisinde geçtiği için kontrolü zor olmaktadır (Loganathan vd 2011). BTB'nin kontrolünde bitkisel yağlar (Osekre ve Ayertey 2002, Sodeke vd 2010), biyolojik mücadele (Mahdneshin vd 2011, Kapila ve agarwal 1995, Soundararajan vd 2012), dayanıklı çeşit (Dabire vd 2004), düşük ve yüksek sıcaklık (Loganathan vd 2011) ve bitki repellentleri kullanılmaktadır.

2.2. Kaynak Taramaları

Tamer A. (1996), *C. maculatus* ve *Acanthoscelides obtectus*'un farklı sıcaklık, nem ve konukçuda (börülce, nohut, fasulye, barbunya ve bakla) gösterdiği gelişme sürelerini incelemiştir. *C. maculatus* 'un ilk ergin çıkışı 25 ° C de börülce ve nohutta sırasıyla 23. gün ile 27. günde; 32 ° C de ise sırasıyla 14. gün ve 18. günde olmuştur. Bununla birlikte her iki sıcaklıkta fasulye, barbunya ve baklada fazla sayıda yumurta görülmesine rağmen ergin çıkışının olmadığı saptanmıştır.

Turanlı ve Kısmalı (2011), Denizli ve Uşak illerinde üreticilerin farklı depolama koşullarında sakladıkları baklagillerde Bruchidae familyası türlerinin varlığı ve bu türlerin tohumlar (nohut, fasulye, mercimek, fiğ, börülce, mürdümük, bezelye, bakla) üzerinde kalite ve kantitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Zarar görmüş nohut ve börülce tohumlarından elde edilen erginler, *Callasobruchus maculatus*; fasulye, nohut, mercimek, fiğ ve börülce tohumundan *Acanthoscelides obtectus*; fiğ, yerli fiğ, mürdümük ve bezelye tohumundan çıkan erginler ise *Bruchus emerginatus* oldukları tespit edilmiştir.

Sadozai vd (2003) börülce tohum böceğinin, nohut, maş fasulyesi, börülce, fasulye, bezelye ve mercimek tohumları arasındaki tercihleri saptanmıştır. Çalışmada bırakılan yumurta sayısı, ergin çıkışı, gelişim periyodu, cinsiyet oranları, yüzde hasar ve ağırlık kaybı gibi biyolojik parametrelere bakılmıştır. En çok yumurta bezelyede en az ise mercimekte görülmüştür. Ergin çıkışı, yüzde hasar, yüzde ağırlık kaybı en yüksek maş fasulyesinde ve börülcede, en düşük ise bezelyede görülmüştür. Çalışmada tohum böceğinin mercimek ve fasulye tohumuna hiç zarar vermediği saptanmıştır.

Messina vd (2009), *C. maculatus*'un ata konukçusu maş fasulyesinden nadiren zarar yaptığı mercimeğe adaptasyonunu araştırmıştır. Yapılan çalışmada larvanın hayatta kalma oranı giderek artmış, laboratuvar seçimlerinde 20 generasyon sonunda %2'den % 85'e çıkmıştır. Doğal seleksiyon çalışması yanında yapay seleksiyon çalışması yapılmıştır. Ana popülasyon dişilerinden kısa sürede yüksek ya da düşük yumurtlamalarına göre dişiler seçilmiştir. Bu yapay seleksiyon dişilerinin doğal seleksiyon dişilerine göre yeni konukçuyu daha kısa sürede tanıdığı saptanmıştır. Araştırmada larvanın hayatta kalması ile konukçuyu kabul etme arasında genetik bir ilişki bulunmamıştır. Bu çalışmada yumurtlama davranışının değişimi larvanın hayatta kalmasını arttırmadığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak börülce tohum böceği'nin sahip olduğu yeterli genetik varyasyon hem larva fizyolojisi hem ergin davranışının izin verdiği ölçüde çok fakir bir konukçuya hızlı adapte olabildiğini göstermiştir.

Messina ve Karren (2002), *C. maculatus* dişilerinin küçük tohumlu maş fasulyesi ile büyük tohumlu börülce üzerine yumurtlamalarını ve larva gelişimini incelemişlerdir. Maş fasulyesine adapte olan börülce tohum böceği, maş fasulyesinin her tohumunda 1 veya 2 larvası gelişebildiği saptanmıştır. Bu populasyon daha iri taneli olan börülceye transfer edilmiş, zamanla adaptasyonu sağlanan böcekler 40 generasyon sonunda börülce tohumuna daha fazla yumurtlamaya başlamış, yumurta koyma homojenliği daha az olmuştur. Araştırmaya göre börülce tohumları daha iri olduğundan larva rekabeti azalmış ve böcekler daha kolay yumurta koyabilmiştir.

Torres-Vila ve Rodriguez-Molina 2013), Avrupa asma güvesinin (*Lobesia botrana*) defneden (*Daphne gnidium* L.) asmaya (*Vitis vinifera*) konukçu değişimini; larvanın hayatta kalması, ergin ağırlıklarını ve gelişme zamanlarını araştırmışlardır. Bu araştırma sonucunda larvanın hayatta kalma oranı asmada artmış, erginin ağırlığı her iki konukçunun yaz generasyonlarında aynı olduğu bulunmuştur. Bağlarda Avrupa asma güvesinin avlanma riski düşmüş, bu faktörden dolayı bağda adaptasyonun daha iyi olduğu düşünülmüştür.

Diegisser vd (2008), Meyve sineğinin (*Tephritis conura*) orijinal konukçusu olmayan iki farklı devedikeni ırklarında meyve sineğinin performanslarını araştırmıştır. Bu araştırma sonucunda meyve sineğinin *Cirsium heterophyllum* ırkının *Cirsium oleraceum* ırkına göre daha düşük performans sergilediği, bitkiye giriş daha az ve larvada yüksek ölüm oranı olduğu saptanmıştır.

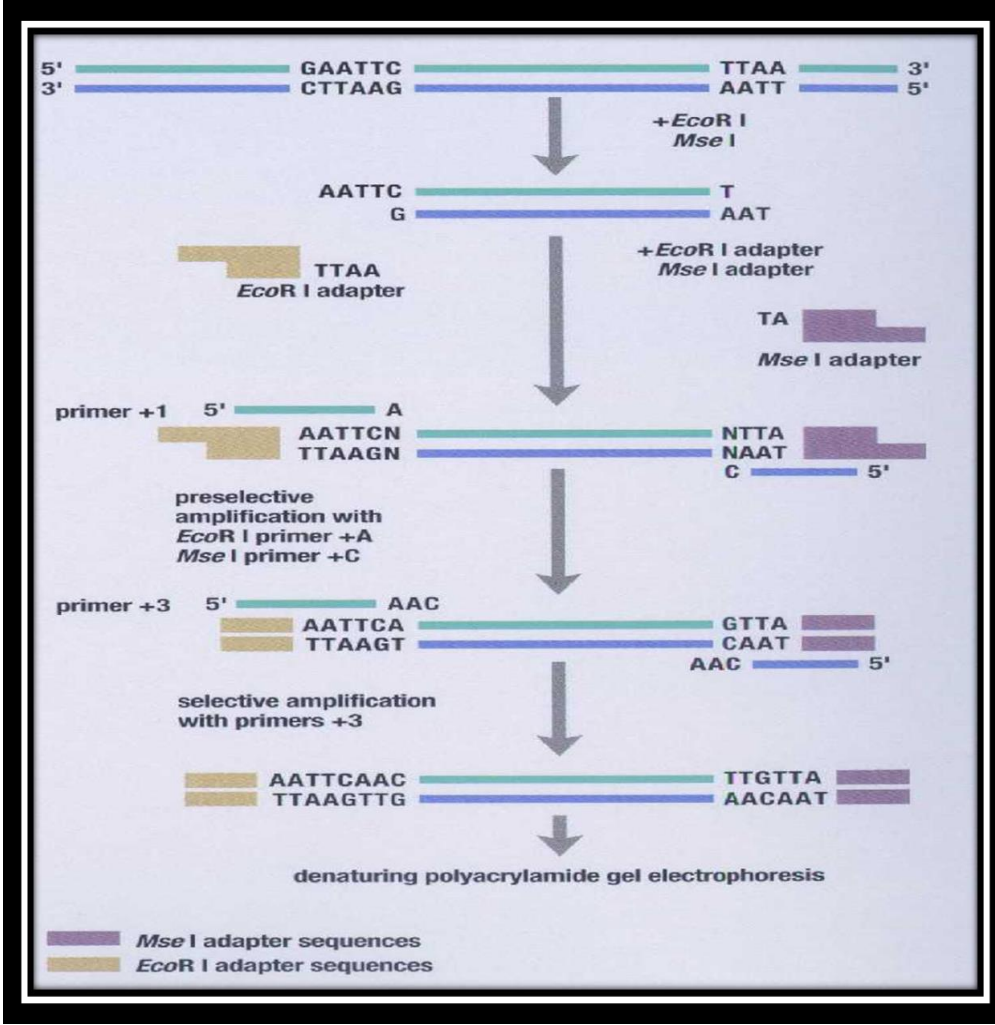
Shiral ve Morimoto (1999), fitofag uğur böceğinin (*Epilachna yasutomii*) yabani mavi ot bitkisinde (*Caulophyllum thalictroides*) beslenen populasyon ile kültür bitkisi patateste beslenen populasyonları kıyaslamışlardır. ANOVA sonuçlarına göre populasyonların beslenmeleri; yaşam özelliklerini, bir dişi başına belirlenen yumurta sayısını ve kışı geçiren dişilerin ömürlerini etkilemiştir. Patateste beslenen populasyonda, daha iri dişiler, yüksek nüfus artış hızı, kısa bir larva gelişim dönemi ve kışı geçirmiş dişiler daha kısa ömürlü olduğu saptanmıştır. Bu bulgulara göre, *Epilachna yasutomii* yabani mavi otta uzun bir ömürde düşük doğurganlık gerçekleştirirken, kültür patates bitkisinde kısa ömürde yüksek doğurganlık olduğu saptanmıştır, bunun sebebinin de konukçu değişikliği olduğu düşünülmektedir.

Fox (1993), ovipozisyon yada konukçular için beslenme tercihi arasında pozitif genetik korelasyon varlığı ve bu konukçulardaki performansı, konukçu ırk oluşum modelleri, simpatrik türleşme ve fitofag böcek populasyonları için genetik varyasyon bakımından büyük bir önem taşıdığını belirtmektedir. *Callosobruchus maculatus*'un konukçu tercihi ve performansı arasında pozitif genetik korelasyonun var olup olmadığı incelenmiştir. Bay Area populasyonunda tercih ve performans arasında yüksek seviyede genetik varyasyon tesbit edilmiş ama diğer Davis populasyonunda yüksek seviyede genetik varyasyon tesbit edilmemiştir. Denemeler başlamadan üç generasyon laboratuvarında yetiştirilmesinden dolayı Davis populasyonunda önemli nonzero kalıtımlarının yokluğu hipotezi desteklemektedir. Tercih ve herhangi bir performans karakteri arasındaki No pozitif genetik korelasyonlar tesbit edilmiştir. Verilerde ayrıca *Vigna angularis* ve *Vigna unguiculata* tohumlarında performansları arasındaki genetik korelasyonlar saptanmıştır. Sonuçta, genetik korelasyon *C. maculatus* populasyonlarında tüm karakterler için pozitif olarak bulunmuştur.

2.3. AFLP (Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi)

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) yeni bir markır sistemi olarak Vos ve arkadaşları tarafından 1995 yılında geliştirilmiştir (Vos vd 1995). AFLP (Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizm tekniği), RFLP tekniğinin kesme-tanıma kısımlarının PCR ile çoğaltılmasına dayalı bir DNA markır tekniği olup nükleotid dizisiyle ilgili hiçbir bilgi gerekmeden polimorfizmi tesbit edebilen PCR tabanlı bir yöntemdir (Mikkonen vd 2005).

AFLP tekniği, kesim enzimleriyle kesilmiş DNA parçalarının seçici primerler ile çoğaltımı olup ardışık üç aşamadan oluşmaktadır: İlk olarak restriksiyon enzimleriyle DNA'lar kesilir. AFLP tekniğinde EcoRI, AseI, HindIII, ApaI ve PstI gibi seyrek kesim yapan enzimler ile MseI ve TagI gibi sıklıkla kesim yapan enzimler kullanılabilir. Kesilen DNA'nın uçlarına adaptör denilen sentetik DNA dizileri (10-30 baz uzunluğunda) bağlanmaktadır (ligasyon). Ligasyon ürünleri birer baz ilave edilmiş primerlerle PCR yapılmakta ve elde edilen PCR ürünleri 3 baz ilave edilmiş primerlerle (primerlerin birisi radyoaktif veya floresan ile işaretlenmekte) seçici PCR tabi tutulmaktadır. PCR ürünleri poliakrilamid jelde yürütülerek oluşan polimorfizme göre sonuçlar değerlendirilmektedir.



Şekil 2.3. AFLP tekniğinde izlenen aşamalar

Bu tekniğin uygulanmasının pahalı olması ve amplifike olmuş bantların görüntülenmesinde radyoaktif madde veya floresans boyama istemesi bu yöntemin uygulanmasını sınırlamaktadır. Tek bir reaksiyonda 30-150 bölge tanımlanabilmesi, sonuçların tekrarlanabilir olması en önemli avantajını oluşturmaktadır. Bu yöntem otomasyona uygun olması, çok sayıda markır üretmesi ve yüksek çözünürlüğü nedeniyle büyük avantajlar sağlar. Bu da özellikle genetik haritalama çalışmalarında kısa sürede çok miktarda markır oluşturulabilmesini ve genetik haritanın markırlarla iyi bir şekilde doyurulmasını sağlar (Vos vd 1995).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Böcek materyali

Bu çalışma, börülce tohum böceği (BTB) olarak bilinen *Callosobruchus maculatus*'un Eylül 2009 yılında Isparta'dan toplanan popülasyonları üzerinde yapılmıştır. Böcek materyali tez için kullanılmadan önce 1 litrelik üstü sık dokulu tül ile kaplı plastik kavanozlarda nohut ve börülce üzerinde çoğaltılmıştır. Bu popülasyon Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünün, $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve 16:8 (aydınlık:karanlık) fotoperiyot koşullarındaki iklim odasında muhafaza edilmiştir.

3.1.2. Bitki materyali

Bu çalışmada 6 farklı (çeşit-tür) nohut, *Cicer spp*, 1 çeşit börülce, *Vigna unguiculata* l., 1 çeşit fasulye, *Phaseolus vulgaris* L., olmak üzere 8 ayrı genotip kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan nohut çeşitleri Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Uygulama Alanında yetiştirilmiştir.



Şekil 3.1. Denemelerde kullanılan baklagil tohumları

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan tohum materyalleri ve özellikleri

Genotip	Latincesi	Özellikleri	Orijini
CA2969	<i>Cicer arietinum</i> L.	Tek yıllık	İspanya
YAR	<i>Cicer arietinum</i> L.	Tek yıllık	Meksika
ICC4969	<i>Cicer arietinum</i> L.	Tek yıllık	ICRISAT
AWC613	<i>Cicer reticulatum</i> Ladiz.	Tek yıllık	Türkiye
AWC304	<i>Cicer echinospernum</i> P.H.Davis	Tek yıllık	Türkiye
AWC603	<i>Cicer echinospernum</i> *reticulatum	Tek yıllık	Türkiye
-	<i>Vigna unguiculata</i> Walp.	Tek yıllık	Afrika
-	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Tek yıllık	Amerika

3.1.3. Böcek yetiştirilmede kullanılan materyaller

BTB'nin nohutta ve börülcedeki adaptasyon çalışmalarında 1 litrelik plastik kavanozlar kullanılmıştır. Kavanozların üstü sık dokulu tül kullanılarak ambalaj lastiği ile sabitlenerek kapatılmıştır.



Şekil 3.2. Denemelerde kullanılan 1 litrelik plastik kavanozlar

3.2. Metot

BTB'nin börülce ve nohuttaki adaptasyonlarını belirlemek için yumurtlamanın gerçekleştiği ancak, gelişiminin tamamlanmadığı fasulye tohumları ile seleksiyon gerçekleştirilmiş ve seleksiyon sonucunda farklı konukçulardaki yumurta sayılarının yüzde oranları belirlenmiştir. Seleksiyon sürecinde farklı generasyonlar arasındaki polimorfizmi ortaya çıkarmak amacıyla DNA izolasyonu, agaroz jel elektroforezi, AFLP tekniği ve poliakrilamid jeller kullanılmıştır.

3.2.1. Börülce ve nohuttaki adaptasyonun belirlenmesinde kullanılan yöntemler

Bu yöntem *Callosobruchus maculatus*'un yumurtladığı fakat üzerinde gelişemediği bilinen fasulye ile yumurtladığı ve yaşadığı bilinen nohut (CA2969) veya

börülce konularak BTB erginlerinin iki konukçu arasında ovipozisyon tercihi yaparak yumurtaların sayılmasını içeren bir yöntemdir.

Bitki materyallerini herhangi bir bulaşıklık riskine karşı 60°C’de bir gün süre ile inkübatörde bekletilmiştir. 1 litrelik plastik kavanoza önce 100’er adet sayılan nohut (CA2969) ve fasulye, ardından başka bir plastik kavanoza 100’er adet börülce ve fasulye konulmuştur. 2009 yılından seleksiyonların başlatılacağı tarihe kadar nohut ve börülce tohumları üzerinde geliştirilen ana populasyondan yeni çıkış yapan erginler aspiratör yardımıyla tek bir kaptan toplanmıştır. Daha sonra eşit ve yeterli olacak şekilde börülce-fasulye ve nohut-fasulye tohumları içeren kavanozlara bırakılmıştır. Erginlerin 5 gün tohumlar üzerinde yumurtlamalarına izin verilmiş daha sonra plastik kavanozlardan uzaklaştırılmıştır. Alınan böcekler -20°C’de DNA analizleri için saklanmıştır. Seleksiyon testlemelerinin tamamı; 26±1 °C sıcaklık, 16:8 (aydınlık:karanlık) fotoperiyot ve %60±5 nem koşullarına sahip iklim odalarında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.3. Seleksiyon çalışmalarına ait deneme görüntüsü

Erginler uzaklaştırıldıktan 3 gün sonra tohumlardaki yumurta sayımları yapılarak böcek popülasyonunun hangi tohumu daha çok tercih ettiği saptanmıştır. Yumurta sayımları yapılan ve BTB’nin üzerinde yaşayamadığı bilinen fasulye tohumları plastik kaptan uzaklaştırılmıştır.

Her bir ayrı kavanozda börülce ve nohut tohumlarından ergin çıkışları gerçekleştiikten sonra yine 1 litrelik yeni kavanozlara 100’er adet nohut-fasulye ve 100’er adet börülce-fasulye konularak yeni nesil seleksiyon ortamı hazırlanmıştır. Nohuttan çıkış yapan erginler nohut+fasulye ortamına, börülceden çıkış yapan erginler börülce+fasulye ortamına bırakılmıştır. Daha sonra yine aynı işlemler yapılmıştır. 5 gün

sonra böcekler uzaklaştırılmış, ardından 3 gün sonra tohumdaki yumurtalar sayılmıştır. Yapılan bu çalışmalar aynı şekilde 8 generasyon boyunca gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Oluşturulan populasyonların yumurtlama tercihlerinin karşılaştırılması

Bu testlemede; ana populasyondan 8 generasyon boyunca nohuta ve börülceye adaptasyonu sağlanmaya çalışılan nohut populasyonu ve börülce populasyonları ile laboratuvar ortamında seleksiyona tabii tutulmayan ana populasyon eş zamanlı olarak kullanılmıştır.

Denemede 6 cm çapında plastik petri kapları kullanılmıştır. Her bir petri kabının içine iki farklı baklagil tohumları konulmuştur.

Çizelge 3.2. Denemede kullanılan yedi ortamda bulunan baklagil çeşitleri

1	2	3	4	5	6	7
YAR	AWC603	AWC613	AWC304	ICC4969	BÖRÜLCE	BÖRÜLCE
CA2969	CA2969	CA2969	CA2969	CA2969	CA2969	FASULYE

Yukarıdaki çizelgede oluşturulan 7 farklı ortam ve içindeki baklagil çeşitleri yer almıştır. Ergin dişi yumurtlama tercihini ortaya koyacak bu ortamlar ana, nohut ve börülce populasyonları için ayrı ayrı hazırlanmıştır ve her birinden üçer tekerrür deneme kurulmuştur. Ana ve nohut populasyonlarının 12. generasyonu; börülce populasyonun ise 16. generasyonu kullanılmıştır. Her bir ortama 15'er adet dişi ve erkek birey konulmuştur ve ergin dişilerin 5 gün yumurtlamasına izin verildikten sonra (26 ± 1 °C sıcaklık, 16:8 fotoperyot ve 60 ± 5 nem koşullarına sahip iklim odalarında gerçekleştirilmiştir.) böcekler uzaklaştırılmıştır ve 3 gün bekletildikten sonra tohumların yüzeyindeki yumurtalar sayılmıştır. Yumurta sayıları sonuçlarına göre istatistiksel olarak *t* testi (LSD) uygulanmıştır.

Bu yumurta sayıları neticesinde ana, nohut ve börülce populasyonlarının farklı baklagil tohumlarına karşı tercihleri saptanmıştır.



Şekil 3.4. Yedi farklı ortamdaki baklagil tohumları

3.2.3. Generasyonlar arasındaki polimorfizmin belirlenmesi

3.2.3.1. DNA izolasyonu

Ana popülasyonundan 30 birey, nohut popülasyonunun dördüncü seleksiyon generasyonundan 29, yedinci seleksiyon generasyonundan 30 birey, börülce popülasyonunun dördüncü seleksiyon generasyonundan 30, yedinci seleksiyon generasyonundan 29 adet birey olmak üzere toplam 148 bireyin DNA izolasyonu CTAB metoduna göre yapılmıştır.

CTAB metoduna göre; her birey 1,5 ml'lik mikrotüplerin içerisine konulmuştur ve üzerine 450µl CTAB çözeltisi konulmuştur. Daha sonra böceklerin ezilmesi için her tüpe bir adet kullanmak şartıyla pestil adı verilen plastik ezme çubukları kullanılmıştır. Parçalanmış bireylerin hücre özütleri 3 saat boyunca 60°C'de inkübasyonda tutulmuştur. İnkübasyondan alınan örneklerin proteininden uzaklaştırılması için 600µl kloroform-izoamil alkol (25:1) çözeltisi konularak hafifçe çalkalanmıştır. Ardından tüpler 15 dakika boyunca 14000 rpm hızında santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen örneklerde tüpün alt kısmında kloroform, orta kısmında protein ve üst kısmında ise DNA bulunan sıvı ile birlikte üç faza ayrılmıştır. Tüpün içerisinde DNA'nın bulunduğu üst faz (süpernatant) 1,5ml'lik temiz tüplere alınmıştır. Temiz tüpe aktarılan bu fazdaki DNA'nın çökmesi için 600 µl -20°C'de bulunan izopropanol konulmuştur ve ardından -20°C'deki dondurucuya konularak 1 gece bekletilmiştir. Bir sonraki gün -20°C'den alınan örnekler 14000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra tüpün dibinde beyaz bir pelet olduğu gözlenmiştir. Pelet yerinden oynatılmadan tüpün içerisindeki sıvı boşaltılmıştır, ardından içerisine DNA'nın daha temiz olması için -20°C'de bulunan %70'lik etanolden 600 µl konulmuştur ve 14000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra tekrar pelete zarar vermeden içerisindeki sıvı boşaltılmıştır ve tüp 20-30 dakika ters çevrilerek kalan etanolün uzaklaşması sağlanmıştır. Sıvıları kuruyan tüplerin içerisine 100 µl sterilize saf su ilave edilmiştir. DNA'ların sıvıya geçmesi için +4°C'de bir gece bekletilmiştir, daha sonrasında ise -20°C'de saklanmıştır.

DNA izolasyonu yapılan örneklerin DNA kalitelerine bakmak için %1'lik agarose jel hazırlanarak örnekler jele yüklenmiştir. Elektroforez cihazında 65 voltta 30 dakika koşan örnekler UV transilluminatör cihazı ile görüntülenmiştir.

3.2.3.2. AFLP

AFLP yöntemi üç aşamadan gerçekleşmektedir.

Kesim ve adaptörlerin bağlanması: AFLP yöntemi Vos vd (1995)'in geliştirdiği yöntemle yapılmıştır. Bu reaksiyonda 12µl'lik son hacim içerisinde 0,55µl ligaz buffer, 0,55µl NaCl, 1,1µl BSA (1mg/ml), 0,125µl *EcoR I* enzimi (10u/µl, 5000u), 0,0625µl *MseI* enzimi (10u/µl, 1500u), 2,2µl *Eco* adaptör, 1,1µl *Mse* adaptör, 0,125 µl T4 ligaz enzimi, 1,2 saf su ve 5µl DNA kullanılmaktadır. Hazırlanan örnekler 37°C'de 3 saat inkübasyonda tutulmuştur. Örnekler oda sıcaklığına geldikten sonra 5µl ürün 2µl yükleme boyası ile karıştırılarak %1,5'lük agaroz jele yüklenmiştir. Standart

olarak 1kb DNA markırı kullanılmıştır. Agaroz jel 0,5 × TAE tampon çözeltisinde 65 voltta 50 dakika koşturulmuştur, ardından UV altında görüntenmiştir.

Preselektif amplifikasyon aşaması: Örneklerin kesildiğini jelde görüntenledikten sonra kalan ürünleri 1/20 oranında seyreltilmiştir. Seyreltilen ürünler ile EcoC/MseT preselektif primer kombinasyonu ile PCR makinasında çoğaltılmıştır. Bu reaksiyonda 10,5μl'lik son hacimde 1μl 2 mM MgCl₂, 1,2μl 1×Taq buffer, 0,1μl 0,5 ünite Taq polimeraz, 2μl 0,83mM dNTP, 1μl 8,4pmole primer EcoC, 1μl 8,4pmole primer MseT, 2,5μl seyreltilmiş kesim ürünü ve 4,2μl saf su kullanılmıştır. Sıcaklık ve termal döngü koşulları olarak, 72°C'de 2dk ön işlemden sonra, 20 döngü boyunca örneklerin denatürasyonu için 94°C'de 20 saniye, primerlerin DNA'ya bağlanması için 56°C'de 30 saniye, polimeraz enziminin dNTP'leri bağlayıp zicirin uzaması için 72°C'de 2 dakika tutulmuştur. Ardından örnekler 72°C'de 2 dakika, 60°C'de 30 dakika tutularak PCR programı bitirilmiştir.

PCR'dan alınan ürünlerden 5μl, 1μl yükleme boyası ile birlikte %1,5'luk agaroz jele yüklenmiştir. Jele kontrol olarak 1kb yüklenmiştir.

Selektif amplifikasyon aşaması: Preselektif ürünlerini % 1,5'luk agaroz jelde gözlemledikten sonra 1/10 oranında saf su ile seyreltilerek selektif aşamasına geçilmiştir. Selektif aşamasında preselektif aşamasına uyumlu iki tane fazladan nükleotid içeren EcoCNN ve MseTNN primer kombinasyonları kullanılarak yapılmıştır. AFLP analizi için Li-Cor DNA Sequencer Long Readir cihazının her iki deteksiyon kanalına uyumlu floresan işaretli EcoCNN primerleri kullanılmıştır. Bu selektif amplifikasyon aşamasında son hacim 10μl olacak şekilde 1μl 1×Taq tampon çözeltisi, 1μl 2,5 mM MgCl₂, 1μl 0,5 mM dntp, 0,08μl 0,4 ünite Taq polimeraz enzimi, 1μl 10pmol Eco selektif primeri ile 1μl 10pmol Mse selektif primeri, 2,84μl saf su kullanılmıştır ve preselektif ürünlerinden 2μl ilave edilmiştir. PCR döngüsü bittikten sonra örnekler hazırlanan denatüre poliakrilamid jele yüklenip Li-Cor DNA Sequencer Long Readir cihazında koşturulmuştur. Ürünlerin amplifikasyon için kullanılan PCR programı izelge 3.3'de verilmiştir. Bütün örnekler 5 adet selektif kombinasyonu ile taranmıştır. Çizelge 3.4'de kullanılan selektif primerler verilmiştir.

Çizelge 3.3. Selektif amplifikasyona ait PCR döngüleri

1.	94°C	2 dk	1 döngü	8.	94°C	20 sn	1 döngü
2.	94°C	20 sn	1 döngü	60°C	30 sn	2 dk	
	66°C	30 sn					
	72°C	2 dk					
3.	94°C	20 sn	1 döngü	9.	94°C	20 sn	1 döngü
	65°C	30 sn		72°C	59°C	30 sn	
	72°C	2 dk					
4.	94°C	20 sn	1 döngü	10.	94°C	20 sn	1 döngü
	64°C	30 sn		72°C	58°C	30 sn	
	72°C	2 dk					
5.	94°C	20 sn	1 döngü	11.	94°C	20 sn	1 döngü
	63°C	30 sn		72°C	57°C	30 sn	
	72°C	2 dk					
6.	94°C	20 sn	1 döngü	12.	94°C	20 sn	1 döngü
	62°C	30 sn		72°C	56°C	30 sn	
	72°C	2 dk					
7.	94°C	20 sn	1 döngü	13.	60°C	30 dk	1 döngü
61°C	30 sn						
		72°C		2 dk			

Çizelge 3.4. Kullanılan selektif primer kombinasyonları

<i>Mse</i> Primeri	<i>Eco</i> Primeri
<i>Mse</i> TTT	<i>Eco</i> CAA
<i>Mse</i> TTT	<i>Eco</i> CGG
<i>Mse</i> TAA	<i>Eco</i> CCG
<i>Mse</i> TAA	<i>Eco</i> CCC
<i>Mse</i> TAA	<i>Eco</i> CGG

3.2.3.3. Poliakrilamit jel hazırlanması

Toplam hacim 35ml jel hazırlamak için 14,7gr ürea, 3,5ml 10×TBE, 61,25mg 11mM Bis akrilamit, 4,8ml %40'lık akrilamit ve saf su kullanılmıştır. Cam aparatlara döküleceği sırada 23,5 µl TEMED ve 340 µl Amonium per sülfat(APS) ilave edilmiştir.

Poliakrilamit jel çözeltisi hazırlandıktan sonra, 41cm uzunluğundaki iki cam arasına 0.2mm kalınlığındaki aralayıcı konularak özel aparatlarla yanlardan sıkıştırılmıştır. Düzeneği eğimli bir yere koyduktan sonra çözeltiyi şırınga yardımı ile iki camın arasına sıkılmıştır, ardından düzeneği yatay konuma getirip 64'lük tarağı ağız kısmına yerleştirilmiştir. Bir saat polimerize olması için beklenmiştir ve tarak çekilerek kuyucuklar oluşturulmuştur.

3.2.3.4. Poliakrilamit jele örneklerin yüklenmesi ve Li-Cor cihazında koşturulması

Poliakrilamit jele yüklenecek olan örneklere 5 katı oranında yükleme boyası (%95 formamide, %2,5 EDTA ve %2,5 bromofenol blue 50mg/ml) katılmıştır. 5 dakika 95°C'de inkübasyona tabii tutularak çift sarmallı DNA'nın denatüre olması sağlanmıştır ardından hemen buzun üzerine konularak renatüre olması engellenmiştir. Örnekler Hamilton mikropipet ile her kuyucuğa 1-1,5µl olacak şekilde yüklenmiştir. Yüklenen örnekler 2000 voltta, 25mA amperlik akımda, 50 watt gücünde ve sıcaklığın 45°C'e olduğu koşullarda 8 saat koşturulmuştur.

3.2.4. Data analizi

Biyolojik parametrelerden elde edilen verilerin temel istatistikleri Microsoft Excel programında, *t* testi ile hesaplanmıştır. Elde edilen tüm jel elektroforez görüntüleri görsel olarak incelenerek, bantların aynı jel pozisyonundaki varlığı (1) veya yokluğuna (0) göre kaydedilmiştir. Bant pozisyonlarının aynı olup olmadığına ise AFLP kombinasyonları ile aynı jelde koşturulan bant büyüklük markörü yardımı ile karar verilmiştir. Elde edilen verilerin genetik analizleri POPGENE 1.32 programı ile hesaplanmıştır. Bu analiz sonucunda Gözlenen allel sayısı (Na), Etkin allel sayısı (Ne), Gen çeşitliliği (h), Shannon İndeksi (I), Polimorfik lokus yüzdesi (P), Tüm populasyonlarda beklenen heterozigotluk (Ht), Alt populasyonlarda beklenen heterozigotluk (Hs), Populasyonlar arası farklılaşma değeri (Gst), Populasyonlar arası gen akış değeri (Nm) hesaplanmıştır. Genetik uzaklık-benzerlik matrisi ve soy ağacı oluşturulmuştur

4. BULGULAR

4.1. Biyolojik parametrelere ait bulgular

4.1.1. Börülce ve nohut tohumlarına adaptasyon

BTB'nin nohuta ve börülceye adaptasyonunu özetleyen ve seleksiyon generasyonları boyunca gösterdiği yumurtlama tercihlerine ait veriler Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1'e göre nohut ve fasulye bulunan tercihlili ortamda BTB'nin yumurta sayılarına bakıldığında 1. generasyonda nohut tercih yüzdesi % 4,9 olarak bulunmuştur. 8 generasyonun sonunda ise bu oran artarak %23,1 olarak hesaplanmıştır. Börülce ve fasulye tohumu bulunan ortamda yumurta sayılarına bakıldığında; 1. generasyonda börülce tercih yüzdesi %48,3 olarak, 8 generasyon seleksiyon sonrasında ise %47,7 olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.1. BTB'nin 8 generasyonun yumurta sayıları, nohut ve börülcedeki yumurta sayılarının tercih yüzdeleri

	NOHUT+FASULYE			BÖRÜLCE+FASULYE		
	Nohut yumurta sayısı	Fasulye yumurta sayısı	Nohut yüzde tercih(%)	Börülce yumurta sayısı	Fasulye yumurta sayısı	Börülce yüzde tercih(%)
1.Generasyon	438	8358	4,9	5641	6033	48,3
2.Generasyon	497	2810	15	1282	1571	44,9
3.Generasyon	1007	6840	12,8	1677	2588	39,3
4.Generasyon	2514	8010	23,8	3639	4980	42,2
5.Generasyon	3085	9648	24,2	1035	1086	48,7
6.Generasyon	1765	5836	23,2	1029	1269	44,7
7.Generasyon	1796	5425	24,87	2836	3961	41,72
8.Generasyon	811	2701	23,1	562	616	47,7

4.1.2. Populasyonların farklı baklagillerdeki performansları

Ana populasyon, nohut populasyon ve börülce populasyonları farklı baklagil tohumları içeren ikili tercih ortamlarına bırakıldıktan 5 gün sonra uzaklaştırılmış ve 3 gün sonra her populasyonun farklı tohumlar yüzeyindeki yumurtaları sayılmıştır. Çizelge 4.2.'de üç populasyona ait yumurta sayıları verilmiştir.

Çizelge 4.2. Ana popülasyon, nohut popülasyon ve börülce popülasyonun yumurta sayıları

	Tohum Genotipleri	Latince İsimler	Ana Populasyon yumurta sayıları			Nohut Populasyon yumurta sayıları			Börülce Populasyon yumurta sayıları		
			1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	CA2969 Börülce	<i>C.arietinum</i> <i>V.unguiculata</i>	29	2	6	32	7	13	9	45	29
			199	69	46	103	34	60	80	125	104
2	Fasulye Börülce	<i>P.vulgaris</i> <i>V.unguiculata</i>	106	32	48	25	54	67	98	32	30
			103	43	29	30	28	47	83	40	63
3	CA2969 AWC304	<i>C.arietinum</i> <i>C.echinospernum</i>	70	83	17	75	81	46	64	35	85
			0	0	0	0	0	1	0	1	2
4	CA2969 AWC613	<i>C.arietinum</i> <i>C.reticulatum</i>	136	83	64	82	13	30	49	9	88
			24	1	4	2	0	0	1	0	2
5	CA2969 ICC4969	<i>C.arietinum</i> <i>C.arietinum</i>	45	57	60	20	28	10	32	18	98
			22	4	9	11	1	1	2	1	17
6	CA2969 AWC603	<i>C.arietinum</i> <i>C.echinospernum</i>	160	95	24	76	29	24	97	115	34
			0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	CA2969 YAR	<i>C.arietinum</i> <i>C.arietinum</i>	50	33	13	19	22	38	25	35	105
			7	2	7	1	19	4	2	7	25

Çizelge 4.3. Ana populasyon, nohut populasyon ve börülce populasyonun yumurtlama yüzdeleri

	Tohum Genotipleri	Latince İsimler	Ana Populasyon	Nohut Populasyon	Börülce Populasyon
1	CA2969 Börülce	<i>C.arietinum</i> <i>V.unguiculata</i>	9,1±5,4A 90,9±5,4B	19,5±3,6A 80,5±3,6B	19,5±8,4A 80,5±8,4B
2	Fasulye Börülce	<i>P.vulgaris</i> <i>V.unguiculata</i>	51,9±9,8A 48,1±9,8A	56,7±10,3A 43,3±10,3A	43,6±10,9A 56,4±10,9A
3	CA2969 AWC304	<i>C.arietinum</i> <i>C.echinospernum</i>	100±0,0A 0±0,0B	99,3±1,2A 0,7±1,2B	98,3±1,4A 1,7±1,4B
4	CA2969 AWC613	<i>C.arietinum</i> <i>C.reticulatum</i>	92,6±7,01A 7,4±7,01B	99,2±1,3A 0,8±1,3B	98,6±1,2A 1,4±1,2B
5	CA2969 ICC4969	<i>C.arietinum</i> <i>C.arietinum</i>	82,5±13,6A 17,5±13,6A	83,99±17,1A 16,01±17,1A	91,4±5,3A 8,6±5,3B
6	CA2969 AWC603	<i>C.arietinum</i> <i>C.echinospernum</i>	100±0,0A 0±0,0B	100±0,0A 0±0,0B	100±0,0A 0±0,0B
7	CA2969 YAR	<i>C.arietinum</i> <i>C.arietinum</i>	82,3±15,3A 17,7±15,3A	79,7±22,6A 20,3±22,6A	85,6±6,2A 14,4±6,2B

Çizelge 4.3'e göre ana, nohut ve börülce populasyonlarının yedi farklı ortamdaki yumurtlama tercihleri tesbit edilmiştir. Ana populasyonun CA2969 ve börülce tohumları arasındaki yumurta bırakma tercihlerine bakıldığında börülce tohumuna çok daha fazla yumurta bıraktığı görülmüş, ve aralarındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Üç ve dört nolu ortamlara bakıldığında AWC304 ve AWC603 nolu yabancı nohut çeşitlerine hiç yumurta bırakılmamış, yani hiç tercih edilmemiştir. Benzer şekilde altı numaralı ortama bakıldığında tüm yumurtaların kültür nohudu CA2969 üzerine bırakıldığı tespit edilmiştir. CA2969-ICC4969, CA2969-YAR tercihlerin de ise yumurta sayıları arasında önemli rakamsal fark bulunmasına rağmen bu farklar istatistiki olarak önemli bulunmamıştır.

Nohut populasyonunda CA2969 ve börülce tohumları arasındaki tercihe bakıldığında ana populasyonda olduğu gibi büyük bir oranda börülceye yumurta bırakılmış ve bu fark önemli bulunmuştur. Üçüncü ve dördüncü ve altıncı ortamlara bakıldığında CA2969 tohumunun diğer tohumlara kıyasla daha çok yumurta bırakıldığı saptanmıştır. *Cicer arietinum* çeşitlerinin karşılaştırıldığı beşinci ve yedinci ortamlarda rakamsal olarak fark bulunmasına rağmen, istatistiki bir fark ortaya konulamamıştır.

Börülce populasyonunda da elde edilen sonuçlar genel olarak ana ve nohut populasyondan elde edilen sonuçlar ile paralellik göstermiş, yabancı-CA2969 tercihlerinde BTB dişileri ağırlıkla CA2969'u tercih etmişlerdir. Benzer şekilde ICC4969-CA2969 ve YAR-CA2969 tercihlerinde CA2969 daha çok tercih edilmiştir.

4.2. Moleküler çalışmalara ait bulgular

4.2.1. Generasyonlar arasındaki polimorfizmi AFLP yöntemi ile ortaya koyan genetik yapıya ait bulgular

Ana populasyon, 4. ve 7. nohut seleksiyon generasyonları, 4. ve 7. börülce seleksiyon generasyonları olmak üzere 5 ayrı populasyonun AFLP sonuçları incelenmiştir. AFLP primer kombinasyonlarında çoğaltılan bant büyüklükleri 42 ile 475 arasında değişmiştir, polimorfik lokusların bant büyüklükleri ise 45 ile 275 bp arasında değiştiği gözlenmiştir. 5 farklı AFLP primer kombinasyonlarının her biri 8 ile 10 arası polimorfik lokus oluşturmuştur.

Çizelge 4.4. BTB populasyonları için 5 AFLP primer kombinasyonu ile hesaplanan genetik çeşitlilik değerleri

	N	Na	Ne	h	I
Ana Populasyon	30	1.98±.14	1.61±.23	0.36±.10	0.54±.13
4.Nohut generasyonu	29	2.00±.00	1.67±.27	0.38±.11	0.56±.13
7.Nohut generasyonu	30	2.00±.00	1.58±.27	0.35±.12	0.53±.14
4.Börülce generasyonu	30	2.00±.00	1.60±.27	0.36±.12	0.53±.14
7.Börülce generasyonu	29	2.00±.00	1.58±.31	0.34±.13	0.51±.16

Na: Gözlenen allel sayısı

Ne: Etkin allel sayısı

h: Gen çeşitliliği

I: Shannon İndeksi

Gözlenen allel sayısı (Na) ile polimorfik lokus yüzdesi aynı paralellik göstermiştir. Etkin allel sayısı (Ne), en yüksek 4. nohut populasyonu 1.67, en düşük ise 7. nohut ve börülce popalasyonları 1.58 olarak bulunmuştur. Gen çeşitliliği (h) ve Shannon bioçeşitlilik indeksi (I) değerlerine bakıldığında en yüksek 4. nohut generasyonu olup en düşük değer ise 7. börülce generasyonunda bulunmuştur.

Çizelge 4.5. AFLP tekniği ile beş farklı BTB popülasyonu için hesaplanan gen çeşitliliği, genetik farklılaşma ve gen akışı parametreleri

HT	HS	GST	Nm
0.38±0.01	0.36±0.01	0.046	10.24

Ht: Tüm popülasyonlarda beklenen heterozigotluk

Hs: Alt popülasyonlarda beklenen heterozigotluk

Gst: Popülasyonlar arası farklılaşma değeri (Hs/Ht)

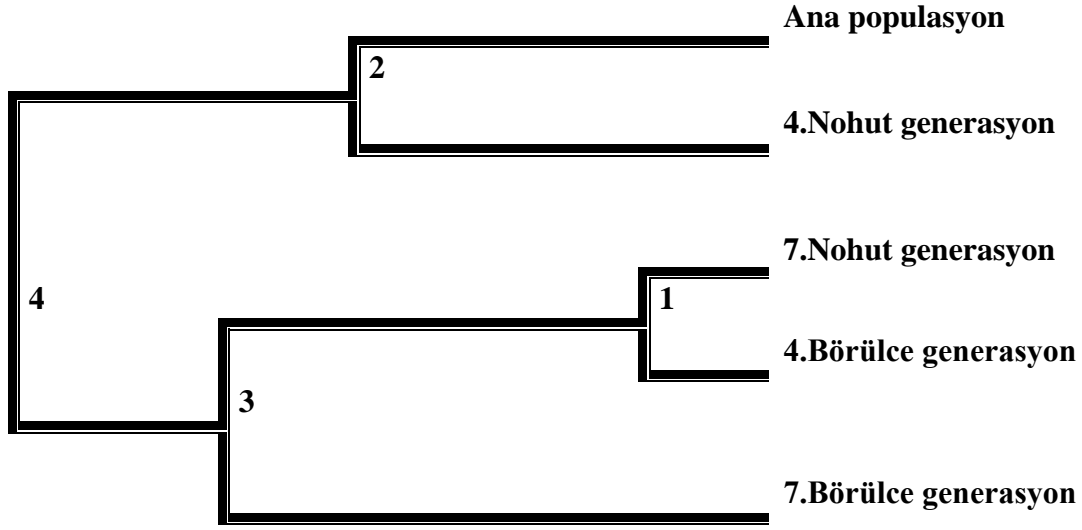
Nm: Popülasyonlar arası gen akış değeri ($Nm=0,5(1-Gst)/Gst$)

Genetik analiz sonuçlarına göre, popülasyon içi genetik çeşitliliği (HS) 0.36, toplam genetik çeşitlilik (HT) değeri 0.38 olarak bulunmuştur. Popülasyonlar arası farklılaşmayı gösteren GST değeri 0.046 olarak hesaplanırken, gen akış değeri olan Nm 10.24 olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.6. Beş farklı BTB popülasyonunun 5 AFLP primer kombinasyonu ile oluşturduğu genetik uzaklık-benzerlik matrisi

Popülasyon	Ana Popülasyon	4.Nohut generasyon	7.Nohut generasyon	4.Börülce generasyon	7.Börülce generasyon
Ana Popülasyon	****	0.9734	0.9588	0.9625	0.9538
4.Nohut generasyon	0.0269	****	0.9764	0.9636	0.9468
7.Nohut generasyon	0.0420	0.0239	****	0.9824	0.9655
4.Börülce generasyon	0.0383	0.0371	0.0178	****	0.9764
7.Börülce generasyon	0.0473	0.0547	0.0351	0.0238	****

Popülasyonlar ve generasyonlar arası genetik mesafe ve benzerlik değerleri nolu çizelgede verilmiştir. Ana popülasyondan nohut ve börülce tohumuna adaptasyon çalışması sonucunda, çizelge 4.6. göre değerlere bakıldığında genetik olarak çok fazla bir farklılaşma olmadığı görülmüştür. Ana popülasyon, 4. nohut popülasyonu, 7. nohut popülasyonu, 4. börülce popülasyonu ve 7. börülce popülasyonu hepsi birbirleriyle kıyaslandığında aralarında farklılık düzeyi çok azdır, bütün değerleri 0.9468 ve üzeri olarak bulunmuştur.



Şekil 4.1. Beş farklı BTB populasyonunun 5 AFLP primer kombinasyonu ile oluşturduğu dendrogram

Genetik veriler ile oluşturulan genetik soy ağacı incelendiğinde, ana populasyon ve 4. nohut generasyon populasyonu diğerlerinden ayrı kümeleşmiştir. 7. nohut ve 4. börölce generasyon populasyonları birlikte kümeleşmiş, 7. börölce generasyon populasyonu bu gruptan ayrıldığı gözlemlenmiştir.

5. TARTIŞMA

Börülce ve nohutta adaptasyonun belirlenmesi yönteminde fasulye, nohut ve börülce baklagil tohumları kullanılmıştır. BTB’i her üç baklagile yumurta koymaktadır, denemeler sonucunda nohut ve börülcede BTB’i gelişebilmekte ve ergin çıkışı gerçekleşmektedir, fakat fasulyeye koyulan hiçbir yumurtadan ergin çıkışı gerçekleşmemektedir. Gatehouse ve ark. (1984), yaptıkları çalışmayla paralellik göstermektedir, bu çalışmada fasulye tohumu *Callosobruchus maculatus* larvaları için toksik olmaktadır. BTB’nin fasulyede gerçekleşen lektin toksisite mekanizması bunun sebebi olduğu öne sürülmüştür. Tamer (1996), yaptığı çalışmada da BTB’inin farklı konukçulardaki (börülce, nohut, fasulye, barbunya ve bakla) gelişimlerini incelemiştir, zararlı; fasulye, barbunya ve bakla tohumlarına yumurtlamasına rağmen ergin çıkışı olmadığı saptanmıştır.

Nohut ve fasulye tohumu bulunan ortamda, börülce ve fasulye tohumu bulunan ortamda sekiz generasyon boyunca nohut ve börülce tohumuna fasulye tohumuna oranla BTB’i daha az yumurta koymaktadır. Bunun sebebinin ise fasulye tohumunun yüzeyinin daha pürüzsüz olmasından kaynaklanmaktadır. Çünkü Nwanzer ve Horber (1976)’ e göre BTB dişileri daha pürüzsüz yüzeyli tohumlara yumurta koymayı tercih etmektedir.

Nohut tohumuna adaptasyon çalışmasında *Callosobruchus maculatus*’un fasulyeye oranla nohuta yumurta koyma tercihi %4,9’dan %23,1’e yükseldiği bulunmuştur. Bu denemede sürekli sadece nohutu tercih eden bireylerin yumurtalarından çıkan bireyler yumurtlatıldığından dolayı bu sonucun biyolojik parametrelere göre nohuta adaptasyonun olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmaya birebir aynısı bulunmamakla birlikte farklı adaptasyon çalışmaları bulunmaktadır. Messina vd (2009), maş fasulyesine adapte olan BTB’nin nadiren zarar verdiği mercimeğe adaptasyonu araştırılmıştır, ilk başta mercimeğe giriş yapamamış ama çalışmaların devamında 5 generasyon sonunda %65, 20 generasyon sonunda ise bu oran %85 oranına yükselmiştir.

BTB’nin börülce tohumuna adaptasyon çalışmasında böceğin börülce tohumuna tercih yüzdesi 1. generasyonda %48,3 iken 8. generasyon sonunda %47,7 olarak bulunmuştur. Bu yüzde değerlere bakıldığında 8 generasyon sonunda biyolojik parametrelere göre bir fark bulunmamıştır. Börülce tohumuna tercih yüzdesi BTB’nin genellikle sabit kalmıştır ve bu oran %39,3 ile %48,7 değerleri arasında kalmıştır. Kaweckı ve Mery (2003) yaptıkları çalışmada ise, BTB’nin Kamerun, Nijerya, Uganda ve Yemen’den toplanan populasyonların dışı bireylerini börülce ve maş fasulyesi karışımına bırakılarak konukçu seçim özgürlüğü verilmiştir. Nijerya populasyonu %68-86 oranında, Uganda populasyonu %30-42 oranında, Yemen populasyonu %30-42 oranında ve Kamerun ise %56-60 oranında börülceyi tercih ettiği belirlenmiştir.

Messina vd (2009), yaptıkları çalışmada maş fasulyesine adapte olan BTB’nin mercimeğe adaptasyonu araştırılmıştır. Mercimeğe adaptasyonu için doğal seleksiyon ve yapay seleksiyon şeklinde iki yol izlenmiştir. Yapay seleksiyon çalışmasında ana populasyonda kısa sürede yüksek yumurtlama gösteren dişiler seçilerek yapılmıştır. Yapay seleksiyon çalışması sonucunda dişiler, doğal seleksiyon dişilerine göre yeni

konukçuyu daha kısa sürede tanıdığı saptanmıştır. Nohut ve börülce tohumuna adaptasyon çalışmasında, nohut+fasulye ortamında sürekli nohuttan çıkış yapanlar; börülce+fasulye ortamında da sürekli börülceden çıkış yapanlar populasyonun devamlılığını sağladığından dolayı sadece nohut ve börülce tohumunu tercih eden bireyler seçilmektedir. Bu çalışmada da kısmi yapay seleksiyon uygulandığı söylenebilir.

Populasyonların farklı baklagil tohumlarında kıyaslanmasında; ana, nohut ve börülce populasyonları bulunmaktadır. Bu üç populasyon birinci ortamda bulunan börülce ve nohut tohumlarından önemli bir farkla börülce tohumunu tercih ettiği bulunmuştur. Credland (1987), Türkiye ve Brezilyada toplanan BTB'i populasyonları, börülce ve mercimek tohumlarından börülce tohumunu tercih ettiklerini saptamıştır.

C. maculatus her iki çalışmada görüldüğü gibi genellikle börülce tohumunu tercih etmektedir. Çıkarılan sonuç ile paralel olarak Srinivasan vd (2008), maş fasulyesi, börülce, vigna mungo (black gram), bezelye, nohut ve pigeon bezelyesi tohumlarını *C. maculatus* ve *C. chinensis* türleri için konukçu tercihini araştırmışlardır ve *C. maculatus* daha çok börülceyi; *C. chinensis* ise bezelye tohumunu tercih ettiği saptanmıştır. Fakat denemede bulunan ikinci ortam her üç populasyon için börülce ve fasulye tohumlarında yumurta sayıları kıyaslandığında fasulye tohumuna daha fazla yumurta bıraktığı ama aralarında önemli bir fark bulunmadığı saptanmıştır.

Altıncı (nohut+AWC603) ortamda her üç populasyon AWC603 çeşidine hiç yumurta bırakmamıştır, üçüncü (nohut+AWC304) ortamda ise ana populasyon AWC304 çeşidine hiç yumurta bırakmamış, diğer nohut ve börülce populasyonları ise çok az miktarda yumurta bırakmıştır. AWC304 ve AWC603 çeşidine çok az yumurta bırakılmasının sebebinin tohum yüzeyinin dikenimsi yapılar bulunmasından kaynaklanmış olabileceği söylenebilir. Nwanze vd (1975) göre tohum kabuğu dokusunda farklılıklar tohum tercihlerinde sorumlu olduğu düşünülmektedir.

ICC4969 ve CA2969 bulunan ortamda yumurta sayılarına bakıldığında ICC4969 çeşit tohumuna az miktarda yumurta bırakılmıştır. Üç populasyonu kıyasladığımızda yalnız börülce populasyonunda bu iki baklagil tohumu arasında önemli bir fark olduğu saptanmıştır, diğer ikisinde önemli bir fark bulunmamıştır. Erler vd (2009), 11 farklı nohut çeşidinin (Mexican white, Diyar, CA 2969, ILC 8617, ACC 245, ICC 1069, ICC 12422, ICC 14336, ICC 4957, ICC 4969 and ICC 7509) BTB'ine karşı dayanıklılık çalışmasında en dirençli çeşidin ICC4969 çeşidinin olduğu saptamışlardır.

ICC4969, AWC603, AWC304 ve AWC613 çeşitleri ana, nohut ve börülce populasyonlarının üçündede nohut tohumuna (CA2969) oranla çok az yumurta bırakılmıştır, bu dört tohum küçük boyutlu olduğundan nohuta kıyasla daha az yumurta bırakılmış olabilir. Mitchell (1975), küçük boyutlu maş fasulyesinde yaptığı araştırmada maş fasulyesi tohumunun üzerine bırakılan ikinci yumurtalardan sadece %8'i geliştiği saptanmıştır. BTB'i dişileri bir tohuma yumurta koyarken larva rekabetini önlemek için tohumdaki yumurta sayısına göre yumurta koymaktadır. Bu nedenden dolayı bu küçük boyutlu dört nohut çeşidine BTB'i az sayıda yumurta koymuş olduğu söylenebilir. Farklı bir durum olarak yedinci ortamda bulunan CA2969 ve YAR tohumları kıyaslandığında her üç populasyonda yumurta sayısı olarak CA2969 tohumuna daha çok

yumurta konulmuştur, YAR nohut çeşidi iri bir tohum olmasına rağmen az yumurta bırakılmıştır bu durum YAR tohumunun yüzeyinin CA2969 tohumundan daha pürüzlü olması ile açıklanabilir.

Üç populasyon arasında yumurtlama tercihlerinde birinci ortamda bulunan nohut ve börülce tohumlarına nohut ve börülce populasyonlarının tercih sonuçları daha farklı beklenmekteydi, ama her ikisinin tercih yüzdeleri birbirlerine yakın olarak saptanmıştır. Nohut ve börülce populasyonu oluşturulurken ilk sekiz generasyon sürekli nohut+fasulye ve börülce+fasulye ortamlarında tercih yaparak oluşturulmuştur ama sekizinci generasyondan sonra nohut populasyonu nohut tohumunda, börülce populasyonu börülce tohumunda çoğaltılmıştır. Nohut populasyonu 12. Generasyona kadar nohut bitkisinde kaldıktan sonra denemeye tabi tutulmuştur, börülce populasyonunda 16. generasyona kadar börülcede çoğaltıldıktan sonra denemede kullanılmıştır, börülce populasyonunun 4 generasyon sonra denemede kullanılmasının sebebi istenilen sayıya ulaşmak istenmesindedir. Bu durumdan kaynaklı olarak populasyonların üzerindeki baskı kalktığından birinci ortamda börülce populasyonunun börülce tohumu tercih oranı ile nohut populasyonunun börülce tohumu tercih oranı aynı olarak saptanmış olduğu düşünülmektedir.

Populasyonlar arasında genetik parametreler AFLP tekniği ile ortaya konulmuştur. Tüm populasyonların toplam genetik çeşitliliği (HT=0.38), populasyon içi genetik çeşitliliği (HS=0.36) bulunmuştur. Alt populasyonların genetik çeşitliliği toplam populasyonda genetik çeşitliliğin %94,73 temsil ettiği bulunmuştur. Gargouri vd (2006), Tunus bölgesinde *Fusarium pseudograminearum* populasyonlarının genetik farklılıkları araştırılmış, bu çalışmada da (HT=0.35,HS=0.27) alt populasyonların toplam populasyonunun genetik çeşitliliğinin %86'sını temsil edildiği bulunmuştur.

Populasyonlar arası farklılaşma (Gst) değerine baktığımızda Chen ve Peng (2010), *Populus cathayana* bitkisinin doğal populasyonlarının AFLP tekniği ile genetik farklılıklarına bakılmıştır. Populasyonlar arası farklılaşma (Gst) değeri 0,489 olarak bulunmuştur ve bu değere bakıldığında populasyonlar arasında farklılık bulunmuştur. Yapılan çalışmada ise populasyonlar arası farklılaşma (Gst) 0,046 olarak bulunmuştur, bu değere göre genetik olarak populasyonlar arasında fark olmadığı söylenebilir.

Nohut ve börülce populasyonları ile ana populasyon arasında genetik bir değişiklik olmadığı saptanmıştır. Nohut tohumuna adaptasyonunu sağlamaya çalıştığımız populasyonda yumurtlama tercih yüzdeleri biraz artış göstermiş olsa da nohut populasyonunun 4. generasyondan 8. generasyona kadar değerleri hep aynı kalmıştır, bu değerlerden yukarı çıkamamıştır. Bu durum elimizde ki ana populasyonun nohut tercihi için genetik yatkınlığının var olduğunu, ancak bu yatkınlığın yalnızca nohutu tercih edecek düzeye ilerleyecek düzeyde olmadığını işaret etmektedir.

6. SONUÇ

Bu çalışmada, börülce tohum böceğinin börülce ve nohuttaki adaptasyonları araştırılmıştır. Generasyonları arasında bulunan genetik farklarının moleküler bir teknik olan AFLP tekniği ile saptanmıştır. Nohuta ve börülce tohumuna adaptasyonu 8 generasyon boyunca sağlanmaya çalışılan populasyonların ve ana populasyonun farklı baklagil tohumlarındaki performansları incelenmiştir.

Adaptasyon çalışmasının sonuçları değerlendirildiğinde, nohut ve fasulye ortamındaki BTB'i biyolojik parametrelere göre birinci generasyondan sekizinci generasyona kadar (%4,9-%23,1) yüzde yumurta sayılarında bir miktar artış olmuştur. Börülce ve fasulye ortamında ise biyolojik parametrelere bakıldığında yumurta sayılarının yüzde oranları (%48,3-%47,7) sekiz generasyon boyunca çok az değişmiştir.

Adaptasyon çalışması sonucunda ana, nohut ve börülce populasyonu olmak üzere üç farklı populasyon elde edilmiştir. Bu populasyonlar farklı tohum çeşitlerinde tercihlerine bakılmıştır ve sonuçta her üç populasyonun tercihleri birbirlerine yakın olduğu gözlemlenmiştir.

Moleküler çalışmalarda AFLP analizleri sonucunda populasyonlar ve generasyonlar arası genetik farklılar Gst değerine (0,046) göre bakıldığında önemli bir fark bulunmamıştır. Genetik uzaklık-benzerlik matrisi değerlerine göre hem üç populasyon arasında hem de her populasyonun generasyonları arasında genetik bir farklılık olmadığı saptanmıştır.

Bu sonuçlar doğrultusunda hem genetik parametrelere hemde adaptasyon çalışması sonuçlarına göre, ana populasyondan yapılan seleksiyon sonuçlarında hem nohut hemde börülce adaptasyon çalışmaları sonuçlarında değerler hep aynı seviyede kalmıştır, sürekli artış gözlemlenmemiştir. BTB genetik alt yapısından dolayı fasulye tohumunu tercih etmekten vazgeçmemiş ve bu sebepten nohut ve börülce tohumlarına adaptasyon genetik ve farklı etkenlerden dolayı sağlanamamıştır.

7. KAYNAKLAR

- AGARWAL, M. and SHRIVASTAVA, N. 2008. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant cell reports*, 27:617-631.
- ALKAN, B. 1966. Türkiye'nin Zararlı Tohum Böcekleri Coleoptera: Bruchidae Faunası Üzerine Çalışmalar. Ankara Üniversitesi. *Zir.Yayınları*: 277,56.
- ANGHARAD M.R.G. and BOULTER, D. 2006. Assessment of the antimetabolic effects of trypsin inhibitors from cowpea (*Vigna unguiculata*) and other legumes on development of the bruchid beetle *Callosobruchus maculatus*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34(4):345-350.
- ANGUS, R.B., DELLOW, J., WINDER, C. and CREDLAND, P.F. 2010. Karyotype differences among four species of *Callosobruchus* Pic (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 47(2):76-81.
- ANONİM, 2001. yunus.hacettepe.edu.tr/~sert/Entomoloji.doc [Erişim: 29.01.2014]
- AYDIN, Ö.S. 2004. RAPD (Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA) Belirleyicileri ve Bitki Sistematiği. *DPÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6:113-130.
- BECK, C.W. and BLUMER, L.S. 2007. *A Handbook on Bean Beetles, Callosobruchus maculatus*, 12 p.
- BERNATZKY, R. and TANKSLEY, S.D. 1989. Restriction Fragments as Molecular Markers for Germplasm Analysis and Utilization. *The Use of Plant Genetic Resources*, pp. 353-362.
- BOOKER, R.H. 1967. Observations on three bruchids associated with cowpea in northern Nigeria. *Journal of Stored Products Research*, 3: 1-15.
- BÖLÜCEK, E. 2009. Börülce Tohum Böceği'nin, *Callosobruchus maculatus*, (Coleoptera:Bruchidae) Farklı Populasyonlarında Biyolojik Parametrelerin İncelenmesi ve Populasyonlar Arasındaki DNA Polimorfizmin AFLP Tekniği İle Taranması Yüksek Lisans Tezi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Antalya.
- CEYHAN, E. 2007. Yemeklik Tane Baklagiller Ders Notları. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Konya.
- CHEN, K., and PENG, Y. 2010. AFLP analysis of genetic diversity in populus cathayana rehd originating from southeastern qinghai-tibetan plateau of china. *Pakistan Journal of Botany*, 42(1): 117-127.

- CHENG, C.W., YANG, R.L., CHENG, I.C. and HORNG, S.B. 2008. Egg-dumping strategy for host range expansion in *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 101(5): 950-954.
- COLGONI, A. And VAMOSI, S.M. 2006. Sexual Dimorphism and Allometry in Two Seed Beetles (Coleoptera: Bruchidae). *Entomological Science*, 9: 171-179.
- CREDLAND, P.F. 1987. Effects of Host Change on the Fecundity and Development of an Unusual Strain of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 23(2): 91-98.
- ÇİFTÇİ, C.Y. 2004. Dünyada ve Türkiye’de Yemelik Tane Baklagiller Tarımı. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası Teknik Yayınlar Dizisi no: 5.
- DABIRE’, L.C.B., SANO, A. and DRABO, I. 2004. Developpement de *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera: Bruchidae) sur des ligne’es de nie’be’ en e’valuation pour leur re’sistance aux bruches. *Annales de I’Universite’ de Ouagadougou, Se’rie C*, 2: 105-121.
- DECELLE, J. 1981. Bruchidae related to grain legumes in the afro-tropical area. The Ecology of Bruchids Attacking Legumes Books. Junk, pp. 193-198.
- DESROCHES, P., MANDON, N., BAEHR, J. C. and HUIGNARD, J. 1997. Mediation of Host-Plant Use by a Glucoside in *Callosobruchus maculatus* F.(Coleoptera:Bruchidae). *J. Insect Phyiol*, 43(5): 439-446.
- DIEGISSER, T., JOHANNESSEN, J. and SEITZ, A. 2008. Performance of host-races of the fruit fly, *Tephritis conura* on a derived host plant, the cabbage thistle *Cirsium oleraceum*: Implications for the original host shift. *Journal of Insect Science*, 8: 66.
- ERLER, F., CEYLAN, F., ERDEMİR, T. and TOKER, C. 2009. Preliminary Results on Evaluation of Chickpea, *Cicer arietinum*, Genotypes for Resistance to the Pulse Beetle, *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Insect Science*, 9: 58 .
- FARIAS, L.R., COSTA, F.T., SOUZA, L.A., PELEGRİNİ, P.B., GROSSI-DE-SAB, M.F., NETO, S.M., BLOCH, C., LAUMANN, R.A., NORONHA, E.F. and FRANCO, O.L. 2007. Isolation of a novel *Carica papaya*_amylase inhibitor with deleterious activity toward *Callosobruchus maculatus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 87: 255-260.
- FERİZLİ, A.G., EMEKÇİ, M., TÛTÛNCÛ, S. And NAVARRO, S. 2004. Utilization of freezing temperatures to control *Callosobruchus maculatus* Fabr. (Coleoptera, Bruchidae). *Integrated Protection of Stored Products*, 27(9): 213-217.
- FOX, C.W. 1993. A quantitative genetic analysis of oviposition preference and larval performance on two hosts in the bruchid beetle, *Callosobruchus maculatus*. *Evolution*, 47: 166-175.

- FOX, C.W. 1993. Multiple Mating, Lifetime Fecundity and Female Mortality of the Bruchid Beetle, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera:Bruchidae). *Functional Ecology*, 7: 203-208.
- GARGOURI, S., HAMZA, S., & HAJLAOU, M. R. 2006. AFLP analysis of the genetic variability and population structure of the wheat crown rot fungus *Fusarium pseudograminearum* in Tunisia. *Tunis J Plant Prot*, 1: 93-104.
- GATEHOUSE, A.M.R., DEWEY, F.M., DOVE, J., FENTON, K.A. and PUSZTA, A. Effect of seed lectins from *Phaseolus vulgaris* on the development of larvae of *Callosobruchus maculatus*; mechanism of toxicity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 35(4): 373-380.
- GEPTS, P. 1990. Genetic Diversity of Seed Storage Proteins in Plants. Plant Population Genetics. *Breeding and Genetics Resources*, 64-68.
- ICRISAT. 1992. Annual report. Internation Cereal Research Institute for Semi-Arid Tropics, India.76 p.
- İŞÇİ, B. 2007. Asma (*Vitis vinifera* L.)’ da Genom Haritalaması: Önemli Morfolojik Karakterlere ve Fungal Kökenli Hastalıklara Yönelik AFLP ve SSR Linkage Gruolarının Oluşturulması Doktora Tezi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, İzmir.
- KAPILA, R. and AGARWAL, H.C. 1995. Biology of an egg parasite of *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 47(4): 335-341.
- KAWECKI, T.J. and MERY, F. 2003. Evolutionary Conservatism of Geographic Variation in Host Preference in *Callosobruchus maculatus*. *Ecological Entomology*, 28: 449-456.
- KEYDER, S., BALCIOĞLU, E. ve MENE, G. 1973. Marmara Bölgesinde Börülce Tohum Böceği (*Callosobruchus maculatus* F., Col: Bruchidae-Bruchinae)’nin Yayılışı, biyolojisi ve mücadelesi. *Zir. Müc.Yıllığı*, 7: 58-59.
- KİNGSOLVER, J.M. 2002. Bruchidae Latreille 1802. In *American Beetles, Volume 2: Polyphaga: Scarabaeoidea through Curculionoidea*. Edited by R.H. Arnett, Jr., M.C. Thomas, P.E. Skelley, and J.H. Frank. CRC Press, Boca Raton, pp. 602–608, Florida.
- KİNGSOLVER, J.M. 2004. Handbook of the Bruchidae of the United States and Canada. *Agricultural Research Service Technical Bulletin*, 1912: 319.
- KUTBAY, F., VAROL, I., BAYRAM, M. and ÖZDEMİR, A. 2011. The effect of carbon dioxide at high pressure under different developmental stages of,

- Callosobruchus maculatus* (F.) hosting on chickpeas. *African Journal of Biotechnology*, 10(11): 2053-2057.
- LODOS, N. 1998. Türkiye Entomolojisi VI (Genel, Uygulamalı ve Faunistik). Yardımcı Der Kitabı (I.Baskı). E.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, 529: 300.
- LOGANATHAN, M., JAYAS, D.S., FIELDS, P.G. and WHITE, N.D.G. 2011. Low and high temperatures for the control of cowpea beetle, *Callosobruchus maculatus* (F.) (coleoptera: Bruchidae) in chickpeas. *Journal of Stored Products Research*. 47(3): 244-248.
- MAHDNESHIN, Z., VOJOU DI, S., GHOSTA, Y., SAFARALIZADA E, M.H. and SABER, M. 2011. Laboratory evaluation of the entomopathogenic fungi, Iranian isolates of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin against the control of the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* F.(Coleoptera: Bruchidae)." *Afr. J. Microbiol. Res*, 5(29): 5215-5220.
- MALAIKOZHUNDAN, B. and RAJ, S.T. 2011. A Study on The Developmental Biology of *Callosobruchus maculatus* (Fabricus) in Different Pulses. *Agricultural Research Communication Centre*, 35(2): 159-163.
- MALAU SA, T., DALECKY, A., PONSARD, S., AUDIOT, P., STREIFF, R. and CHAVAL, Y. 2007. Genetic structure and gene flow in French populations of two *Ostrinia taxa*: host races or sibling species? *Molecular Ecology*, 16(20): 4210–4222.
- MALYSHEV, S.V. and KARTEL. N.A. 1997. Molecular Markers in Mapping of Plant Genomes. *Molecular Biology*, 31(2): 197-208.
- MATSUBAYASHI, K.W., OHSHİMA, I. and NOSIL, P. 2010. Ecological speciation in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 134(1): 1–105.
- MC MICHAEL, M. and PROWELL, D.P. 1999. Differences in Amplified Fragment-Length Polymorphisms in Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Host Strains. *Entomological Society of America*, 92(2): 175-181.
- MERGEN, O. and ÇAĞATAY, N. 1996. Systematic studies on the species of *Bruchus*, *Acanthoscelides* and *Callosobruchus* (Coleoptera: Bruchidae) from Central Anatolia. *Turkish Journal of Zoology*, 20(3): 293-306.
- MESSINA, F.J. 1991. Life-history variation in a seed beetle: adult egg-laying vs. larval competitive ability. *Oecologia*, 85: 447–455.
- MESSINA, F.J. and KARREN, M.E. 2003. Adaptation to a novel host modifies host discrimination by the seed beetle *Callosobruchus maculatus*. Department of Biology, Utah State University. *Animal Behaviour*, 65: 501–507.

- MESSINA, F.J., JONES, J.C., MENDENHALL, M., MULLER, A., 2009. Genetic Modification of Host Acceptance by a Seed Beetle *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera:Bruchidae). Utah State Univ, Dept Biol, Logan, UT 84322.
- MESSINA, F.J., MENDENHALL, M. and Jake C. JONES, J. C. 2009. An experimentally induced host shift in a seed beetle. Department of Biology, 5305 Old Main Hill, Utah State University, Logan, UT 84322-5305.
- MIKKONEN, T., KOORT, J.M.K., BJORKKROTH, K.J. and SUKURA, A. 2005. Testing of amplified fragment length polymorphism (AFLP) technique as a tool for molecular epidemiology of *Trichinella nativa*. *Veterinary Parasitology*, 132: 19–22.
- MITCHELL, R. 1975. The Evolution of Oviposition Tactics in the Bean Weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.) *Ecology*, 56:696–702.
- MORENO, R.A.P., DUQUE, G.A., CRUZ, J. and TÓCHEZ, P.A. 2000. Life cycle and hostes of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 26(3): 131-135.
- NOSIL, P., GOMPERT, Z., FARKAS, T.E., COMEAULT, A.A., FEDER, J.L., BUERKLE, C.A. and PARCHMAN, T.L. 2012. Genomic consequences of multiple speciation processes in a stick insect. *Proceedings the royal of society*, 279(1749): 5058-5065.
- NWANZE, K.F., HORBER, E., and PITTS, C. W. 1975. Evidence for ovipositional preference of *Callosobruchus maculatus* for cowpea varieties. *Environmental Entomology*, 4(3): 409-412.
- NWANZE, K.F., and HORBER, E. 1976. Seed coats of cowpeas affect oviposition and larval development of *Callosobruchus maculatus*. *Environmental Entomology*, 5(2): 213-218.
- O'BRIEN, S.J. Genetic maps: locus maps of complex genomes. No. Ed. 5. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- OJIMELUKWE, P.C. and OGWUMIKE, F.C. 1999. Effects of Infestation by Bruchid Beetles (*Callosobruchus maculatus*) on the Nutritional Quality and Sensory Properties of Cowpea (*Vigna unguiculata*). *Journal of Food Biochemistry*, 23: 637-647.
- OSEKRE, E.A. and J. N. AYERTEY, J.N. 2004. Control of the cowpea beetle, *Callosobruchus maculatus* (F.)(Coleoptera: Bruchidae), on stored cowpea using vegetable oils. *Ghana journal of agricultural science*, 35(1): 103-110.
- ÖZAR, A.İ., GENÇ, H. 1987. Ege Bölgesi'ndedepolanan yemeklik baklagillerde bulunan Bruchidae (Coleoptera) türlerinin bulaşma ve zarar oranları üzerinde çalışmalar. Türkiye I. Entomoloji Kongresi, 341-350, İzmir

- ÖZGÜR, A.F. 1996. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Depolanmış Ürün Zararlıları Ders Kitabı. Adana.
- RANGWEN, R., AKKAYA, M.S. BHAGWAR, A.A., LAVI, U. and CREGAN, P.B. 1995. The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification. *Theor. Appl. Genet*, 90: 43-48.
- RIDOUT, C.J. and DONINI, P. 1999. Use of AFLP in Cereals Research. *Trends in Plant Science*, 4(2): 76-79.
- SADOZAI, A., NAEEM, M., Inayatullah, SHAH, M. and ASAD, A. 2003. Host Preference of Pulse Beetle *Callosobruchus maculatus* in different legumes. *Sarhad J. Agric.*, 4(19): 557-561.
- SECK, D., LOGNAY, G., HAUBRUGE, E., MARLIER, M. and GASPER, C. 1996. Alternative Protection of Cowpea Seeds Against *C. maculatus* Using Hermetic Storage Alone or in Combination with *Boscia senegalensis* (Pens). *J Stored Products Res.*, 32: 39-44.
- SEÇKİN, H. 1981. İstanbul, Bursa illeri ve çevrelerindeki bezelye, mercimek ve burçakta zarar yapan önemli Bruchidae türleri, tanınmaları, zararları ve ekonomik önemleri üzerinde araştırmalar. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü İstanbul Bölge Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, Araştırma Eserleri Serisi No: 15, 123s.
- SHIRAL, Y. and MORIMOTO ,N., 1999. A host shift from wild blue cohosh to cultivated potato by the phytophagous ladybird beetle, *Epilachna yasutomii* (Coleoptera, Coccinellidae). *Researches on population ecology*, 41(2): 161-167
- SINGH, S.R., JACKAI, L.E.N. 1985. Insect pests of cowpea in Africa: their life cycle, economic importance and potential for control. *Cowpea Research, Production and Utilisation*, 217(2): 459.
- SODEKE, T.E. and AKINDOJUTIMI, J. 2010. Control of Cowpea Storage Bruchid, *Callosobruchus maculatus* (Fabr) with Powders and Extracts of Some Selected Tropical Plants. Federal University of Technology Akure Doctoral dissertation.
- SOUNDARARAJAN, R.P., CHITRA, N., GEETHA, S. and POORANI, J. 2012. Biological control of bruchid *Callosobruchus maculatus* (F.) in blackgram. *JBiopest*, 5 (Supplementary): 192-195.
- SOUTHGATE B.J. 1979. Biology of the Bruchidae. *Annual Review of Entomology*, 24: 449-473.

- SRINIVASAN, T., DURAIRAJ, C., and SENGUTTUVAN, K. (2008). Comparative studies on the host preference by *Callosobruchus* spp.(Bruchidae: Coleoptera) on six edible legumes. *Journal of Experimental Zoology, India*, 11(1): 85-87.
- STAUB, J.E., KUHNS, J.J., MAY, B. and GRUN, P. 1982. Stability of Potato Tuber Isozymes Under Different Storage Regimes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 107: 405 – 408.
- STAUB, J.E., SERQUEN, F.C. and GUBTA, M. 1996. Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *HortScience*, 31: 729-740.
- TABUR, M., IZCILER, M., GUL, F. and KARACAN, I. (2009). Abrasive wear behavior of boronized AISI 8620 steel. *Wear*, 266(11): 1106-1112.
- TAMER, A. 1996. *Acanthoscelides obtectus* (Say) ve *Callosobruchus maculatus* F . 'un gelişme süresi üzerine sıcaklığın ve besinin etkilerinin araştırılması. Türkiye 3 Entomoloji Kongresi, 24-28 Eylül 1996, Ankara.
- TANKSLEY, S.D. 1993. Mapping polygenes. *Annu. Rev. Genet.* 27: 205-233.
- TANKSLEY, S.D., 1983. Molecular Markers in Plant Breeding. *Plant Mol. Biol. Rep.*, 1: 3-8.
- TANKSLEY, S.D., YOUNG, N.D., PATERSON, A.H. and BONIERBALE, M.W. 1989. RFLP Mapping in Plant Breeding. *Biotechnology*, 7: 257-264.
- TAYLOR, T. 1981. Distribution, Ecology and Importance of Bruchids Attacking Grain Legumes and Pulses in Africa. *Series Entomologica*, 19:199.
- TORRES-VILA, LM. and RODRIGUEZ-MOLINA,MC., 2013. Host plant-mediated reaction norms in the European grapevine moth: evidence for evolutionary host shift from daphne to vine. *Arthropod-Plant Interactions*, 7: 125–136.
- TUİK, 2013. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=100 [Erişim: 01.02.2014]
- TURANLI, D. ve KISMALI, Ş. 2011. Denizli ve Uşak illerinde depolanmış baklagillerde bulunan Bruchidae (Coleoptera) türleri. *Bitki Koruma Bülteni*, 51(2): 195-205.
- UTIDA, S. 1954. Phase Dimorphism in the Laboratory Population of *Callosobruchus quadrimaculatus*. *Oyo Dobutsugaku Zasshi*, 18: 161-168.
- UTIDA, S. 1972. Density-Dependent Polymorphism in the Adult of *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Stored Products Research*, 8: 111-126.
- VOS, P., HOGERS, R., BLEKEER, M. 1995. AFLP — a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23: 4407-4414.

- WANG, M.H. and HORNG, S.B. 2004. Egg Dumping and Life History Strategy of *Callosobruchus maculatus*. *Physiological Entomology*, 29: 26-31.
- WEISING, K., NYBOM, H., WOLFF, K. and MEYER, W. 1995. DNA Fingerprinting in Plants and Fungi Books. CRC Pres, 322 p.
- YANAGISAWA, T., KIRIBUCHI-OTOBE, C., HIRANO, H., SUZUKI, Y. and FUJITA, M. 2003. Detection of single nucleotide polymorphism (SNP) controlling the waxy character in wheat by using a derived cleaved amplified polymorphic sequence (dCAPS) marker. *Theoretical and Applied Genetics*, 107(1): 84-88.
- YÜCEL, A ve ÖZER, M. 1989. Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Baklagillerde Zararlı Baklagil Tohum Böcekleri, Yayılışları, En Önemli Türün Biyo Ekolojisi ve Savaş Yöntemleri. *Doğa, Türk Tarım ve Ormanlık Dergisi*, 13 (2): 361-381.

ÖZGEÇMİŞ

Sedef BEREKET, 1987 yılında Antalya/Merkez’de doğdu. İlköğretimi Barbaros İ.Ö.O. ve Meryem Mustafa İlköğretim Okulunda Antalya’da tamamladı. Lise öğrenimini Antalya Lisesinde tamamladı. Lisans eğitimini Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünde 2010 yılında tamamladı. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Bitki Koruma (Entomoloji) Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine 2011 yılında başladı ve halen yüksek lisans eğitimi devam etmektedir.