

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANTALYA BÖLGESİNDEN TOPLANAN BEYAZSİNEK, *Bemisia tabaci*
(Genn.), (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) POPULASYONLARINDA PARA-
TİP SODYUM KANAL VE ASETİLKOLİNESTERAZ GEN
BÖLGELERİNDEKİ MUTASYONLARIN SAPTANMASI

İnci ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

2012

**ANTALYA BÖLGESİNDEN TOPLANAN BEYAZSİNEK, *Bemisia tabaci*
(GENN.), (HEMIPTERA: ALEYRODİDAE) POPULASYONLARINDA PARATİP
SODYUM KANAL VE ASETİLKOLİNESTERAZ GEN BÖLGELERİNDEKİ
MUTASYONLARIN SAPTANMASI**

İnci ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**Bu tez 2012.02.0121.026 no'lu proje olarak Akdeniz Üniversitesi Bilimsel
Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.**

2012

**ANTALYA BÖLGESİNDEN TOPLANAN BEYAZSİNEK, *Bemisia tabaci*
(GENN.), (HEMİPTERA: ALEYRODİDAE) POPULASYONLARINDA PARATİP SODYUM KANAL VE ASETİLKOLİNESTERAZ GEN BÖLGELERİNDEKİ MUTASYONLARIN SAPTANMASI**

İnci ŞAHİN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

2012

ÖZET

ANTALYA BÖLGESİNDEN TOPLANAN BEYAZSİNEK, *Bemisia tabaci* (Genn.), (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) POPULASYONLARINDA PARA-TİP SODYUM KANAL VE ASETİLKOLİNESTERAZ GEN BÖLGELERİNDEKİ MUTASYONLARIN SAPTANMASI

İnci ŞAHİN

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Yard. Doç. Dr. Cengiz İKTEN

Haziran 2012, 50 sayfa

Pamuk beyazsineği, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), tüm dünyada birçok kültür bitkisinde görülen çok önemli zararlılardan biridir. Ayrıca, zararlı birçok gruptan insektisite karşı hızla direnç geliştirme kabiliyetine sahip olması nedeniyle kontrolü problemlidir. Bu çalışmanın amacı beyazsineğin Antalya Bölgesi populasyonlarında 4 farklı insektisite karşı direnç durumunu araştırmak ve piretroit ve organik-fosfat grubu insektisitlerle ilişkili *kdr* ve *ace* lokuslarındaki mutasyonları ortaya koymaktır.

Antalya'nın 6 farklı ilçesinden (7 farklı lokasyondan) toplanan beyazsinek populasyonları üzerinde çalışılmış ve duyarlı populasyon olarak 11.08.2009 tarihinden itibaren Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü iklim odalarında patlıcan bitkisi üzerinde yetiştirilen Koçarlı populasyonu kullanılmıştır. Populasyonların direnç düzeyleri daldırma biyoesseyi yöntemi ile *ace* ve *para*-tip sodyum kanalı gen bölgelerindeki farklılıklar ise DNA izolasyonu, agaroz jel elektroforezi, Sanger dizi analizi yöntemi ve kapiller elektroforezi kullanılarak tespit edilmiştir.

Yapılan biyoessey çalışması sonucunda tüm populasyon direnç düzeylerinin, cypermethrin için 2.2-164.5 arasında, deltamethrin için 0.3-2.9 arasında, chlorpyrifos-ethyl için 0.2-2.9 arasında ve thiamethoxam için 0.3-48.6 kat arasında değiştiği bulunmuştur. *ace* ve *kdr* lokusları bakımından hassas popülasyonda dahil olmak üzere tüm popülasyon bireylerinde yapılan DNA dizileme analizi sonucunda literatürde organofosfat direnci ile ilişkilendirilen F331W, piretroit direnci ile ilişkilendirilen L925I mutasyonları saptanmıştır. Piretroit direnç lokusunda bulunan ikinci mutasyon bölgesi T929V açısından ise bütün bireyler hassas alleli taşıdıkları belirlenmiştir. Bu lokusta her iki dayanıklılık allelini taşıyan bireye rastlanmamıştır. Ayrıca dizileme işlemine tabi tutulan bireyin hangi biyotipe ait olduğunu belirlemede *mtCOI* gen bölgesi taranmış ve referans *B. tabaci* biyotip bilgileri ile karşılaştırılmış ve tüm populasyonların B biyotipine ait oldukları tespit edilmiştir.

Genel olarak sonuçlar, Antalya bölgesi tarla ve örtüaltı alanlarda *B. tabaci* mücadelesinde organofosforlu ve piretroit grubu insektisitlerin kullanılmasının zararlı üzerinde tam etkili olmayabileceğine, zararlının son yıllarda thiamethoxam'a daha fazla maruz kaldığına ve son 3 yıl içerisinde direnç düzeyinin kontrol sağlanamayacak düzeye ulaştığına işaret etmektedir. Uygulama alanlarında dirençle ilişkilendirilen mutasyonların sabitlenmiş olması, mücadelede seçilecek insektisitlerin asetilkolinesteraz veya sodyum kanal etki mekanizmalı olmaması gerektiğini göstermektedir.

ANAHTAR KELİMELEER: DNA dizi analizi, *Bemisia tabaci*, mutasyon, *ace*, *kdr*, *mtCOI*, direnç

JÜRİ: Yard. Doç. Dr. Cengiz İKTEN

Prof. Dr. Cengiz TOKER

Yard. Doç. Dr.Fatih DAĞLI

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF MUTATIONS IN PARA-TYPE SODIUM CHANNEL GENE AND ACETYLCHOLINESTERASE GENE OF DIFFERENT COTTON WHITEFLY, *Bemisia tabaci* (Genn.), (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE), POPULATIONS FROM ANTALYA

İnci ŞAHİN

M.Sc. Thesis in Department of Plant Protection

Adviser: Asst. Prof. Dr Cengiz İKTEN

June 2012, 50 pages

Cotton whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), is one of most damaging insect pest on numerous cultivated crops worldwide. Furthermore, it has the ability to develop resistance to diverse group of insecticides rapidly, hence controlling the pest is problematic. The aims of current study are to investigate resistance status of different populations collected from Antalya, Turkey for four different insecticides and to detect pyrethroid and organophosphate resistance-associated mutations in *kdr* and *ace* loci, respectively.

A set of insect populations collected from 6 different counties of Antalya (7 different locations), and a susceptible lab population (Koçarlı) collected earlier and maintained since 11.08.2009 at the Entomology lab of Akdeniz University were used as insect materials. Leaf dip bioassay was employed for resistance screening and molecular diagnostic tools (DNA isolation, agarose gel electrophoresis, sanger sequencing with capillary electrophoresis) were used to monitor the frequency of the resistance mutations in the populations.

The results of bioassays were shown that resistance ratios ranged from 2.2 to 164.5 for cypermethrin, 0.3 to 2.9 for deltamethrin, 0.2 to 2.9 for chlorpyrifos-ethyl, and 0.3 to 48.6 for thiamethoxam. DNA sequencing results showed that all populations including susceptible population (Koçarlı) had the F331W mutation in *ace* locus which is associated with OP resistance and the L925I mutation in *kdr* locus, which is associated with pyrethroid resistance. On the other hand, T929V mutation wasn't found in any population. Furthermore, the two mutations in *kdr* locus did not occur together in the same individual. Moreover, *mtCOI* sequencing results indicated that all populations were B biotype.

Overall, the results indicated that the use of pyrethroid and organophosphate insecticides on whitefly may not be effective on the regions sampled. Furthermore, the pest has been exposed to thiamethoxam more frequently in recent years and the resistance level may have reached to uncontrollable levels in three years. The fact that mutations associated with resistances were fixed in all sample areas suggest that the insecticides for whitefly control should not target acetylcholinesterase and *para*-type sodium channel.

KEY WORDS: DNA sequence analysis, *Bemisia tabaci*, mutation, *ace*, *kdr*, *mtCOI*, resistance

COMMITTEE: Asst. Prof. Dr. Cengiz İKTEN

Prof. Dr. Cengiz TOKER

Asst. Prof. Dr. Fatih DAĞLI

ÖNSÖZ

Bu çalışmada tüm dünyada tarla ve örtüaltı alan yetiştiriciliğinde önemli bir zararlı olan *Bemisia tabaci*'nin Antalya Bölgesinden toplanan populasyonlarında organofosfat ve piretroit grubu insektisitlere karşı dirence sebep olduğu düşünülen mutasyonlar tespit edilmiştir.

Bu tez çalışmasında araştırmalar ve laboratuvar çalışmalarının tümü Bitki Koruma Anabilim Dalı Entomoloji Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında kullanılan tüm teknikleri ve gerekli donanımı sağlayan Sayın hocam Yard. Doç. Dr. Cengiz İKTEN'e göstermiş olduğu destek ve sabrından dolayı teşekkür ederim.

Çalışmada projeyi destekleyen Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonu'na, çalışma imkânlarını sunan Akdeniz Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Başkanlığına, çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen tüm bölüm arkadaşlarıma özellikle Esra BÖLÜCEK'e ve bana yüksek lisans döneminde her türlü desteklerini esirgemeyen değerli babam Nedim ŞAHİN, annem Ayşe ŞAHİN ve kardeşim Hidayet ŞAHİN'e yaptıkları tüm fedakârlıklardan dolayı teşekkürlerimi bir borç biliyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI.....	4
2.1 <i>Bemisia tabaci</i> (Genn.).....	4
2.1.1 Tanımı ve yaşayışı.....	5
2.1.2 Zarar şekli, ekonomik önemi.....	6
2.1.3 Konukçuları.....	7
2.2 Kaynak Taramaları.....	7
3. MATERYAL ve METOT.....	13
3.1 Materyal.....	13
3.1.1 Böcek materyali.....	13
3.1.2 Bitki materyali.....	13
3.1.3 İlaçlar.....	14
3.1.4 Moleküler çalışmalarda kullanılan kimyasallar.....	15
3.1.5 Çalışmalarda kullanılan cihazlar.....	15
3.2 Metot.....	15
3.2.1 Daldırma biyoesseyi.....	16
3.2.2 DNA izalasyonu.....	17
3.2.3 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) analizleri.....	18
3.2.4 DNA dizi analiz PZR' nın kurulma aşaması (sekanslama reaksiyonu)....	20
3.2.5 DNA dizi analizi çöktürme ve temizleme aşaması.....	21
3.2.6 Otomatik DNA dizi analizi aşaması.....	21
4. BULGULAR.....	22
4.1 Direnç Çalışmaları.....	22
4.1.1 Piretroit, cypermethrin'e direnç.....	22

4.1.2	Piretroit, deltamethrin'e direnç	23
4.1.3	Organofosfat, chlorpyrifos- ethyl'e direnç.....	26
4.1.4	Neonikotinoit, thiamethoxam'e direnç.....	26
4.2	Moleküler Çalışmalar	29
4.2.1	PZR sonuçları.....	29
4.2.2	DNA dizileme verileri.....	32
5.	TARTIŞMA.....	36
6.	SONUÇ.....	39
7.	KAYNAKLAR	41
	ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

bç	Baz çifti
dk	Dakika
DC volt	Doğru akım (sürekli akım)
rpm	Dakikadaki devir sayısı (revolutions per minute)
kg	Kilogram
Kb	Kilo baz (1000 baz çifti)
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
mm	Milimetre
sn	Saniye
°C	Santigrad derece
g	Yer çekimi ivmesi (santrifüj hız birimi)

Kısaltmalar

A	Adenin
AKE	Asetilkolinesteraz
<i>B. tabaci</i>	<i>Bemisia tabaci</i>
BHC	Klorlandırılmış hidrokarbon bileşimli ilaç
C	Sitozin
DD	Direnç Düzeyi
DDT	Dikloro difenil trikloroethan
cDNA	Komplementer (tamamlayıcı) DNA
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	Adenin, guanin, sitozin ve timinden oluşan nükleotid çözeltisi
e.m.	Etkili madde
FAO	Birleşmiş Milletler Beslenme ve Tarım Örgütü
G	Guanin
<i>kdr</i>	<i>para</i> -tip sodyum kanal gen bölgesi (knockdown resistance)
LC	Lethal (öldürücü) konsantrasyon
LD	Lethal (öldürücü) doz

LT	Lethal (öldürücü) zaman (lethal time)
OF	Organofosfat grubu kimyasalları
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu (Polimerase chain reaction)
T	Timin
vd	ve diğerleri
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Beyazsinek (<i>B. tabaci</i>) genel görünüşü (CABI 2012)	4
Şekil 2.2. Beyazsinek bitki özsuğunu emgi yaparken (Gullan ve Cranston 2004)	5
Şekil 2.3. Nimf dönemi dorsal görünüşü (Gullan ve Cranston 2004).....	5
Şekil 3.1. Yetiştirme kafesi	14
Şekil 4.1. Finike, Gazipaşa ve hassas populasyon olarak ele alınan Koçarlı populasyonları <i>kdr</i> lokusu PZR sonuçları (10'ar örnek, 146 bç, marker: 100 bç) ..	29
Şekil 4.2. Aksu, Kumluca, Eski Gazipaşa ve Tosmur populasyonları <i>mtCOI</i> lokusu PZR sonuçları (10'ar örnek, 760 bç, marker: 100 bç)	30
Şekil 4.3. Tosmur ve Gazipaşa populasyonları <i>ace</i> lokusu PZR sonuçları (10'ar örnek, 241 bç, marker: 100 bç)	30
Şekil 4.4. Kumluca, Tosmur ve Gazipaşa populasyonlarının BsrI kesim enzim ile yaklaşık 2 saat kesime maruz bırakılan <i>aceI</i> gen bölgelerinin agaroz jel (% 3.5) görüntüsü (Marker: 100 bç)	31
Şekil 4.5. <i>kdr</i> gen bölgesi içerisinde kesim bölgesi bulunan DdeI kesim enzim sonucu (Marker: 100 bç).....	32
Şekil 4.6. Konaklı populasyonu <i>kdr</i> gen bölgesi (yaklaşık 146 bç) nükleotit dizisine ait ham floresans sinyalleri	33
Şekil 4.7. Finike populasyonu <i>ace</i> bölgesi floresans veri örneği, yaklaşık 241 bç büyüklüğünde nükleotit dizisi örneği	33

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Populasyonlar, tarih ve toplandıkları konukçu bilgisi	13
Çizelge 3.2. Denemede kullanılan ilaçların, kimyasal grupları, etkili madde ve ticari isimleri	16
Çizelge 3.3. Beyazsinek populasyonları biyotiplerini belirleme amacıyla kullanılan <i>mtCOI</i> gen bölgesi primerleri PZR koşulları	19
Çizelge 3.4. Çalışmada <i>mtCOI</i> , <i>ace</i> , <i>kdr</i> gen bölgeleri için kullanılmış primer dizilimleri.....	19
Çizelge 3.5. Beyazsinek populasyonları biyotiplerini belirleme amacıyla kullanılan <i>ace</i> ve <i>kdr</i> gen bölgesi için PZR koşulları	20
Çizelge 3.6. Sekanslama reaksiyonunda kullanılan PZR programı	21
Çizelge 4.1. <i>Bemisia tabaci</i> populasyonlarına uygulanan cypermethrin'in LC ₅₀ ve LC ₉₀ değerleri	24
Çizelge 4.2. <i>Bemisia tabaci</i> populasyonlarına uygulanan deltamethrin'in LC ₅₀ ve LC ₉₀ değerleri	25
Çizelge 4.3. <i>Bemisia tabaci</i> populasyonlarına uygulanan chlorpyrifos-ethyl'in LC ₅₀ ve LC ₉₀ değerleri.....	27
Çizelge 4.4. <i>Bemisia tabaci</i> populasyonlarına uygulanan thiamethoxam'in LC ₅₀ ve LC ₉₀ değerleri	28
Çizelge 4.5. Proje kapsamında toplanan popülasyonların <i>ace</i> ve <i>kdr</i> lokuslarında allelik durumları.....	34
Çizelge 4.6. Önceki yıllarda farklı projeler kapsamında toplanan (2004 - 2005) beyazsinek bireylerinde <i>ace</i> ve <i>kdr</i> lokuslarının allelik durumları.....	35

1. GİRİŞ

Tarım alanlarında ve diğer sektörlerde kullanılan kimyasal savaş ilaçları, gerek hızla çoğalan dünya nüfusunun beslenmesi, gerekse tarımsal üretimin daha kazançlı olarak sürdürülmesi açısından birçok faydalar sağlamıştır. Fakat tarımsal üretimde pestisitlerin amaç dışı ve zamansız kullanımları, zararlıların direnç kazanması, yeni zararlıların ortaya çıkması, kalıntı sorunu, çevreye atılan endüstriyel atıklar ve diğer zehirleyici maddeler toplum sağlığını giderek artan boyutlarda tehdit etmektedir. Pestisitler içinde öldürücü etkisi en fazla olan ve kimyasal savaşta en çok kullanılan grubun insektisitler (böcek öldürücüler) olduğu olarak belirtilmiştir (Aksoy 1982, Kızıldenizli 1990, FAO/WHO 1993, Dökmeci 2000, Kayhan 2009). Belli bir zararlıya karşı kullanılan pestisitler, yalnız hedef türü öldürmekle kalmayarak, pek çok zararsız canlıyı da etkileyebilmektedirler (Sayılı ve Akman 1994).

Zararlılara karşı kimyasal madde kullanımı M.Ö. 2000 yıllarından daha gerilere gitmektedir (Mukundan 1964). Ancak, böceklere karşı kimyasal savaşta asıl ilerlemenin ise II. Dünya Savaşından sonra DDT (dikloro difenil trikloroethan) ve BHC'li (klorlandırılmış hidrokarbon bileşimli ilaç) ilaçların keşfedilmesi ve böcek öldürücü olarak kullanılmasıyla kaydedilmiştir (Aksoy 1982).

Yaşamları boyunca toksik ve kendileri için zararlı maddelere maruz kalan böceklerin çeşitli adaptasyonlar geliştirerek bu maddelere karşı direnç geliştirdikleri bilinmektedir. Böcekler de diğer yüksek organizmalar gibi çeşitli savunma mekanizmalarına sahiptirler. Örneğin; karasineğin (*Musca domestica* L.) fenobonbital'e karşı direnç düzeyinin artmasına yol açan, glutathion S-transferaz enzim miktarında 2-4 katlık bir artışın olduğu tespit edilmiştir (Hayaoka ve Dauterman 1982). Böceklerin kimyasal maddelere karşı oluşturduğu direnç sebebiyle araştırmacılar, yeni koşullarda hedef organizmalar için yeni ortalama yüzde elli öldürücü doz (LD₅₀), yüzde elli öldürücü konsantrasyon (LC₅₀) ve yüzde elli öldürücü zaman (LT₅₀) gibi değerleri saptanmaya çalışmaktadırlar (Serin 2009).

Böceklerde insektisitlere karşı oluşan direnç, mutasyonların etkisiyle metabolizma fonksiyonlarını ya da insektisitlerin hedef bölgelerini kontrol eden biyokimyasal yapıları etkileyen genetik bir olgudur (Ffrench-Constant vd 2004, Li vd

2007). Direnç yönetim sistemlerinde kullanılan önlemlerden bir tanesi insektisit direncinin erken teşhisidir. Tespit için geliştiren pek çok yöntem moleküler ya da biyokimyasal metodlara dayalıdır (Tsagkarakou vd 2009).

Kimyasal mücadele kapsamında kullanılan yüksek ve ani etkili insektisit grublarından biri organofosfor bileşikleridir. Böceklerde ve memelilerde sinir sisteminde nörotransmitter madde olarak görev yapan asetilkolinin toksik düzeylerde birikmesini önleyen asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederler. Organizmalarda bu inhibisyon, sinir sisteminin aşırı uyarılmasına, solunum faaliyetinin durmasına ve sonuçta ölüme neden olmaktadır (Balali-Mood ve Shariat 1998).

Karbamat ve organofosfat grubu insektisitlere karşı direncin ortaya çıktığı asetilkolinesteraz ve ilgili gen bölgesi mutasyonları önemli araştırma alanlarından birisini oluşturmaktadır (Fan vd 2009). 1940'lı yıllardan günümüze kadar sık ve oldukça geniş alanlarda kullanılan bu iki insektisit grubu direncin çok farklı böcek gruplarında gelişmesine sebep olmuştur. O zamandan günümüze kadar yapılan pekçok çalışmada, karbamat ve organofosfat grubu insektisitlere karşı direncin asetilkolinesteraz enzim aktivitesi ile ilişkili ve ilgili gen bölgesinde meydana gelen mutasyonların dirence sebep olduğu ortaya konmuştur. Çalışmalarda, asetilkolinesteraz enzimin kodlandığı *ace1* ve *ace2* adları verilen lokuslarına ve genellikle dirence, *ace1* lokusunda meydana gelen mutasyonların sebep olduğuna dikkat çekilmiştir (Shi vd 2004).

Sinir hücre membranında kapı görevi gören sodyum kanalı, belirli şartlarda sodyum iyonlarının hücreye geçişine izin verir (Romthamsted Research 2010). Piretroit grubu insektisitlerin vücut içerisinde primer hedef bölgelerinden biri sinir hücrelerinde bulunan sodyum kanal proteinleridir (Liu ve Pridgeon 2002, Huang vd 2004, Rinkevich vd 2006, Soderlund ve Knipple 2003). DDT gibi böcek sinir sisteminde etkili olan piretroit grubu insektisitler, sinir sistemi ve aksonlara etki ederek böceğin kasında motor kasılmaların geçici/kalıcı azalması ya da kaybolması ve ölümüne neden olurlar (Narahashi 1989, Soderlund ve Bloomquist 1989). Böceğin *para*-tip sodyum kanal gen bölgesinde meydana gelen nokta mutasyonları, birkaç böcek türünde tespit edildiği üzere piretroit grubu insektisitlere karşı hassasiyeti azaltıp dirence sebep olduğu

bildirilmiştir (Vais vd 2000). Para-tip sodyum kanal bölgesini hedefleyen ve 1940 yıllarında kullanılmaya başlanan DDT, sodyum kanal mutasyonlarının başlangıç sebebi olarak düşünülmektedir (Anstead vd 2004).

Bemisia tabaci (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), tüm dünyada tarla ve örtüaltı alan yetiştiriciliğinde özellikle de kültür bitkilerinde görülen önemli bir zararlıdır (Brown vd 1995, Oliveira vd 2001). Dünya üzerinde geniş yayılma alanlarına sahip olan beyazsineğin 111 üzerinde virüs taşıyıcısı olduğu bilinmektedir (Martin vd 2000, Jones 2003). Birkaç kimyasal uygulamasından sonra direnç geliştirebilen bu türün kontrol altına alınması da oldukça problemlidir (Denholm vd 1998, Horowitz vd 2005, Nauen ve Denholm 2005, Perring 2001, Phytosanitary Alert System 2005).

Bu çalışmada Antalya Bölgesinden toplanan *B. tabaci* populasyonlarının, asetilkolinesteraz (*ace*) ve para-tip sodyum kanal (*kdr*) gen bölgeleri bakımından DNA dizi analizleri yapılarak dirençli ve hassas beyazsinek populasyonları arasındaki dizilim farklılığı ile insektisitlere dirence sebep olan bu iki gen bölgesindeki nokta mutasyonlarının tespitinin sağlanması hedeflenmiştir.

2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI

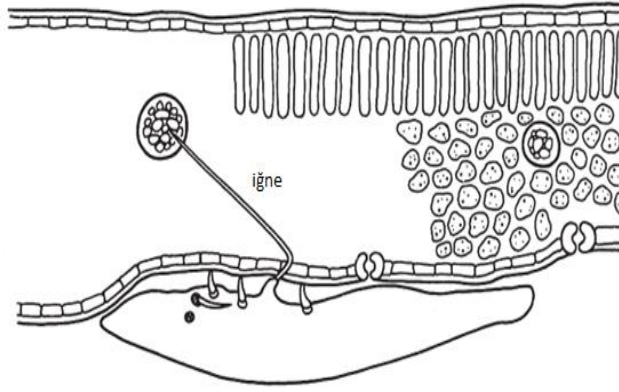
2.1 *Bemisia tabaci* (Genn.)



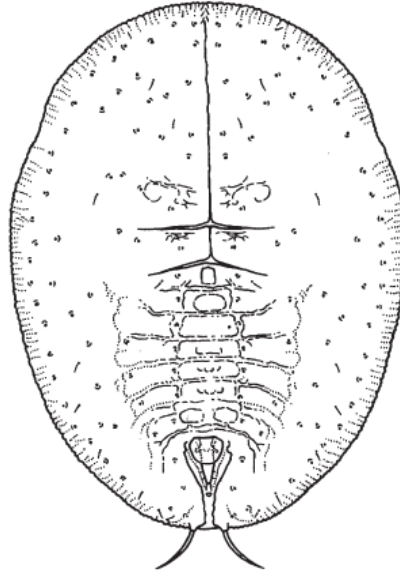
Şekil 2.1. Beyazsinek (*B. tabaci*) genel görünüşü (CABI 2012)

Tütün, pamuk veya tatlıpatates beyazsineği olarak adlandırılan *B. tabaci* Genn. (Hemiptera: Aleyrodidae) tropikal ve subtropikal bölgelerde özellikle pamuk gibi lifli gıdalar, sebze ve süs bitkilerinde zarar yapar. Nimfleri, küçük iğnesiyle bitki floeminden emgi yaparak beslenir (Şekil 2.2) (Gullan ve Cranston 2004, Cohen vd 1998). 1980'lerden bu yana yayılmaya devam eden beyazsineğin orijini orta doğu olarak kabul görmektedir (Gullan ve Cranston 2004).

Zararı, bitkide emgi yaparak doğrudan virüs taşımaları ve emgi sırasında fumajin salgılamaları ile dolaylıdır (Uygun ve Elekçioğlu 1990). Ekonomik zararları nedeniyle birçok ülkede sistematik, biyolojik, ekolojik, genetik açıdan araştırmalar çok uzun yıllar önce başlamış ve günümüzde de halen daha devam etmektedir (Uygun ve Elekçioğlu 1990).



Şekil 2.2. Beyazsinek bitki özsuynunu emgi yaparken (Gullan ve Cranston 2004)



Şekil 2.3. Nimf dönemi dorsal görünüşü (Gullan ve Cranston 2004)

2.1.1 Tanımı ve yaşayışı

Erginleri 1 mm boyunda olan beyazsineğin genel görünüşte beyaz vücudu aslında mum tabakası ile kaplıdır ve yakından bakıldığında vücudu sarı renklidir (Şekil 2.1). Erkeklerde abdomen uca doğru sivrilmiştir. Kırmızı göz rengine sahip beyazsineğin anteni 7 segmentten meydana gelir ve kanatları dinlenme halinde vücudu çatı gibi örter (Anonim 2008).

Yeni koyulduğunda beyaz renkte, olgunlaşmaya doğru ise kahverengi olan beyazsinek yumurtalarının boyu 0.25 mm'dir. Yumurta gelişmesi için gerekli olan nemi

yaprak yüzeyine dik olarak tutunmasını sağlayan yumurta sapıyla doğrudan bitki hücrelerinden eder. Bu nedenle hava nemine bağımlılığı düşüktür (Anonim 2008).

Yumurtadan yeni çıkan soluk renkli larva oval şekilli ve hareketlidir. Bacak ve antenlerin kaybolduğu ve üzerini mum tabakası ile kapatıp kabuklubit görünümünü aldığı döneme yaklaşık 8 saatte geçer. Larva hortumu ile yaprak dokusuna kendini sabitleyebilir ve 4 larva dönemi geçirir. Son dönem larvası çıplak gözle görülebilecek kadar yaklaşık 0.8 mm boyunda yeşil- sarı renkli olup şişkinleşir (Şekil 2.3) (Anonim 2008).

Üçüncü dönemin sonunda sırtı hafifçe yükselerek ve rengi koyulaşarak dördüncü döneme giren larva pupa olarak adlandırılır. Soluk sarı renkli, oval şekilli, 0.7 mm boyundaki pupa üzerinde tür teşhisinde de kullanılan, diken şeklinde 12 ila 14 adet çıkıntıya sahiptir. Bu dönemde kırmızı gözler belirginleşir ve beslenme durur. Gelişimini tamamlayan ergin, pupa kabuğunun dorsalini T şeklinde yırtar ve ergin olarak çıkar (Anonim 2008).

Ergin çıkışından sonra ilk olarak sebze mayıs ayıyla birlikte de pamukta görülmeye başlar. Dişilerinin birkaç defa çiftleşebildiği beyazsinek ergini yazın 1-8 saat, kışın ise 2-3 saat sonra çiftleşmeye başlar. Yumurta koymak için taze yaprakları ve genelde yaprakların alt yüzeyini tercih eden dişiler, çiftleştikten 2 ila 4 gün sonra yumurta bırakırlar. 26-27 °C ve % 60'ın üzerinde nem bulunan ortamlarda, bir dişi ortalama 300 kadar yumurta bırakabilir. 30 °C'de 4 günde, 25 °C'de 6 günde yumurtaların açıldığı kaydedilmiştir (Anonim 2008). Yazın larva dönemi (pupa dönemi dâhil) 10-11 gün süren zararlı yılda 9-10 döl verebilme kabiliyetine sahiptir. Erkeklerin % 26'yı oluşturduğu beyazsinek popülasyonlarında erginler yazın 1-2 hafta, kışın 2 aya kadar yaşarlar (Anonim 2008). Akdeniz Bölgesinde kışı da üreyerek geçirebildiği için konukçuları üzerinde zararlılığının bütün dönemlerine rastlanabilir (Anonim 2008).

2.1.2 Zarar şekli, ekonomik önemi

Beyazsineğin hem ergin, hem de larvasının bitki öz suyunu emerek beslenmesinden dolayı zayıf düşen bitkinin gelişimi yavaşlar. Zararlı popülasyonu yoğun olduğunda ise bitki gelişimi tamamen durur, meyve tutma kapasitesi düşer. Tutan meyve gelişimi tam olmadığından verim azalır (Anonim 2008).

Zararlı popülasyonunun yoğun olduğu durumlarda, özellikle bitkinin alt ve orta yapraklar olmak üzere her yeri, ergin ve larvaların salgıladığı ballı madde ile kaplanır. Bu ballı maddeye yapışan funguslar nedeniyle bitki siyah bir görünüm alır. Ballı madde bitkinin stomalarını kapatır, solunum ile fizyolojisini etkiler. Ülkemizde pamuk ekilen tüm alanlarda görülen beyazsineğin salgıladığı yapışkan maddenin kütlüye buluşmasıyla pamuk bitkisindeki zarar % 67'yi bulabilir (Anonim 2008).

Gullan ve Craston'de (2004) beyazsineğin yaptığı zararı şöyle özetlemişlerdir;

- Bazı konukçularında fizyolojik değişikliklere sebep olur. Örneğin; domateste düzensiz büyüme, balkabağı ve sakız kabağında gümüş yaprak oluşumu gibi.
- Yapraklarda fumajin oluşur.
- Zarardan sonra kara küf meydana gelir.
- 110'dan fazla virüs transferi, özellikle geminivirüsler (Geminiviridae) için virüs vektörüdür.

2.1.3 Konukçuları

Pamuk, hıyar, kavun, patates, kabak, karpuz, biber, domates, patlıcan, gülhatmi, bamya, fasulye, susam, soya, ayçiçeği, tütün, yerbıstığı, gül, maklora, maydanoz, trabzon hurması, yonca, kasımpatı, kayısı, leylak gibi kültür ve süs bitkileri yanında 23 yabancı ot türü konukçuları arasındadır (Anonim 2008).

2.2 Kaynak Taramaları

Ekonomik zararları nedeniyle, *B. tabaci* üzerinde sistematik, biyolojik, ekolojik, genetik vb. açıdan araştırmalar çok uzun yıllar önce başlamış ve günümüzde de halen daha devam etmektedir. 1986-1987 yıllarında Doğu Akdeniz Bölgesinde (Hatay, Adana, İçel ve çevresinde) bulunan yabancı bitkiler ve ekonomik öneme sahip kültür bitkilerinden toplanan beyazsinek örneklerinde tür teşhisi yapılmıştır (Uygun ve Elekçioğlu 1990).

Venezuela’da 1980 yılı sonlarında kavun bitkisinde ekonomik zarara sebep olduğu tespit edilen beyazsinek 1990 yılı başlarında domates, susam gibi tek yıllık bitkilerde de rapor edilmiştir. 1995 yılında Orta Doğu, Avrupa, Kuzey ve Orta Amerika ve Karayip Havzasında önemli zararlılardan biri olan tatlı patates beyazsineği, *B. tabaci* (Genn.), üzerinde yapılan çalışmada, beyazsinek dönemleri hakkında bilgi edinme amaçlanmıştır (Salas ve Mendoza 1995).

B. tabaci’nin biyolojisi, yaşadığı çevre ve zarara neden olduğu konukçuya bağlı olarak değişim gösterebilmektedir. Aydın ve Şekeroğlu (2008)’nin yaptıkları çalışmada, Çukurova bölgesinde yaygın olarak kullanılan Deltapine pamuk çeşidinde ve farklı pamuk çeşitlerinde, *B. tabaci*’nin biyolojik dönemleri ile ilgili parametreler araştırılmıştır.

Antalya’nın 8 bölgesinde (Alanya (2), Aksu, Kumluca, Uncalı, Manavgat, Göynük, Serik) farklı bitkiler üzerinden toplanan *B. tabaci* populasyonlarında AFLP yöntemi yardımıyla genetik varyasyon araştırılmıştır. Konukçu seçiminde ya da adaptasyonda genetik varyasyonun önemli olabileceğinden yola çıkan araştırmacılar, populasyonların pamuk ve sebze olmak üzere iki ayrı kolda toplandığını saptamışlardır (Göçmen ve Devran 2002).

Organofosfat insektisit inhibitörü, asetilkolinesteraz ile karboksilesteraz, iki enzim grubları üzerinde yapılan çalışmada, *B. tabaci* türünün B biyotipinde biyoessey, biyokimyasal, real time PZR gibi yöntemler kullanılarak hassas ve dayanıklı populasyonlardan elde edilen *ace1* ve *ace2* gen bölgesi incelenmiştir. Yapılan bu biyokimyasal testlemelerle *ace1* bölgesinde nokta mutasyonu tespit edilmiştir. Aynı zamanda çalışmada *B. tabaci* için ilk kez rapor edilen karboksilesteraz gen bölgesine (*coe1* ve *coe2*) ait verilere de yer verilmiştir (Alon vd 2008).

B. tabaci ile mücadelede birlikte kullanılan piretroit ve organik fosforlu sınıfında yer alan insektisitlere karşı direnç ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Bu iki insektisit grubu direncinin birlikte işlendiği çalışmada, *para*-tip sodyum kanal gen bölgesindeki L925I ve T929V piretroit direnç mutasyonları ile asetilkolinesteraz enzimi *ace1* gen bölgesindeki F331W organik fosforlu sınıfı direnç mutasyonu rapor edilmiştir (Tsaykarakou vd 2009). Bu çalışmada piretroit ve organik fosforlu sınıfında yer alan

ilaçların sıklıkla kullanıldığı Yunanistan'ın Girit Adasından toplanan Q biyotipi üzerinde, piretroit direnç mutasyonları frekansının yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Yine Yunanista'nın Girit adasından toplanan Q biyotipi beyazsinek direnç mekanizması ile ilgili araştırma yapmak üzere Roditakis vd (2006), piretroit grubu insektisitlerinden olan α -cypermethrin kimyasalını test etmişlerdir. Araştırmada piretroit insektisitlerin LC'sini ortaya koyan biyoessey yöntemi yanında biyokimyasal esseylerle COE (karboksilesteraz) ve GST (Glutasyon S- transferaz) enzim aktiviteleri de belirlenmiştir. *B. tabaci*'nin *para*-tip sodyum kanal gen bölgesinin taranmasıyla; L925I mutasyonunu ve ikinci olarak threonine (ACT)-valine (GTT) aminoasiti ile yer değiştirmesi ile meydana gelen T929V isimli mutasyon tespit edilmiştir.

Vassiliou vd (2010) kapsamlı bir direnç taraması çalışması gerçekleştirmişler ve Kıbrıs adasında 8 farklı lokasyondan toplanan beyazsinek populasyonları üzerinde neonikotinoit insektisitlerinden imidacloprid, acetamiprid ve thiamethoxam ile piretroit sınıfından bifenthrin kimyasallarının direnç durumunu ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada dayanıklı bireylerin hepsinde asetilkolinesteraz enzimini kodlayan *ace1* geni üzerinde F331W olarak isimlendirilen mutasyon olduğu tespit edilmiştir.

Dünyanın farklı bölgelerini içeren den 13 lokasyondan toplanan beyazsinek populasyonları ile çalışma yapan Alon vd (2006), 2002 yılında yaptıkları B biyotipi bireyler üzerinde *para*-tip sodyum kanal L925I adlı mutasyonun tespit edildiği çalışma verilerini referans olarak kullanılmışlardır. Çalışmada sinerjist olarak organofosfat grubundan asefat, piretroitlerden ise fenprothrin kimyasalı ile muamele edilen yaprak diskleri, daldırma biyoessey yöntemiyle test edilerek, Q biyotipi beyazsinek populasyonları üzerinde piretroit direnci ile L925I ve T929V mutasyonları arasındaki ilişki ortaya konmaya çalışılmıştır. Ayrıca biyotipler arasındaki piretroit direncinin çoklu orijine sahip olduğu ile ilgili hipotezlerini destekler nitelikte filogenetik ağaç ve frekans bilgileri elde etmişlerdir.

Morin vd (2002) yaptıkları çalışma beyazsinek populasyonlarının *para*-tip sodyum kanalı gen bölgesindeki farklı allellerde bulunan (918 pozisyonunda methionine aminoasitinin valin aminoasitine) M918V ve (leucine aminoasitininde isoleucin aminoasitine (925 pozisyonunda) L925I isimli 2 mutasyonu üzerinedir. Çalışmanın

amacı, bu iki mutasyonun piretroit (fenprothrin) ile organik fosfor (acephate) karışımına olan dirençte rol oynayıp oynamadıklarının tespiti olarak belirtilmiştir. Yapılan bağlantı analizinde ilk kez Morin ve arkadaşlarının bu çalışmada rapor ettikleri ve *para*-tip sodyum kanal gen bölgesinde bulunan L925I isimli mutasyon ile piretroit ve organik fosfor karışımı arasında ilişki bulunmuştur. Ancak direncin diğer direnç mekanizmalarını da kapsayacağı sonucuna varılmıştır.

Doğu Çin'de 5 farklı tarıma arazisinden toplanan Q biyotipi beyazsinek populasyonunun, 6 insektisit ile direnç seviyeleri test edilmiş, *ace1* gen bölgesi mutasyonu (F331W) ve *para*-tip sodyum kanal mutasyonları (L925I ve T929V) bakımından taranmıştır. Referans B biyotipi populasyonun test edilen dichlorvos, cypermethrin, imidacloprid ve nitenpyram için hassas fakat carbosulfan ve abamectin için dirençli olduğu bilgisi verilen çalışmada, test edilen 5 populasyonun neonikotinoitlere (imidacloprid ve nitenpyram) yüksek dirençli iken dichlorvos ve cypermethrin'e düşük direnç gösterdiği görülmüştür. Tüm populasyonlarda ise carbosulfan ve abamectin insektisitlerine karşı hassasiyet saptanmıştır. Doğu Çin'de bulunan Q biyotipine karşı direnç yönetiminde kullanılacak veriler elde etmeyi amaçlayan araştırmacılar, *ace1* gen bölgesi mutasyonu F331W'e tüm populasyonlarda rastlamışlardır (Yuan vd 2012).

Mutasyonların direnç ile ilişkisini ortaya koymada değişik organizmalar çalışmalara konu olmuştur. Başkurt (2010) tarafından gerçekleştirilen yüksek lisans çalışmasında, Ege ve Akdeniz Bölgelerindeki 16 farklı ilden toplanan Karasinek (*Musca domestica* L.) populasyonları üzerine çalışılmıştır. Organofosfat ve karbamat grup insektisitlere karşı dirençli ve duyarlı soyların karşılaştırılmasıyla *ace* geninin ürettiği asetilkolinesteraz (AKE) enzimindeki değişimler gözlemlenmiştir. Her ilden toplam 65 adet karasinek örneğinin gövde kısmından elde edilen DNA ile PZR kurularak *ace* geni kısmi baz dizi analizi ile gen frekansları belirlenmiştir. Ancak çalışılan örneklerin baş kısımlarından elde edilen homojenatlarla ortalama % kalan AKE enzim aktivitesi biyokimyasal olarak belirlenerek analiz edildiğinde, direnç ile genetik kombinasyonlar arasında doğrudan bir ilişki bulunamamıştır.

Javed vd (2003) yapmış oldukları araştırmada, *Myzus persicae* (Sulzer), *Aphis gossypii* (Glover), *B. tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) hemipter turleri uzerinde asetikolinesteraz enzimi ve bu enzimin kodlandığı *ace* geni ile ilgili mutasyonla ilişkilendirmek üzere karakterizasyon yapılmıştır. Asetikolinesteraz enzimi karakterizasyonunda yeni reversible inhibitörler kullanılmış ve bu dört hemipter'in cDNA'larından (komplementer (tamamlayıcı) DNA) elde edilen sekans bilgilerinde insektisit hassasiyetini ortadan kaldıracak bir mutasyon tespit edilememiştir. Bu çalışmada hemipter türlerinde de diğer *ace* gen lokusunun karakterizasyon yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Beyazsineğin ekonomik zararı nedeniyle birçok ülkede sistematik, biyolojik, ekolojik, genetik vb. açıdan araştırmalar çok uzun yıllar önce başlamış ve günümüzde de halen daha devam etmektedir. Dünya literatüründe tütün, pamuk veya tatlı patates beyazsineği olarak isimlendirilen *B. tabaci* Yunanistan'da tütün tarlalarındaki (1889) ilk keşfinden sonra yapılan genetik çalışmalarda A, B, H, K, M, S ve Q gibi farklı biyotipleri tespit edilmiştir (De La Rúa vd 2006, Perring 2001, Viscarret vd 2003, Cervera vd 2000, Bedford vd 1994). Biyotiplerin direnç farklılıklarının araştırması ya da moleküller teşhisi, aslında farklı genetik tiplere sahip olması ve hatta farklı bir tür olabileceğini ortaya koyma amacıyla yapılmıştır (Topakçı 2008). Bunlardan en yaygın olan B ve Q biyotipleri ile yapılan birçok pestisit direnç taraması ve moleküller teşhis çalışmaları bulunmaktadır (Vassiliou vd 2010, Houndete vd 2010, Karunker vd 2008, Göçmen vd 2007, Xie vd 2010, Yuan vd 2012). Bu iki biyotipin bir arada yaşadığı coğrafyalardan biri olan Çin'de Luo vd (2010) neonicotinoit insektisit grubu ilaçlara karşı direnç farklılığını gözlemişlerdir. Yapılan biyoesseylerde B biyotipi bireylerin acetamiprid, imidacloprid ve thiamethoxam'a hassas, Q biyotipi bireylerin ise 20 ila 170 kat daha dirençli olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada, Çin bölgesinde kullanılan neonicotinoit insektisit grubu ilaçların Q biyotipi bireylerin seleksiyonuna sebep olduğu sonucuna varılmıştır.

Zararlı kontrolünde kullanılan insektisit direnç mekanizmalarının aydınlatılması çalışmalarında, ağırlıklı olarak biyokimyasal ve genetik analizler kullanılır. Zararlı biyolojisi, insektisit içeriğini, etki metabolizmasının irdelenmesi gerektiği vurgulanan, Perry vd (2011) yaptıkları çalışmada, *Drosophila melanogaster* (Meigen) modeli

üzerinden metabolik, hedef bölge ve yeni direnç mekanizmaları açısından insektisit direnç ve aktivitelerini ortaya koymaya çalışmışlardır.

Houndete vd (2010) Batı Afrika'da Benin, Togo ve Burkina Faso Bölgelerindeki pamuk tarlalarından topladıkları tütün beyazsineği olarak da adlandırılan *B. tabaci* üzerinde direnç taraması yapmışlardır. Değişik insektisit gruplarından 8 insektisit kullanılarak yapılan ve direncin yaprak daldırma biyoessey yöntemi kullanılarak tespit edildiği çalışmada, en yüksek dirence sahip bireyler Burkina Faso bölgesinden toplanan populasyonlar olduğu belirlenmiştir. Direnç bakımından ikinci sırada bulunan Benin Bölgesi populasyon bireyleri, Togo Bölgesi populasyonları için çokça toksit olan bifenthrin, thiamethoxam ve pymetrozine insektisitlerine direnç göstermiştir.

Roditakis vd (2005) yılında yaptıkları çalışma, Kıbrıs'ta bulunan dördü sera, bir tanesi tarladan toplanan 5 beyazsinek populasyonunun direnç tespiti üzerinedir. Bu populasyonların SUD-S adlı hassas populasyonla karşılaştırmak suretiyle, cypermethrin, bifenthrin, pirimiphos-methyl, endosulfan ve imidacloprid insektisitlerine karşı dirençleri tespit edilmiştir. Kavun tarlasından elde edilen beyazsinek populasyonu ise referans populasyona kıyasla tüm insektisitler için daha hassas olduğu tespit edilmiştir.

İçerisinde laboratuvar populasyonunun da bulunduğu 11 beyazsinek populasyonuna, 3 organofosfat, 3 piretroit ve 3 organofosfat/piretroit karışımı ile biyoessey yapılan çalışmada, farklı biyotipler üzerinde direnç farkına bakılmış ve biyotip ile direnç arasında doğrudan bir ilişki bulunamamıştır. Çalışmada denenen piretroit grubu cypermethrin'e tüm populasyonlarda yüksek direnç gözlenmiştir (Cahill vd 1995).

İsrail'de konukçusu pamuk olan beyazsinek populasyonu üzerinde yapılan biyokimyasal ve biyoessey araştırmalar sonucunda yaprak daldırma biyoesseyi ile test edilen chlorpyrifos insektisitine karşı dirençli bireylerde asetilkolinesteraz aktivitesinin yoğun olduğu tespit edilmiştir (Byrne vd 1994).

Pakistan'da *B. tabaci* türü üzerinde yapılan araştırmada test edilen 4 piretroit grubu insektisitinden birisi olan deltamethrin'e direncin referans populasyona göre yüksek olduğu görülmüştür (Ahmad vd 2002).

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Böcek materyali

Bu çalışmada Antalya'nın 6 farklı ilçesinden (7 farklı lokasyondan) toplanan beyazsinek, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) populasyonları üzerinde çalışılmıştır. Finike, Kumluca, Alanya/Konaklı, Alanya/Tosmur, Serik, Gazipaşa, Aksu İlçelerinden toplanan böcek populasyonları 3-4 generasyon boyunca iklim odalarında (26 ± 1 °C sıcaklık ve 16 : 8; aydınlık : karanlık) yetiştirilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Populasyonlar, tarih ve toplandıkları konukçu bilgisi

Populasyonlar	Toplandığı Tarih	Toplandığı Bitki
Serik	31.05.2011	Kabak, Plastik sera
Aksu	28.07.2011	Susam, Açık arazi
Tosmur	31.05.2011	Domates, Cam/plastik sera
Konaklı	31.05.2011	Domates, Plastik sera
Gazipaşa	31.05.2011	Domates, Cam sera
Finike	03.06.2011	Salatalık-patlıcan Cam sera
Kumluca	03.06.2011	Domates, Plastik sera

Çalışmada, 11.08.2009 tarihinden itibaren Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Entomoloji bölümü iklim odalarında patlıcan bitkisi üzerinde yetiştirilen “Koçarlı” populasyonu hassas populasyon olarak ele alınmıştır. Ayrıca yine aynı tarihlerde toplanan ve günümüze kadar iklim odalarında patlıcan bitkisinde çoğaltılıp bakılan “eski Konaklı” ve “eski Gazipaşa” populasyonları da referans populasyon olarak hem biyoessey hem de moleküller yöntemlerde kullanılmış ve değerlendirmeye alınmıştır.

3.1.2 Bitki materyali

Toplanan böcek materyallerinin üretimi için iklim odasında (26 ± 1 °C sıcaklık ve 16 : 8; aydınlık : karanlık) tohumdan yetiştirilen patlıcan, *Solanum melongena* L. bitkileri kullanılmıştır. Biyoesseylerde, yine tohumdan yetiştirilen, 1-2 haftalık pamuk

(*Gossypium hirsutum* L.) yapraklarından elde edilen yaprak diskleriyle ilaç denemeleri yapılmıştır.

Seralardan emgi tüpü yardımıyla toplanan erginler, iklimlendirme odalarında 20 lt'lik, ağız kısmı ile yan tarafların bir bölümü havalandırma için tülle kaplı olan plastik kapların içinde, iklimlendirme odalarında yetiştirilen sağlıklı patlıcan bitkileri üzerine bırakılmıştır. Ayrıca üzerinde beyazsineğin ergin öncesi dönemlerinin bulunduğu yapraklar toplanmış ve elde edilen erginlerde yine iklimlendirme odasındaki plastik kaplar içindeki patlıcan bitkileri üzerine salınmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Yetiştirme kafesi

3.1.3 İlaçlar

Farklı kimyasal gruplarından seçilen ilaçlar, bunların ticari isimleri ve kimyasal grubları çizelge 3.2'de verilmiştir. Bu çizelge yer alan cypermethrin ve chlorpyrifos-ethyl daha önceki çalışmalarda kullanılmak üzere laboratuvarında mevcut iken, deltamethrin ve thiamethoxam lokal firmalardan temin edilmiştir. İlaç konsantrasyonu hazırlamada stok solüsyon olarak kullanılan Triton X-100 kimyasalı Merck firmasına aittir.

3.1.4 Moleküler çalışmalarda kullanılan kimyasallar

Doyle ve Doyle (1987)'in geliştirdikleri DNA izalasyonunda, CTAB, EDTA, protein K enzimi ve izoamil alkol kimyasalları “Ambresco” firmasına, NaCl, Trisma base, Etanol ve Kloroform kimyasalları “Sigma-Aldrich” firmasına ve isopropanol kimyasalı da “Merck” firmasına ait ürünlerdir.

PZR reaksiyonunda kullanılan tüm ürünler (2.5 mM MgCl₂, 1X Taq buffer, Taq polimeraz, dNTP) “Fermantas” firmasına, primerler ise “Invitrogen” firmasına aittir. Elde edilen PZR ürünlerini görüntülemek için “Sigma-Aldrich” markalı EtBr (ethidium bromide) ve “SeaKem LE” markalı agaroz kullanılırken, dizi analizi verilerini desteklemede yararlanılan BsrI ve DdeI kesim enzimleri “Fermantas” firmasından temin edilmiştir.

DNA dizi analizi PZR aşamasında, Beckman kiti (GenomeLab™ Methods Development Kit, Beckman Coulter), çöktürme ve temizleme aşamasında Na₂EDTA (Serva), 3M Na Asetat (Serva), Glikojen (Fermantas), saf formamide SLS (Scientific Laboratory Supplies Ltd.) kimyasalları kullanılmıştır. Çalışmada, sekanslama işlemi için “Beckman 8000 CEQ Genetik Analiz” cihazı firmasına ait kimyasallar kullanılmıştır.

3.1.5 Çalışmalarda kullanılan cihazlar

- DNA izalasyonunun inkübasyon basamağı için “Boeco Bio TDB-100” kuru blok ısıtıcı cihazı kullanılmıştır.
- PZR için “PeqLab primus 96” cihazı kullanılmıştır.
- Sekanslama işlemi için “Beckman 8000 CEQ Genetik Analiz” cihazı kullanılmıştır.

3.2 Metot

Böcek popülasyonları arasındaki direnç düzeylerini belirlemek için daldırma biyoesseyi yapılmıştır. Böcek popülasyonları arasındaki *ace* ve *kdr* gen bölgelerindeki

farklılığı ortaya çıkarmak için DNA izalasyonu, agaroz jel elektroforezi, dizi analizi yöntemi, Beckman kiti, kapiller elektroforezi kullanılmıştır.

3.2.1 Daldırma biyoesseyi

Denemelerde, Antalya ili ilçelerinden toplanan *B. tabaci* populasyonları ile daha önce sözü edilen hassas populasyon ve referans populasyonlar kullanılmıştır. Organik fosforlu, piretroit ve neonikotinoit grubu insektisitler kullanılarak yürütülen biyoessey çalışmaları sonucunda probit analizi ile tüm populasyonların LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri belirlenmiştir (Çizelge 3.2). Standart hassas populasyondan elde edilen LC₅₀ ve LC₉₀ değerine oranlama yapılarak, populasyonların direnç düzeyleri de hesaplanmıştır.

İlaç konstrasyonları hazırlanırken, etkili maddeye homojen bir uygulama yapmak için 1 : 1 oranında, % 0.02'lik Triton X-100 içeren saf su ile seyreltilerek stok solüsyon hazırlanmıştır. Stok solüsyondan yapılan tüm seyreltmelerde % 0.02'lik Triton X-100 içeren su ve kontrolde de saf su kullanılmıştır. Denemelerde “deltamethrin” için 250 mg/L, 25 mg/L, 2.5 mg/L, 0.25 mg/L dozları, “thiamethoxam” için 240 mg/L, 24 mg/L, 2.4 mg/L, 0.24 mg/L dozları, “cypermethrin” için 2250 mg/L, 750 mg/L, 75 mg/L, 7.5 mg/L, 0.75 mg/L dozları hazırlanırken “chlorpyrifos-ethyl” için 2700 mg/L, 270 mg/L, 27 mg/L, 2.7 mg/L dozları hazırlanmıştır.

Çizelge 3.2. Denemede kullanılan ilaçların, kimyasal grupları, etkili madde ve ticari isimleri

Kimyasal grubu	Etkili madde adı	Ticari adı ve formülasyon şekli	Etkili madde oranı
Organik Fosforlu	Chlorpyrifos-ethyl	Dursban EC	135 g/L
Sentetik Piretroit	Deltamethrin	Declare EC	25 g/L
Neonikotinoit	Thiamethoxam	Actara SC	240 g/L
Sentetik Piretroit	Cypermethrin	Imperator EC	250 g/L

Yöntemde, % 0 ile % 100 arasında ölüm meydana getirmesi hedeflenen ilaç konsantrasyonları (mg/L etkili maddesine göre en yüksek ve en düşük ilaç konsantrasyonları) hazırlanmış ve pamuk yaprak diskleri (yaklaşık 5.3 cm çapında) daldırılmıştır. Bu yaprak diskleri hafif (4 - 5 dk) kuruduktan sonra içerisine yaklaşık 10

ml agar dökülmüş ve birkaç dakika bekletilerek plastik petrilere kaplara (yaklaşık 5.3 cm çapında ve 1.4 cm boyunda), yaprağın üst kısmı agar içine gelecek şekilde yerleştirilmiş ve erginler ilaçlı yaprak üzerine bırakılmıştır. Kapak ile petri arasına nemin fazlasını çekmesi için bez parçası sıkıştırılmıştır. İklim odasında (26 ± 1 °C sıcaklık ve 16 : 8; aydınlık : karanlık) bekletilerek, 48 saat sonunda canlı - ölü bireyler steromikroskop altında sayılmış ve veriler kaydedilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Agar içine oturtulmuş pamuk bitkileri üzerine ergin beyazsinekler salındıktan sonra hazırlanan petrilere

Denemelerde 1 kontrol olmak üzere 4 farklı ilaç konsantrasyonu kullanılmıştır. Denemeler 3 tekerrürlü olarak yürütülmüş ve her bir doz için 20 birey olmak üzere bir LC_{50} ve LC_{90} değerinin belirlenmesi için en az 260 tane *B. tabaci* bireyi kullanılmıştır.

Daldırma biyoesseylerinde elde edilen veriler, her bir ilaç konsantrasyonuna karşılık gelen canlı-ölü böcek sayıları POLO-PC (LeOra Software 1987) programına girilmiş ve LC_{50} , LC_{90} (lethal konsantrasyon), eğim ve güven sınırı değerleri elde edilmiştir. Populasyonların direnç düzeyleri söz konusu populasyonların LC_{50} ve LC_{90} değerlerinin duyarlı irkin aynı değerlerine bölünmesi ile hesaplanmıştır.

3.2.2 DNA izalasyonu

Tüm populasyonlardan 8 bireyin bireysel olarak DNA izalasyonu Doyle ve Doyle (1987)'in geliştirdikleri 'Ctab' protokolüne göre yapılmıştır. Bu protokole, 1.5

ml tüpler içine yerleştirilen tek bireyler 200 µl Ctab tampon çözeltisinde (20 g/L CTAB, 1.4 M NaCl, 0.1 M Tris base, 20mM EDTA) pestil (kullanılan tüp ile uyumlu plastik ezme çubuğu) yardımıyla ezildikten sonra, sıvıya her örnek için 1 µl protein K enzimi eklenmiştir. Ezme işleminden sonra DNA'ların bu tampon çözeltiliye geçmesi için 65 °C'de yaklaşık 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. 15 dk'da bir alt üst edilip, inkübasyon sonunda sıvı içindeki proteini uzaklaştırmak için 200 µl "Kloroform - izoamil alkol" (24: 1) çözeltisi konarak 5 dakika elde çalkalanıp, 10 dakika 14000 x g hızla santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sonunda tüplerde kloroformun bulunduğu alt kısım, proteinin bulunduğu orta kısım ve DNA'nın bulunduğu üst kısım olmak üzere 3 faz oluştuğu görülmüştür. Üst fazın yaklaşık 150 µl'si 1.5 ml'lik yeni tüpe aktarılmıştır. Üzerine bu fazdaki DNA'yı çöktürmek için eşit hacimde isopropanol eklenmiş ve yavaş bir şekilde 10 defa alt-üst edilmiştir. Bu çalkalamadan sonra örnekler gece boyunca -20 °C'de bekletilmiş ve ardından DNA'lar 10 dk 14000 x g'de santrifüj edilerek pelet haline getirilmiştir. Üst faz tüp altında bulunan pelete zarar vermemek için dikkatlice uzaklaştırılmış ve kalan pelet üzerine 200 µl % 70'lik ethanol eklenmiştir. Tüpler daha sonra 5 dk 14.000 x g'de santrifüj edilmiş ve üst faz atıldıktan sonra, pellet 15 dakika kurutulmuştur. Ardından tüpler üzerine 35 µl saf su tampon çözeltisi eklenerek 65 °C'de 1 saat bekletilmiş ve DNA'nın sıvıya geçmesi sağlanmıştır. DNA'lar daha sonraki işlemlerde bozulmadan kullanılması için -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) analizleri

Toplanan örneklerin, biyotiplerinin belirlenmesi, *ace* ve *kdr* gen bölgelerinin elde edilmesi amacıyla Çizelge 3.4'de dizilimi verilen primerler ile ilgili bölgeler çoğaltılmıştır. Biyotiplerin belirlenmesinde Frohlich vd (1999) tarafından geliştirilen COI-F-760 ve L2-N-3014 primerleri ile mitokondriyel "Ctyochrome Oxidase Subunit I" (*mtCOI*) gen bölgesinin bir bölümü çoğaltılmıştır.

Son hacim 25 µL ve örnek başına 1 µL DNA olacak şekilde kurulan PZR reaksiyonu içerisinde 0.15 mM dNTP, 2.5 mM MgCl₂, 1.25 µL reaksiyon tampon çözeltisi, 0.75 ünite *Taq* DNA polimerase ve her bir primer son konsantrasyon 0.6 mM olacak şekilde kullanılmıştır.

Çizelge 3.3. Beyazsinek populasyonları biyotiplerini belirleme amacıyla kullanılan *mtCOI* gen bölgesi primerleri PZR koşulları

1.	95 °C	2 dk	1 döngü
2.	95 °C	1 dk	
	48 °C	1 dk	30 döngü
	72 °C	1 dk	
31.	72 °C	5 dk	1 döngü
32.	25 °C	10 sn	1 döngü

Beyazsinek populasyonları biyotiplerini belirleme amacıyla kullanılan *mtCOI* gen bölgesi primerleri PZR koşulları Çizelge 3.3’de yer aldığı gibidir.

DNA izalasyonundan sonra elde edilen DNA’lar, *ace* ve *kdr* gen bölgelerinin ilgili olan (Çizelge 3.4) primerler ile kurulan PZR, Çizelge 3.5’de verilen program koşullarında çoğaltılmıştır. Bunun için kullanılan 15µl amplifikasyon reaksiyonunda 2.5 mM MgCl₂, 1X Taq buffer, Taq polimeraz, 2mM dNTP, 10 pmole primer R ve F (Çizelge 3.4), 1µl DNA ve 15 µl son hacmi tamamlayacak kadar su kullanılmıştır.

Çizelge 3.4. Çalışmada *mtCOI*, *ace*, *kdr* gen bölgeleri için kullanılmış primer dizilimleri

Primer	Dizilimi (5’- 3’)	Büyüklüğü	Tanılama
COI-F-760	TTGATTTTTTGGTCATCCAGAAGT	~ 760 bç	mtCOI
L2-N-3014	TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA		mtCOI
Kdr-F1	GCCAAATCCTGGCCAACT	~146 bç	Kdr-U
Kdr-R147	GAGACAAAAGTCCTCTAGC		Kdr-U
Ace-F75	TAGGGATCTGCGACTTCCC	~241 bç	Ace-U
Bt-ace-R	GTTCAGCCAGTCCGTGTA		Ace-U

U, evrensel

Çizelge 3.5. Beyazsinek populasyonları biyotiplerini belirleme amacıyla kullanılan *ace* ve *kdr* gen bölgesi için PZR koşulları

1.	94 °C	5 dk	1 döngü
2.	95 °C	15 sn	
	52 °C	30 sn	35 döngü
	72 °C	40 sn	
37.	72 °C	7 dk	1 döngü
38.	25 °C	10 sn	1 döngü

Elde edilen PZR ürünleri 2 : 1 oranında yükleme boyası ile karıştırılıp içerisinde 10 mg/L EtBr (ethidium bromide) bulunan % 1'lik agaroz (Tris Acetate- EDTA, pH:8) jele yüklenerek 65 volt DC'de yaklaşık 45 dk ayrıştırılmıştır. Jel üzerinde oluşan bantlar ultraviole ışık altında görüntülenmiştir. Bu aşamadan sonra elde edilen temiz PZR ürünleri DNA dizi ön aşamalarından geçirilerek dizileme yapılmıştır.

PZR sonucu elde edilen ürünlerin bir kısmı DNA dizi analizinde kullanıldığı gibi, kalan kısmı da Tsagkarakou vd (2009)'nin belirttikleri kesim enzimleri kullanılarak kesilmiştir. Literatürde organofosfat insektisitlere karşı dirençle ilişkilendirilen *ace* gen bölgesinde tespit edilen F331W mutasyonunun takibi için BsrI kesim enzimi ve *para*-tip sodyum kanal gen bölgesindeki iki mutasyondan biri olan L925I mutasyonunun takibi için ise PZR ürünleri DdeI kesim enzimine maruz bırakılmışlardır. PZR ürünleri her iki kesim enzimi için 2 saat kesime bırakılmış ve % 3.5'lük agaroz jelde yürütülerek görüntülenmiştir.

3.2.4 DNA dizi analiz PZR' nin kurulma aşaması (sekanslama reaksiyonu)

Sanger vd (1977) geliştirildiği yöntem olan zincir sonlanma yönteminde ilk olarak dizisi saptanacak olan DNA ipliği çoğaltılmıştır. Çoğaltılan bu iplik yeni sentezlenecek iplik için kalıp olarak kullanılmıştır (Anonim 2011).

Dizi analiz yöntemin bu aşamasında kullanılacak primerler birinci aşamadaki ile aynı olabileceği gibi dizi analizi yapılacak bölgeye daha yakın olan farklı primerler de kullanılabilir. Bu çalışmada birinci aşamadaki ile aynı primerler kullanılmıştır.

Çalışmada her populasyon için farklı bireylerden elde edilen en az 8 farklı PZR ürünü sekanslama işlemine tabii tutulmuştur. Sekanslama reaksiyonunda kullanılmak üzere seçilen tek primer (10 pM) 1/10 oranında (10µl suya 1 µl primer olacak şekilde) sulandırılarak 1.6 µl kullanılmış ve 3 µl DNA, 2,5 µl Beckman kiti ile toplam 7.1 µl olacak şekilde hazırlanmıştır. Ürünlerin amplifikasyonu için kullanılan program döngüsü çizelge 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.6. Sekanslama reaksiyonunda kullanılan PZR programı

1.	96 °C	1 dk	1 döngü
2.	96 °C	20 sn	
	52 °C	20 sn	30 döngü
	60 °C	40 sn	
32.	22 °C	10 sn	1 döngü
33.	8 °C	10 sn	1 döngü

3.2.5 DNA dizi analizi çöktürme ve temizleme aşaması

7.1 µl civarında olan PZR ürünleri saf su ile 20 µl'ye tamamlanarak her bir örnek için 1.6 µl stop solüsyonu (2 birim 100 mM Na₂EDTA, 2 birim 3M Na Asetat, 1 birim Glikojen (20 mg/ml)), 60 µl (% 95) etanol karışımı eklenerek tüpler güçlü bir şekilde karıştırılmış ve 15 dk 13000 rpm'de 4 °C'de santrifüj ile çöktürme yapılmıştır. Çöktürülen ürünlerden sıvı kısım uzaklaştırılarak, tüplere 200 µl % 70'lik etanol konmuş ve 4 dk 13000 rpm hızda 4 °C'de santrifüj işlemi iki kez tekrarlanarak bir ve ikinci yıkama aşamaları gerçekleştirilmiştir. Etanollu olan sıvı kısım uzaklaştırılmış ve 15 dakika sonunda sıvıları kuruyan tüplerin içerisine 32 µl ultra saf formamide SLS konulup dizi analizine hazır hale getirilmiştir.

3.2.6 Otomatik DNA dizi analizi aşaması

Temizlenen sekans ürünleri, 90 °C'de 120 sn inkübe edilip tek sarmal haline getirildikten sonra, ürünler cihaza 2000 volt'ta 20 saniye süreyle enjekte edilmiş ve 3500 volt'ta ürünlerin büyüklüğüne bağlı olarak 60 - 120 dakika süreyle ayrıştırılmıştır.

4. BULGULAR

4.1 Direnç Çalışmaları

Denemeye alınan populasyonların cypermethrin, chlorprifos-ethyl, deltamethrin ve thiamethoxam'a karşı göstermiş oldukları duyarlılık düzeyleri çizelge 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4'de gösterilmiştir. En başta cypermethrin olmak üzere, deltamethrin, chlorpyrifos-ethyl ve thiamethoxam etkili maddeli insektisitlere karşı Antalya popülasyonlarının, Koçarlı populasyonuna göre daha dirençli olduğu gözlenmiştir. Bunun yanısıra, direnç düzeylerinin, cypermethrin için 2.2 - 164.5 arasında, deltamethrin için 0.3 - 2.9 arasında, chlorpyrifos-ethyl için 0.2 - 2.9 arasında ve thiamethoxam için 0.3 - 48.6 kat arasında değiştiği bulunmuştur.

4.1.1 Piretroit, cypermethrin'e direnç

Ülkemizde 1991'den beri ruhsatlı olan cypermethrin kimyasalı için LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri hesaplanmıştır. Populasyonların cypermethrin'e direnç düzeyi LC₅₀ değerine göre 2 - 164 kat, LC₉₀ değerine göre ise 5 - 5650 kat arasında değiştiği bulunmuştur. Bu karşılaştırmalarda, 2009 yılında toplanan ve daha önceki projelerde de duyarlı populasyon olarak kullanılan Koçarlı populasyonu hassas populasyon, yine 2009 yılında Gazipaşa bölgesinden toplanan populasyon referans populasyon olarak dikkate alınmıştır. Popülasyonlara ait direnç düzeyleri (DD) LC₅₀ ve LC₉₀ değerlerinin Koçarlı populasyonu LC₅₀ ve LC₉₀ değerlerine bölümü ile hesaplanmıştır.

Populasyonlar içerisinde en yüksek LC₅₀ değeri (86617 mg/L) Serik populasyonunda bulunmuş, en düşük değer (516 mg/L) ise hassas Koçarlı populasyonunda gerçekleşmiştir. Genel olarak, populasyonların göstermiş oldukları LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri incelendiğinde cypermethrin için tavsiye dozunun (75 mg e.m./L) çok üzerinde değerlere ulaştıkları görülmektedir (Çizelge 4.1). LC₉₀ değeri için % 95 güven üst sınırının hesaplanamaması çıkan sonuçların tavsiye dozundan ne kadar uzakta olduğunun başka bir göstergesidir. Cypermethrin'e direnç bakımından 2009 yılında toplanan eski Gazipaşa populasyonundaki direnç düzeyi ile 2012 yılında aynı bölgeden toplanan populasyondaki direnç seviyesi arasında 3 katlık bir farkın olduğu gözlemlenmiştir.

4.1.2 Piretroit, deltamethrin'e direnç

Piretroit grubunda yer alan diğer etkin madde deltamethrin dünyada yaygın olarak kullanılan bir insektisit olup, ülkemizdeki tavsiye dozu 25 mg/L'dir. Bu etkin madde için en yüksek LC₅₀ değeri 185.2 mg/L ile yine Serik popülasyonunda görülmüştür. Kumluca bölgesinden elde edilen beyazsinek popülasyonundan da benzer şekilde yüksek LC₅₀ değeri elde edilmiştir (Çizelge 4.2). Deltamethrin için en düşük LC₅₀ değeri 18.5 mg/L ile eski Konaklı popülasyonundan elde edilmiş olup, hassas popülasyon olan Koçarlı popülasyonu 63.8 mg/L LC₅₀ değeri göstermiştir. 2012 yılında toplanan beyazsinek popülasyonlarının hassas popülasyona oranla LC₅₀ değerlerinde Serik ve Kumluca popülasyonları için 2.9 katlık bir fark bulunurken diğer popülasyonlarda direnç seviyeleri hassas popülasyonlar ile benzer düzeylerde bulunmuştur. Deltamethrin için test edilen eski Konaklı ve Gazipaşa popülasyonlarından elde edilen LC₅₀ değerinin 2012 yılında aynı bölgeden toplanan popülasyonlara nazaran 2 - 3 kat daha hassas olduğu görülmüştür (Çizelge 4.2). Popülasyonların LC₉₀ değeri ile pestisit tavsiye dozu karşılaştırıldığında bütün popülasyonların değerinin tavsiye dozundan en az 4 kat fazla olduğu görülmüştür (Çizelge 4.2). Bu durum cypermethrin'de olduğu gibi deltamethrin'de de beyazsinek ile etkin bir mücadele yapmanın mümkün olamayacağına işaret etmektedir.

Çizelge 4.1. *Bemisia tabaci* populasyonlarına uygulanan cypermethrin'in LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri

Populasyon	n*	Eğim±se	LC ₅₀ (mg e.m./L) (% 95 güven aralığı)	LC ₉₀ (mg e.m./L) (% 95 güven aralığı)***	DD ₅₀ **	DD ₉₀ **	Tarla tavsiye dozu
Serik	320	0.5±0.1	86617.89 (10402.56-791056862.71)	24828730.84	164.5	5650.8	
Aksu	297	0.6±0.1	5765.96 (1312.75-2483195.19)	943832.64	11.0	214.8	
Finike	249	0,6± 0.2	23136.04 (4417.07- 25918240.29)	5849511.31	43.9	1331.3	
Kumluca	294	3.5± 1.0	2270.03 (1726.88-3996.29)	4966.21	4.3	1.1	
Gazipaşa	394	0.9±0.1	3636.39 (1378.36-85178.43)	64439.11	6.9	14.7	75 mg e.m./L
Tosmur	262	1.0±0.2	4080.17 (1574.49-48001.05)	72158.06	7.8	16.4	
Konaklı	269	0.6±0.1	19058.30 (2952.56-22455599.01)	3097091.69	36.2	704.9	
Koçarlı	216	1.4± 0.2	526.48 (291.16 - 962.04)	4393.89	1	1	
Eski Gazipaşa	193	1.0±0.2	1165.23 (481.92 - 4973.07)	25575.76	2.2	5.8	

*n denemede kullanılan birey sayısı

DD (Direnç Düzeyi) =Populasyonları için belirlenen LC₅₀ veya LC₉₀ / **Koçarlı populasyonu için belirlenen LC₅₀ veya LC₉₀

***LC₉₀ değerinin % 95 güven aralığı üst sınırı program tarafından hesaplanamadığı için tabloya konmamıştır.

Çizelge 4.2. *Bemisia tabaci* populasyonlarına uygulanan deltamethrin'in LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri

Populasyon	n*	Eğim±se	LC ₅₀ (mg e.m./L) (% 95 güven aralığı)	LC ₉₀ (mg e.m./L) (% 95 güven aralığı)	DD ₅₀ **	DD ₉₀ **	Tarla Tavsiye dozu
Serik	395	6.0±1.2	185.25 (140.32- 215.65)	301.10 (253.62 - 472.42)	2.9	1.2	25 mg e.m./L
Aksu	267	0.9±0.1	74.37 (23.28- 722.09)	2049.28 (321.07 - 2776872.27)	1.2	7.9	
Finike	319	1.7±0.2	33.91 (19.10 - 52.23)	193.57 (113.20 - 540.29)	0.5	0.8	
Kumluca	267	8.0±1.7	182.96 (141.08- 213.17)	265.39 (226.87 - 365.88)	2.9	1.0	
Gazipaşa	249	3.3±0.6	47.902 (28.04 - 93.92)	117.70 (67.49 - 593.19)	0.8	0.5	
Tosmur	245	1.8±0.3	75.448 (55.56 - 100.51)	385.34 (251.29 - 785.94)	1.2	1.5	
Konaklı	276	2.0±0.3	60.24 (32.54 - 96.24)	273.95 (163.21 - 673.40)	0.9	1.1	
Koçarlı	249	2.1±0.3	63.82 (38.42 - 106.97)	257.93 (143.14 - 951.52)	1	1	
Eski Konaklı	267	1.2±0.1	18.50 (3.11 - 126.58)	216.04 (45.99 - 44797.09)	0.3	0.8	
Eski Gazipaşa	210	1.8±0.4	28.27 (11.52 - 46.79)	142.06 (82.07 - 468.60)	0.4	0.6	

*n denemede kullanılan birey sayısı, **DD (Direnç Düzeyi) =Populasyonları için belirlenen LC₅₀ veya LC₉₀ / **Koçarlı** populasyonu için belirlenen LC₅₀ veya LC₉₀

4.1.3 Organofosfat, chlorpyrifos- ethyl'e direnç

Chlorpyrifos ile test edilen populasyonlar içerisinde en yüksek LC₅₀ değeri 210.4 mg/L ile Serik populasyonunda görülmüştür. Hassas Koçarlı populasyonu ise 73 mg/L LC₅₀ değeri oluştururken, en düşük LC₅₀ değeri eski Gazipaşa populasyonunda 16.1 mg/L düzeyinde bulunmuştur. Bu değer, 2012 yılında toplanılan Gazipaşa populasyonunda ise 48.1 mg/L düzeyindedir. Bu değerler gözönüne alındığında hassas Koçarlı populasyonuna nazaran en yüksek direnç düzeyi 2.9 kat ile Serik populasyonunda görülmektedir. Gazipaşa populasyonları karşılaştırıldığında ise 2009 ve 2012 örnekleri arasında yaklaşık 3 katlık bir direnç düzey farklılığı göze çarpmakta olup, 2009 yılı populasyonunun hassas Koçarlı populasyonundan daha hassas bir LC₅₀ değerine sahip olduğu görülmektedir. Populasyonların LC₉₀ değerleri tarla tavsiye dozu ile karşılaştırıldığında, 2009 yılında toplanan Gazipaşa populasyonu dışındaki tüm populasyonların değerlerinin bu seviyeden daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.3).

4.1.4 Neonikotinoit, thiamethoxam'e direnç

Thiamethoxam için yapılan biyoesseylerde en yüksek LC₅₀ değeri 177.2 mg/L ile Finike populasyonunda bulunurken en düşük LC₅₀ değerleri 2009 yılından bu yana laboratuvarında yetiştirilen Koçarlı, eski Konaklı ve eski Gazipaşa populasyonlarında 1.2-4.5 mg/L düzeyinde gerçekleşmiştir (Çizelge 4.4). Koçarlı populasyonunun LC₅₀ değerleri ile karşılaştırıldığında Finike, Aksu, Kumluca, Tosmur populasyonları direnç katsayıları 10 katın üzerinde bulunmuştur. Yeni toplanan Gazipaşa populasyonunda ise 4.4 olarak kaydedilen bu değer, eski Gazipaşa populasyonunda Koçarlı populasyonu düzeyindedir (DD₅₀: 1.3). 2009 ve 2012 yılı Konaklı ve Gazipaşa populasyonlarının LC₅₀ değerleri karşılaştırıldığında, Konaklı için yaklaşık 30 kat, Gazipaşa için ise yaklaşık 3.5 kat direnç düzeyinde artış meydana geldiği görülmektedir. Thiamethoxam'in tavsiye dozu (240 mg/L) ile karşılaştırıldığında tüm 2012 yılı beyazsinek populasyonlarının LC₉₀ değerlerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Ancak 2009 yılında toplanan populasyonların LC₉₀ değerleri tavsiye dozunun 1/10'u düzeyinde kaldığını göstermektedir.

Çizelge 4.3. *Bemisia tabaci* popülasyonlarına uygulanan chlorpyrifos-ethyl'in LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri

Popülasyon	n*	Eğim±se	LC ₅₀ (mg e.m./L) (% 95 güven aralığı)	LC ₉₀ (mg e.m./L) (% 95 güven aralığı)	DD ₅₀ **	DD ₉₀ **	Tarla Tavsiye dozu
Serik	242	2.9±0.5	210.40 (74.33 - 378.11)	587.48 (324.61 - 1449.60)	2.9	1.2	
Aksu	286	2.2±0.3	86.94 (44.38 - 169.65)	328.48 (168.57-1277.19)	1.2	0.7	
Finike	228	24±0.5	110.38 (67.47 - 160.58)	380.43 (247.41 - 862.58)	1.5	0.8	
Kumluca	215	2.7±0.4	193.94 (126.45 - 275.59)	577.96 (401.83 - 945.41)	2.7	1.2	
Gazipaşa	229	1.7±0.2	48.16 (17.14 - 110.19)	277.42 (119.23 - 2159.27)	0.7	0.6	270 mg e.m./L
Tosmur	357	2.1±0.2	102.98 (58.14 -179.92)	426.90 (234.70 - 1194.79)	1.4	0.9	
Konaklı	238	2.4±0.4	143.35 (100.86 - 202.68)	486.17 (324.86 - 899.43)	2.0	1.0	
Koçarlı	204	1.6±0.2	73.08 (44.61 - 124.70)	475.03 (249.59 - 1327.87)	1	1	
Eski Gazipaşa	122	1.2±0.3	16.15 (2.02 - 41.35)	210.03 (83.38 - 1439.25)	0.2	0.4	

*n denemede kullanılan birey sayısı ve **DD (Direnç Düzeyi) =Popülasyonları için belirlenen LC₅₀ veya LC₉₀ / **Koçarlı** popülasyonu için belirlenen LC₅₀ veya LC₉₀

Çizelge 4.4. *Bemisia tabaci* popülasyonlarına uygulanan thiamethoxam'ın LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri

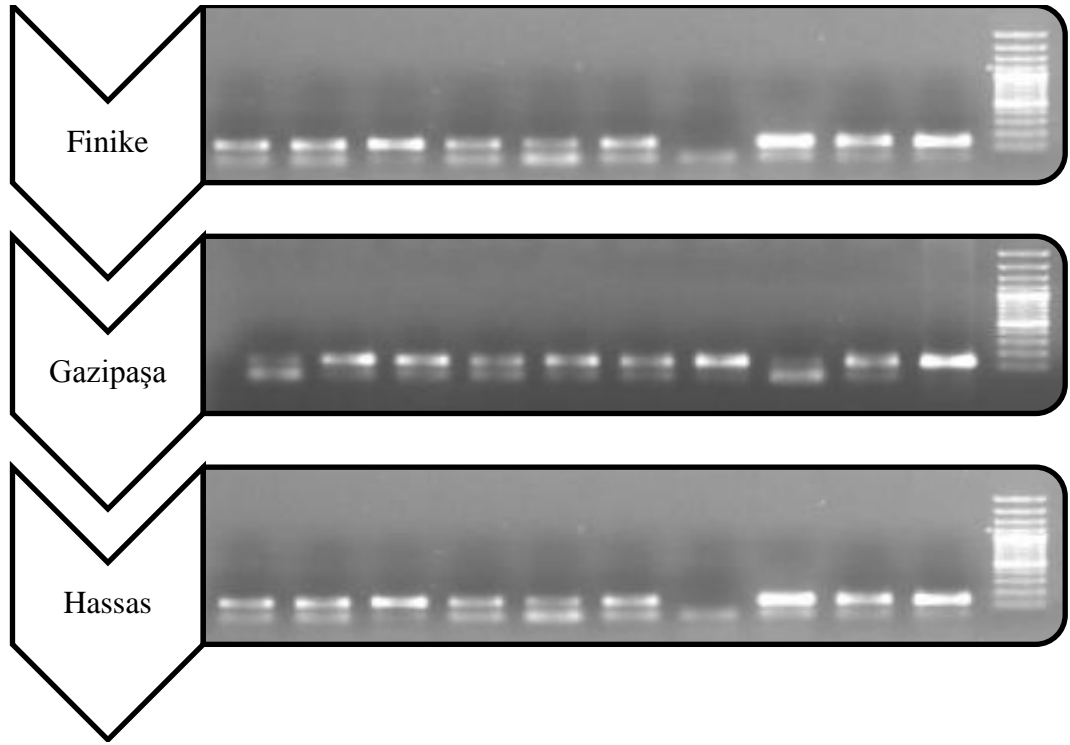
Popülasyon	n*	Eğim _{±se}	LC ₅₀ (mg e.m./L) (% 95 güven aralığı)	LC ₉₀ (mg e.m./L) (% 95 güven aralığı)	DD ₅₀ **	DD ₉₀ **	Tarla Tavsiye dozu
Serik	261	1.0±0.2	31.41 (10.68 - 115.01)	812.53 (185.15 - 66149.20)	8.6	24.6	
Aksu	182	1.0±0.2	73.84 (27.24 - 443.89)	1349.56 (275.43 - 144033.21)	20.3	40.8	
Finike	286	1.8±0.4	177.22 (82.47 - 385.98)	958.71 (421.33 - 51316.58)	48.6	29.0	
Kumluca	191	1.4±0.3	45.65 (21.97 - 90.64)	370.11 (163.88 - 2068.42)	12.5	11.2	
Gazipaşa	435	1.0±0.1	15.84 (5.18 - 62.77)	296.867 (71.70 - 11568.48)	4.4	9.0	
Tosmur	237	2.9±1.0	115.76 (24.74 - 166.52)	325.90 (237.96 - 927.07)	31.8	9.9	240 mg e.m./L
Konaklı	293	1.2±0.2	38.334 (12.782 - 96.852)	457.38 (155.48 - 12570.73)	10.5	13.8	
Koçarlı	237	1.3±0.1	3.65 (1.45 - 10.82)	33.07 (11.08 - 319.22)	1	1	
Eski Konaklı	180	2.2±0.3	1.23 (0.77 - 2.18)	4.67 (2.55 - 15.43)	0.3	0.1	
Eski Gazipaşa	217	1.5±0.2	4.56 (2.83-7.47)	34.70 (18.56 - 93.37)	1.3	1.0	

* n denemede kullanılan birey sayısı ve **DD (Direnç Düzeyi) =Popülasyonları için belirlenen LC₅₀ veya LC₉₀ / **Koçarlı** popülasyonu için belirlenen LC₅₀ veya LC₉₀

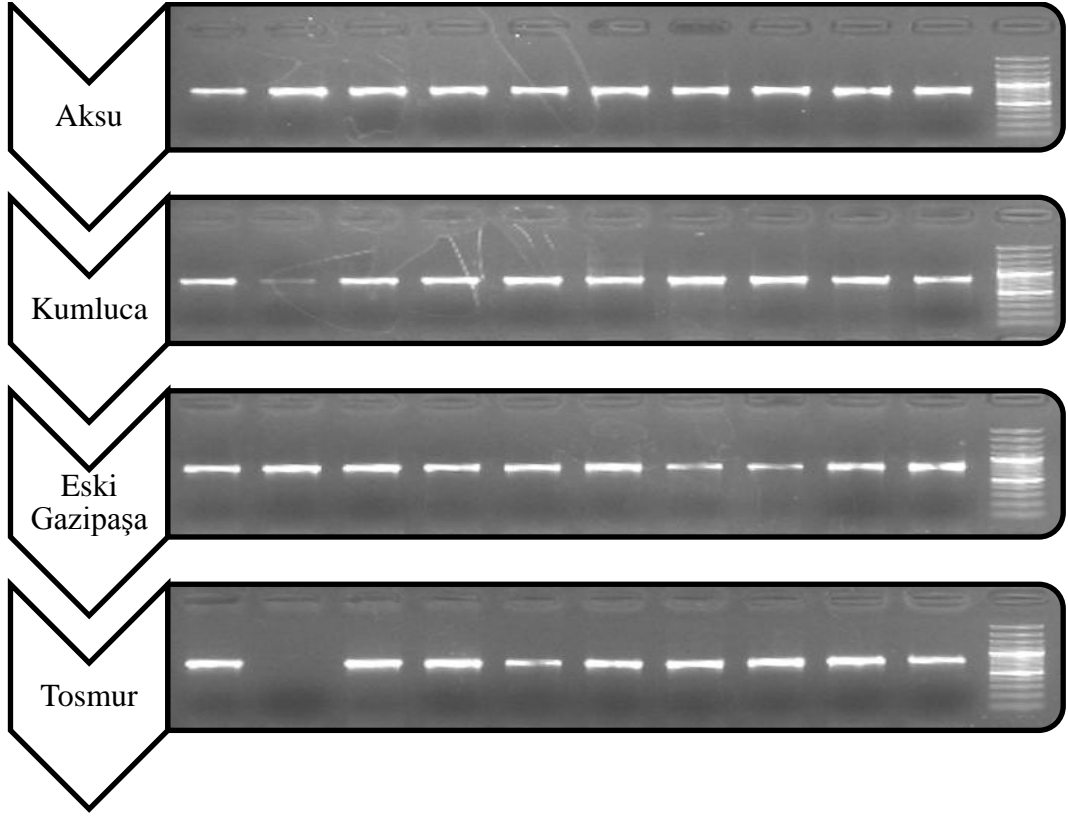
4.2 Moleküler Çalışmalar

4.2.1 PZR sonuçları

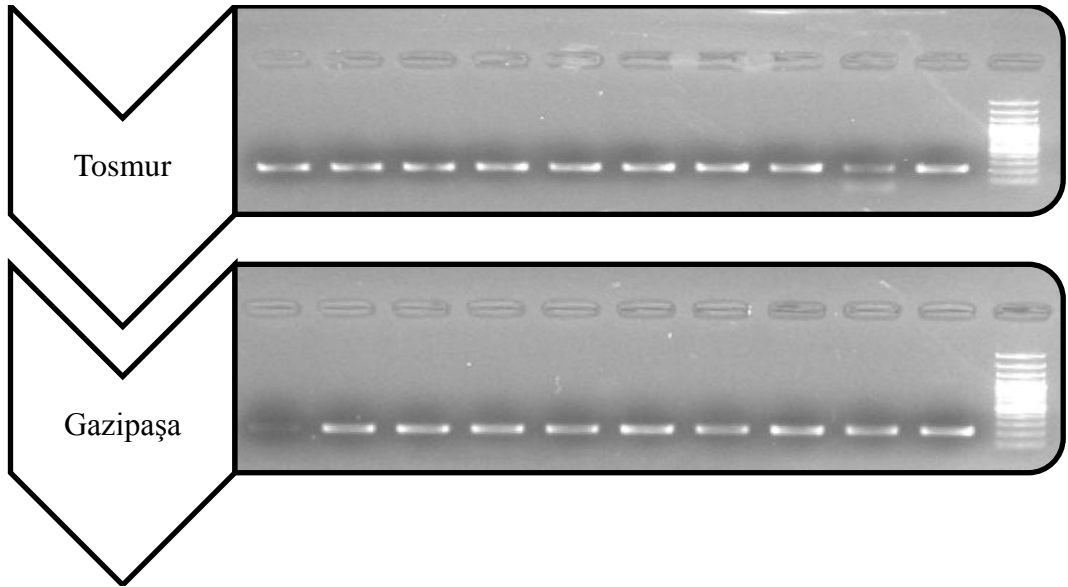
Çalışmada yer alan her populasyon için 7 - 8 örneğin biyotip belirlenmesi için *mtCOI* primerleri ile insektisitlere karşı dayanım sağladığı düşünülen mutasyona uğramış genomik bölgeleri *ace* ve *kdr* gen bölgesi primerleri çoğaltılmış ve DNA dizileme analizleri gerçekleştirilmiştir. Materyal ve metot bölümünde ayrıntılı olarak açıklanan, örnek populasyondan bahsedilen lokuslara özel PZR koşulları kullanarak elde edilen ürünlere ait sonuçlar, % 1.5'lük agaroz jel görüntüleri ile Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.1. Finike, Gazipaşa ve hassas populasyon olarak ele alınan Koçarlı populasyonları *kdr* lokusu PZR sonuçları (10'ar örnek, 146 bç, marker: 100 bç)

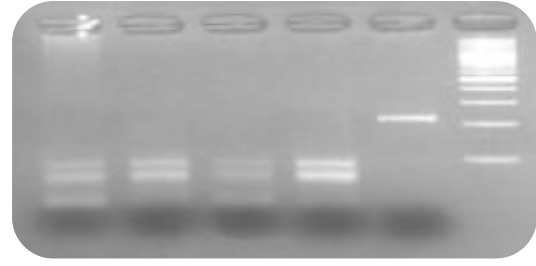


Şekil 4.2. Aksu, Kumluca, Eski Gazipaşa ve Tosmur populasyonları *mtCOI* lokusu PZR sonuçları (10'ar örnek, 760 bç, marker: 100 bç)

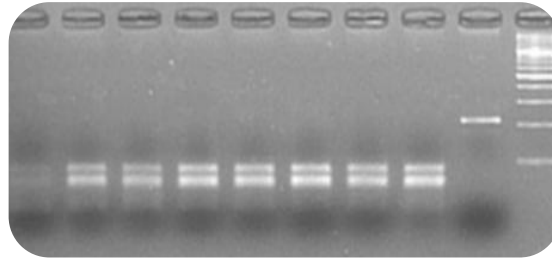


Şekil 4.3. Tosmur ve Gazipaşa populasyonları *ace* lokusu PZR sonuçları (10'ar örnek, 241 bç, marker: 100 bç)

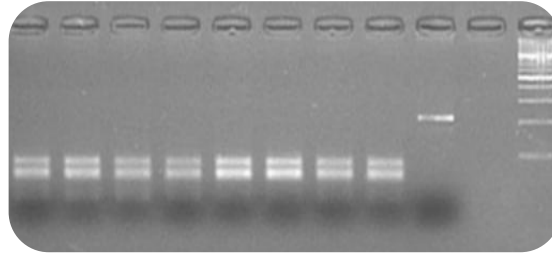
ace lokusu bakımından tüm populasyon bireyleri BsrI enzimi ile kesim sonunda literatürde belirtildiği gibi kesime uğramış ve F331W adlı organofosfat pestisitlere dayanıklılık sağlayan mutasyon bakımından homozigot oldukları saptanmıştır (Şekil 4.4). Bu dayanıklılık mutasyonu bakımından tüm bireyler homozigot olduğu gibi, daha önceki projelerden toplanmış (2004-2005 yılları) ve saklanmış beyazsinek örneklerinde dahi literatürde belirtilen hassas alleli taşıyan bireylere rastlanmamıştır.



Kumluca



Tosmur

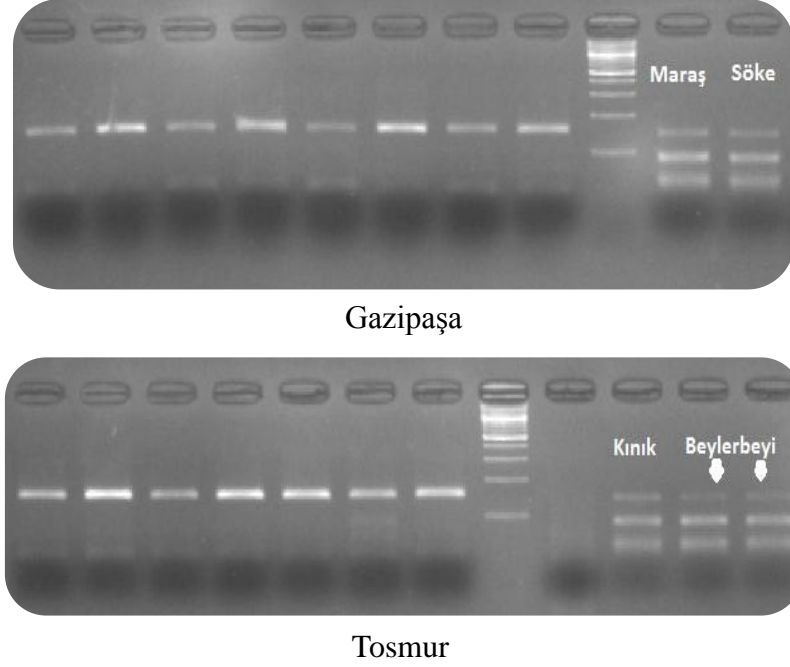


Gazipaşa

Şekil 4.4. Kumluca, Tosmur ve Gazipaşa populasyonlarının BsrI kesim enzimi ile yaklaşık 2 saat kesime maruz bırakılan *aceI* gen bölgelerinin agaroz jel (% 3.5) görüntüsü (Marker: 100 bç)

Diğer bir dayanıklılık lokusu olan ve piretroit grubu insektisitlere dayanıklılık sağladığı düşünülen *kdr* lokusunda ise DdeI kesim enzimi hiçbir bireyde PZR ürünlerini kesime uğratmamıştır. Bu sonuç, *kdr* lokusunda dayanıklılık sağlayan L925I mutasyonun bütün populasyonlarda var olduğunu göstermiştir. Bu lokusta da hassas bireye rastlanılmaması nedeniyle daha önceki projelerde toplanılan (2004 - 2005 yılı

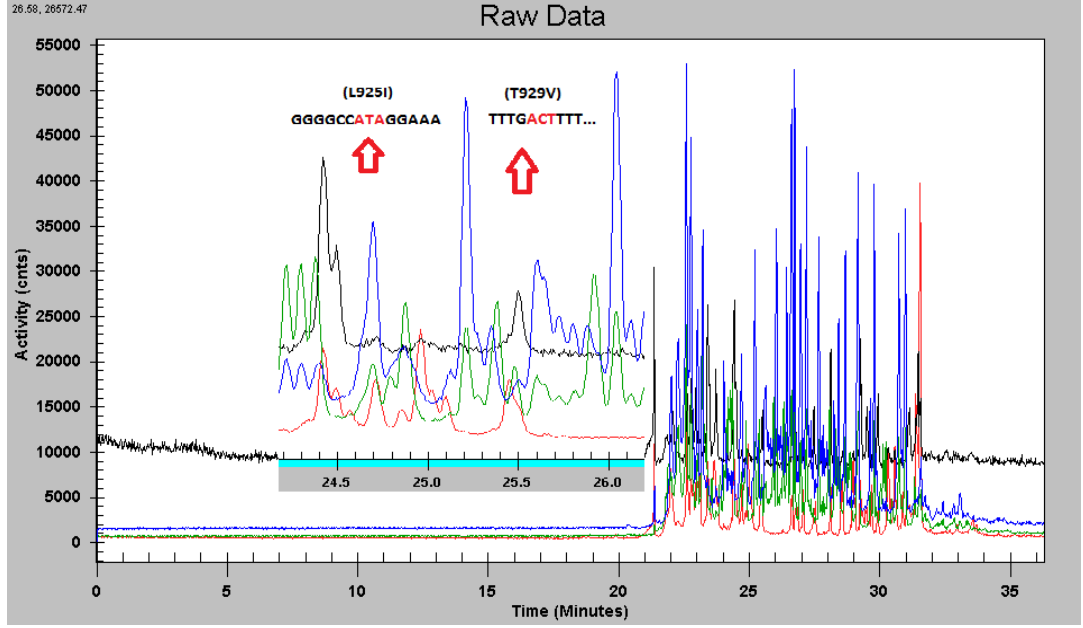
örnekleri) örnekler incelenmiş ve bu bireylerin bazılarında (Beylerbeyi, Söke, Kınık) hassas allellerin varlığı ortaya konmuştur (Şekil 4.5).



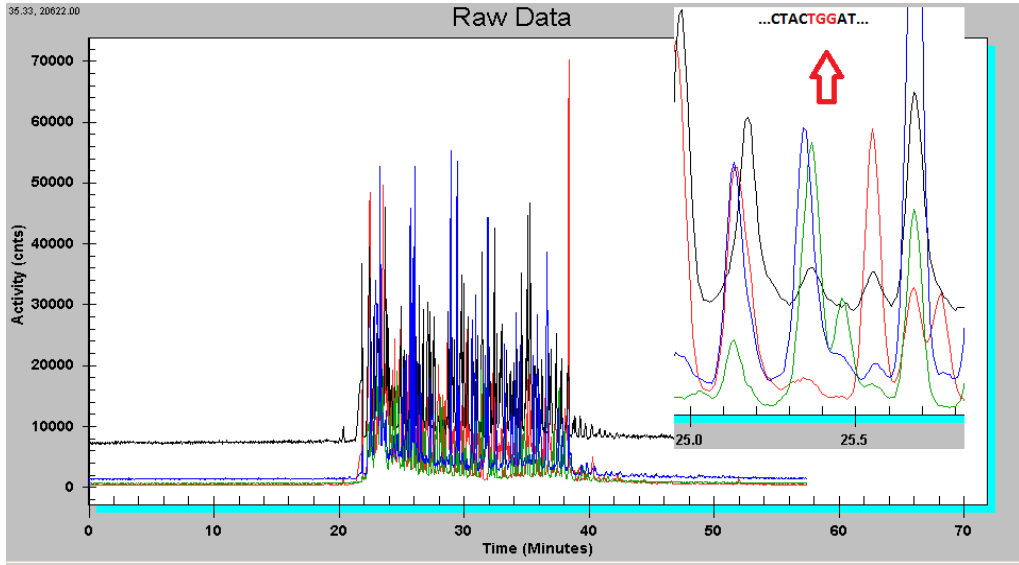
Şekil 4.5. *kdr* gen bölgesinde kesim bölgesi bulunan DdeI kesim enzim sonucu (Marker: 100 bç)

4.2.2 DNA dizileme verileri

PZR ürünleri ile doğrudan yapılan DNA dizileme işlemi sonucunda elde edilen ham floresans veriler *ace*, *kdr* ve *mtCOI* lokuslarında doğru dizileme yapabilmek için yeterli kalite ve seviyede sinyal oluşturmuştur (Şekil 4.6 ve 4.7). Dizileme işlemine tabi tutulan 760 bç'lik *mtCOI* gen bölgesi kapillerinin başta ve sonda (yaklaşık 40 - 50 bç) ayrıştırmayı tam yapamamasından dolayı yaklaşık 600 bç'lik bölümü değerlendirmeye alınmıştır. Bu değerlendirilen kısım incelenen bireyin hangi biyotipe ait olduğunu belirlemeye yetecek düzeyde DNA dizi bilgisi taşımaktadır. İncelenen *mtCOI* gen bölgesi dizilerinden elde edilen bilgiler referans *B. tabaci* biyotip bilgileri ile karşılaştırılmış ve tüm populasyonların B biyotipine ait oldukları tespit edilmiştir.



Şekil 4.6. Konaklı popülasyonu *kdr* gen bölgesi (yaklaşık 146 bç) nükleotit dizisine ait ham floresans sinyalleri



Şekil 4.7. Finike popülasyonu *ace* bölgesi floresans veri örneği, yaklaşık 241 bç büyüklüğünde nükleotit dizisi örneği

ace ve *kdr* lokusları bakımından hassas popülasyonda dahil olmak üzere tüm popülasyon bireylerinde yapılan DNA dizileme analizi sonucunda literatürde organofosfat direnci ile ilişkilendirilen F331W, piretroit direnci ile ilişkilendirilen L925I mutasyonları saptanmıştır. Piretroit direnç lokusunda bulunan ikinci mutasyon

bölgesi T929V açısından ise bütün bireyler hassas alleli taşıdıkları belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Bu lokusta her iki dayanıklılık allelini taşıyan bireye rastlanmamıştır.

Çizelge 4.5. Proje kapsamında toplanan populasyonların *ace* ve *kdr* lokuslarında allelik durumları

Taranan Populasyon Adı	<i>ace</i> lokusu F331W	<i>kdr</i> lokusu		<i>mtCOI</i> lokusu Biyotip	Analiz edilen birey sayısı
		L925I	T929V		
Finike	RR	RR	rr	B	8
Kumluca	RR	RR	rr	B	8
Serik	RR	RR	rr	B	8
Aksu	RR	RR	rr	B	8
Tosmur	RR	RR	rr	B	8
Konaklı	RR	RR	rr	B	8
Gazipaşa	RR	RR	rr	B	8
Koçarlı	RR	RR	rr	B	8
Eski Konaklı	RR	RR	rr	B	8
Eski Gazipaşa	RR	RR	rr	B	8

Tez kapsamı içerisinde incelenen populasyonlarda F331W ve L925I mutasyonlarını taşımayan hassas bireyin saptanmaması ve T929V lokusunda ise dayanıklı mutasyon alleleline rastlanmaması nedeniyle önceki yıllarda toplanan (2004 - 2005 yıllarına ait örnekler) ve - 20 °C de saklanan bireyler her iki lokus ve 3 mutasyon bakımından DNA dizilemesine tabii tutulmuştur. Taranan bu bireylerde de *ace* gen bölgesindeki F331W mutasyonunun bütün bireylerde var olduğu ve dolayısıyla dayanıklılık allelinin populasyonlarda çok önceden sabitlendiği görülmüştür. *kdr* lokusu açısından ise bazı bireylerin L925I mutasyonunu bakımından heterozigot oldukları görülürken yeni toplanan populasyonlarda rastlanılmayan T929V dayanıklılık mutasyonunun bazı bireylerde homozigot ya da heterozigot düzeyde var olduğu ortaya konmuştur (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Önceki yıllarda farklı projeler kapsamında toplanan (2004 - 2005) beyazsinek bireylerinde *ace* ve *kdr* lokuslarının allelik durumları

Taranan Populasyon Adı	<i>ace</i> lokusu		<i>kdr</i> lokusu	
	F331W	L925I	T929V	
Aydın merkez	RR	Rr	Rr	
Silifke	RR	RR	rr	
Ceyhan	RR	Rr	Rr	
Söke	RR	rr	RR	
Dörtyol	RR	RR	rr	
Maraş	RR	rr	RR	
Kınık	RR	rr	rr	
Çobanlı	RR	RR	rr	
Gümüşkum	RR	RR	Rr	
Beylerbeyi 4	RR	rr	RR	
Beylerbeyi 8	RR	rr	RR	

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, biyoessey ve moleküler veriler kullanılarak, metabolik ve hedef bölge direnç mekanizmasına sahip organofosfat ile piretroit kimyasallarına karşı gelişen direnç, Antalya Bölgesinden toplanan *B. tabaci* populasyonları üzerinde tespit edilmeye çalışılmıştır. Günümüzde, beyazsinek üzerinde piretroit ve organofosfat grubu insektisitlere direnç ile mutasyonlar arasındaki ilişki birçok çalışmaya konu olmuştur (Tsagkarakou vd 2009).

Dirençli bireylerde, *ace1* geni tarafından kodlanan sinaptik *ace1* üzerinde F331W mutasyonu ortaya konmuştur. Aynı zamanda biyoessey çalışmasında kullanılan chlorpyrifos-etyhl (organofosfat) insektisine referans populasyon olarak kullanılan eski Gazipaşa populasyonu hariç tüm populasyonlarda LC₉₀ dozu, tavsiye dozunun 0.2 - 2.9 kat fazla olduğu bulunmuştur. İsrail’de yapılan bir çalışmada chlorpyrifos insektisine karşı dirençli B biyotipi beyazsinek populasyon bireylerinde asetilkolinesteraz aktivitesinin yoğun olduğu tespit edilmiştir (Byrne vd 1994). Tezde çalışılan tüm populasyonların B biyotipi olması ve bu mutasyonu taşımasıyla Alon vd (2008) yaptıkları çalışma sonuçları ile paralellik taşıdığı görülmüştür. Ayrıca Alon vd (2008), B biyotipinde yaptıkları biyokimyasal ve moleküller çalışmaları sonucunda hem hedef bölge hem de metabolik direnç mekanizmalarının etkinliği neticesinde organofosfat grubuna direncin geliştiğini ve F331W mutasyonunun ise hedef bölgede organik fosfatlı ilaçlara karşı duyarsızlığa sebep olduğunu vurgulamışlardır. Fakat Q biyotipi yanında B biyotipi üzerinde de bu mutasyonu arayan Tsagkarakou vd (2009) Q biyotibinde bulunan F331W mutasyonuna B biyotibinde rastlamadıklarını kaydetmişlerdir. Bunun nedeni Tsagkarakou ve arkadaşlarının odaklandıkları biyotibin Q biyotipi olup ve B biyotipi beyazsineklerden yeterince örnek üzerinde çalışılmaması olabilir. Yuan vd (2012) çalışmalarında Q biyotipi olarak taradıkları tüm bireylerde F331W mutasyonuna rastlamış ve genelde referans olarak kullanılan SUD-S populasyonu ile organofosfat grubu insektisit esseyini karşılaştırdıklarında direncin yüksek olduğunu görmüşlerdir. *Culex tritaeniorhynchus* (Giles) türünde *ace1* geni üzerinde organofosfat direncine sebep olarak gösterilen F455W adlı benzer bir mutasyon saptanmıştır (Nabeshima vd 2004, Oh vd 2006). Oh vd (2006) yılında *C. tritaeniorhynchus* türü üzerinde yaptıkları çalışmada, organofosfat bileşimlerine karşı F331W mutasyonunun asetilkolinesteraz

enzimine hassiyetin azalmasına neden olduğu belirtilmiştir. *B. tabaci* türünden başka *D. melanogaster*, *Aedes aegypti* (Linnaeus) ve *M. domestica* türleri üzerinde yapılan çalışmalarda F429W adlı mutasyonun organofosfat insektisit grubu kimyasallara karşı direncin arttığı yönündedir (Mutero vd 1994, Vaughan vd 1997, Kozaki vd 2001a).

Birçok çalışmanın odak noktasını oluşturan IIS4 - 6 bölge mutasyonları, *kdr* lokusundaki birden çok nokta mutasyona ve bu mutasyonların piretroit grubu insektisitlere karşı dirence dikkat çekilmektedir (Morin vd 2002, Vais vd 2000, Alon vd 2006, Roditakis vd 2006, Tsagkarakou vd 2009). Çalışmamızda bu lokusa ait Tsagkarakou vd (2009) çalışmasında belirttiği gibi L925I ve T929V mutasyonları tespit edilmiştir. Biyoessey yöntemiyle populasyonlar üzerinde test edilen 'cypermethrin' ve 'deltamethrin' piretroit grubu insektisitlerine yüksek düzeyde direnç geliştiği görülmüştür. Yapılan biyoessey yöntemiyle referans populasyonlar ve hassas populasyon Koçarlı'da dahil olmak üzere LC₉₀ değerinin cypermethrin tavsiye dozu (75 mg e.m/L) ile deltamethrin tavsiye dozundan (25 mg e.m./L) oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Biyoessey verilerimizle paralel olarak, Cahill vd (1995) cypermethrin'e, Ahmad vd (2002) deltamethrin piretroitine çalıştıkları beyazsinek populasyonlarının oldukça yüksek düzeyde dirençli olduklarını belirtmişlerdir. *kdr* lokusunda bulunan L925I mutasyonu ilk olarak Morin vd (2002) tarafından rapor edilmiş ve piretroit direncine dikkat çekmişlerdir. Alon vd (2006) ile Tsagkarakou vd (2009) Q ve B biyotibinde, Roditakis vd (2006) yılında B biyotibinde L925I ve T929V mutasyonlarının her ikisini veya birini tespit etmişlerdir. Bu çalışmalarda elde edilen *kdr* bölgesi mutasyonları ve piretroit grubu insektisitlerin biyoessey sonuçları çalışmamızdaki sonuçlarla paralel düzeydedir. Tez çalışmasında da olduğu gibi Roditakis vd (2006) L925I ve T929V mutasyonlarını bireylerde ayrı ayrı tespit etmişler, ancak aynı bireyde her iki mutasyona birlikte rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızda da tüm populasyonların L925I mutasyonu bakımından homozigot dayanıklı (RR) ve T929V mutasyonu bakımından homozigot hassas (rr) olduğu tespit edilmiştir. Ancak, 2004 ve 2005 yılı beyazsinek örneklerinde birkaç bireyin *kdr* lokusunda iki mutasyon bakımından heterozigot oldukları görülmüştür. Alon vd (2006) yaptıkları çalışmada L925I mutasyonunun hem B ve hem de Q biyotipinde bulunduğunu, fakat T929V mutasyonun sadece Q biyotipi bireylerde tespit edildiğini

bildirmişlerdir. Bu sonuç yapılan birkaç farklı çalışmadaki sonuçlarla paralellik göstermektedir (Roditakis 2006, Alon 2008, Tsagkarakou 2009, Yuan 2012).

Popülasyonların tespit edilen biyoessey sonuçlarında (özellikle cypermethrin için) direnç düzeylerinin (DD_{50} ve DD_{90}) oldukça yüksek olması L925I mutasyonu ile piretroit direnci arasındaki paralelliği desteklemektedir. Fakat Alon vd (2006) *kdr* lokusundaki bilinen mutasyonların piretroit direncine tek başına avantaj sağlayamayacağını metabolik dayanıklılığın daha önemli olduğunu bildirirken, Tsagkarakou vd (2009) çalışmalarında bu sonuca atıfta bulunarak, mutasyonların etkisinin metabolik direnç mekanizması tarafından maskelenmiş olabileceği yargısını savunmuşlardır.

Tez çalışması içerisinde elde edilen sonuçlar, uzun yıllardan beri kullanılan piretroit ve organofosfat grubu insektisitlerin nokta mutasyonlarının ülkemizdeki popülasyonlarda da yaygın olduğunu ve denemeye alınan pestisitlerin arazi etkinliklerinin düşük kalacağına işaret etmektedir.

6. SONUÇ

Akdeniz bölgesinde kullanılan organofosfat ve piretroit grubu insektisitlere karşı oluşan direnç, öncelikle biyoesseylerle saptanmıştır. Biyoessey çalışmaları moleküler yöntemlerle desteklenmiştir. Sanger dizi analiz yöntemi ile dizileme yapılarak *ace* ve *kdr* gen bölgesinde bilinen bütün nokta mutasyonların bölgemizdeki populasyonlardaki yaygınlığı ortaya konmuştur. Birçok türde yapılan çalışmalarla paralellik gösteren sonuçları desteklenmek için dirençli ve hassas populasyon ayırımının yapılabildiği BsrI ve DdeI kesim enzimleri ile kesim yapılarak bu dizileme verileri desteklenmiştir.

Direnç çalışmalarında genel olarak cypermethrin, deltamethrin, chlorpyrifos-ethyl ve thiamethoxam insektisitlerine karşı Antalya popülasyonlarının hassas populasyona göre dirençli olduğu gözlenmiştir.

Çalışmada ulaşılan sonuçlar şu şekilde özetlenebilir:

1. Tüm populasyon direnç düzeylerinin, cypermethrin için 2.2 - 164.5 arasında, deltamethrin için 0.3 - 2.9 arasında, chlorpyrifos-ethyl için 0.2 - 2.9 arasında ve thiamethoxam için 0.3 - 48.6 kat arasında değişmiştir.
2. Neonikotinoit, thiamethoxam direnç düzeyinin son 3 yıl içerisinde kontrol sağlanamayacak düzeye ulaşmış olduğu görülmüştür.
3. Tüm populasyonların *mtCOI* gen bölgesi taranmış ve referans *B. tabaci* biyotip bilgileri ile karşılaştırılarak populasyonların B biyotipine ait oldukları tespit edilmiştir.
4. Hassas popülasyonda dahil olmak üzere *ace* lokusu bakımından tüm popülasyon bireylerinde literatürde organofosfat direnci ile ilişkilendirilen F331W mutasyonu ve
5. *kdr* lokusu bakımından piretroit direnci ile ilişkilendirilen L925I mutasyonu saptanmıştır.
6. Piretroit direnç lokusunda bulunan ikinci mutasyon bölgesi T929V açısından ise bütün bireyler hassas alleli taşıdıkları belirlenmiştir.

7. *kdr* lokusunda her iki dayanıklılık allelini taşıyan bireye rastlanmamıştır.

Antalya Bölgesi tarla ve örtüaltında yetiştirilen ürünlere arız olan *B. tabaci* türü mücadelesinde organofosforlu ve piretroit grubu insektisitlerin kullanılmasının zararlı üzerinde tam etkili olmayabileceği sonucuna varılırken, neonikotinoit, thiamethoxam için beyazsinek popülasyonlarının arazi şartlarında son yıllarda bu pestisite daha fazla maruz kaldığına ve son 3 yıl içerisinde direnç düzeyinin kontrol sağlanamayabilecek düzeye ulaştığı görülmektedir. Uygulama alanlarında dirençle ilişkilen mutasyonların etkisinde kalmamak için, *B. tabaci* mücadelesinde seçilecek insektisitlerin asetilkolinesteraz veya sodyum kanal etki mekanizmalı olmamasına dikkat edilmelidir.

7. KAYNAKLAR

- AHMAD M., ARIF, M.I., AHMAD, Z. and DENHOLM, I. 2002. Cotton whitefly (*Bemisia tabaci*) resistance to organophosphate and pyrethroid insecticides in Pakistan. *Pest Management Science*, 58: 203– 208.
- AKSOY, S. 1982. Bazı Organik Sentetik İnektisitlerin Etki Mekanizmaları. *Türk. Bit. Kor. Derg*, 6: 111-126.
- ALON, M., BENTING, J., LUEKE, B., PONGE, T., ALON, F. and MORIN, S. 2006. Multiple origins of pirethroit resistance in sympatric biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 36: 71– 79.
- ALON, M., ALON, F., NAUEN, R. and MORIN, S. 2008. Organophosphates' resistance in the B-biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) is associated with a point mutation in an ace1-type acetylcholinesterase and overexpression of carboxylesterase. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 38: 940–949.
- ANSTEAD, J.A., WILLIAMSON, M.S., ELEFThERIANOS, I.G. and DENHOLM, I. 2004. High-throughput detection of knockdown resistance in *Myzus persicae* using allelic discriminating quantatative PZR. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 34: 869–875.
- ANONİM 2008. Zirai Mücadele Teknik Talimatları Cilt 2, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, ANKARA.
- ANONİM 2011. DNA Dizi Analizi Derleme. http://yunus.hacettepe.edu.tr/~mergen/derleme/d_dizi.pdf
- AY, R. ve SÖKELİ, E. 2005. Böceklerde Direnç Yönetimi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 9: 1- 4.
- AYDIN, G. ve ŞEKEROĞLU, E. 2008. Pamuk Beyazsineği, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae)'nin Laboratuvar Koşullarında Farklı Pamuk Çeşitleri Üzerinde Biyolojik Özelliklerinin İncelenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi, 83-90.
- BALALI-MOOD, M. and SHARIAT, M. 1998. Treatment of organophosphate poisoning. Experience of nerve agents and acute pesticide poisoning on the effects of oximes, *Journal of Physiology*, 92: 375-378.
- BAŞKURT, S. 2010. Ege ve Akdeniz Bölgelerinden Toplanan Karasinek (*Musca domestica* L.) Populasyonlarında ace Geninin Kısmi Baz Dizi Analizinin Yapılması ve Bu Örneklerde % Kalan Asetilkolinesteraz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi yüksek lisans tezi. Biyoloji Anabilim Dalı Fen Bilimleri Enstitüsü Muğla Üniversitesi.

- BEDFORD, I.D., BRIDDON, R.W., BROWN, J.K., ROSSELL, R. and MARKHAM, P.G. 1994. Geminivirus Transmission and Biological Characterisation of *Bemisia tabaci* (Gennadius) Biotypes from Different Geographical Regions. *Ann. Entomol. Biol.*, 125: 311- 325.
- BROWN, J.K., FROHLICH, D.R. and ROSELL, R.C. 1995. The sweet-potato or silverleaf whiteflies – biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex. *Annu. Rev. Entomol.*, 40: 511–534.
- BYRNE, F.J., CAHILL, M., DENHOLM, I. and DEVONSHIRE, A.L. 1994. A biochemical and toxicological study of the role of insensitive acetylcholinesterase in organophosphorus resistant *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) from Israel. *Bulletin of Entomological Research*, 84: 179-184.
- CABI 2012. Datasheets, *Bemisia tabaci* (B biotype) (silverleaf whitefly). <http://www.cabI.org/Isc/?compId=5&dsId=8925&loadmodule=datasheet&page=481&site=144>.
- CAHILL, M., BYRNE, F.J., GORMAN, K., DENHOLM, I. and DEVONSHIRE, A.L. 1995. Pyrethroid and organophosphate resistance in the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Bulletin of Entomological Research*, 85: 181- 187.
- CERVERA, M.T., CABEZAS, J.A., SIMON, B., MARTINEZ-ZAPATER, J.M., BEITIA, F. and CENIS, J.L. 2000. Genetic Relationships among Biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) Based on AFLP analysis. *Bulletin of Entomological Research.*, 90: 391- 396.
- CHANDRE, F., DARRIET, F., DARDER, M., CUANY, A., DOANNIO, J. M., PASTEUR, N. and GUILLET, P. 1998. Pyrethroid resistance in *Culex quinquefasciatus* from west Africa. *Med. Vet. Entomol.*, 12: 359– 366.
- 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 Biochem. Mol. Biol.*, 31: 805– 816.
- COHEN, L.G., ZIEMANN, U., CHEN, R., CLASSEN, J., HALLETT, M., GERLOFF, C. and BUTEFISCH, C. 1998. Studies of neuroplasticity with transcranial magnetic stimulation. *J Clin Neurophysiol*, 15: 305–324.
- DAĞLI, F. 2004. Çiçek Thrips'i, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae)' in 5 İnsektisid: Abamectin, Cypermethrin, Endosulfan, Malathion ve Methomyl'e Olan Duyarlılığı Üzerinde Araştırmalar Doktora Tezi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Antalya.
- DE LA RU'A P., SIMON, B., CIFUNENTES, D., MARTINEZ-MORA, C. ve CENIS, L. 2006. New Insights into the Mitochondrial Phylogeny of Whitefly *Bemisia*

- tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in the Mediterranean Basin. The Authors JZS, 44: 25- 33.
- DENHOLM, I., CAHILL, M., DENNEHY, T.J. and HOROWITZ, A.R. 1998. Challenges with managing insecticide resistance in agricultural pests, exemplified by the whitefly *Bemisia tabaci*. Biol. Sci., 353: 1757.
- DOYLE, J.J. and DOYLE, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin, 19: 11-15.
- DÖKMECİ, İ. 2000. “Toksikoloji”, 2. Baskı. Nobel Tıp Kitapevi, 95-99 ss.
- FAN, F., YOU, Z., LI, Z., CHENG, J., TANG, Y. and TANG, Z. 2009. A butterfly effect: highly insecticidal resistance caused by only a conservative residue mutated of *Drosophila melanogaster* acetylcholinesterase. J Mol Model, 15: 1229–1236.
- FARNHAM, A.W. 1971. Changes in cross-resistance patterns of house flies selected with natural pyrethrins or resmethrin (5-benzyl-3-furylmethyl-cis-transchrysanthemate). Pest Sci., 2: 138–143.
- FARNHAM, A.W. 1973. Genetics of resistance of pyrethroid selected house flies, *Musca domestica* L. Pest Sci., 4: 513–520.
- FAO/WHO 1993. International Programme on Chemical Safety (IPCS). Summary of Toxicological Evaluations Performed by the Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Geneva, Switzerland, 1513-1540 pp.
- FEYEREISEN, R. 1999. Insect P450 enzymes. Annu. Rev. Entomol., 44: 507–533.
- FRENCH-CONSTANT, R.H., DABORN, P.J. and GOFF, G.L. 2004. The genetics and genomics of insecticide resistance. Trends Genet., 20: 163-170.
- FOURNIER, D., BRIDE, J.M., HOFFMAN, F. and KARCH, F. 1992. Acetylcholinesterase. Two types of modifications confer resistance to insecticides. J. Biol. Chem., 267: 14270-14274.
- FROHLICH, D.R., TORRES-JEREZ, I.I., BEDFORD, I.D., MARKHAM, P.G. and BROWN, J.K. 1999. A phylogeographical analysis of the *Bemisia tabaci* species complex based on mitochondrial DNA markers. Mol. Ecol., 8: 1683–1691.
- GÖÇMEN, H. and DEVRAN, Z. 2002. Determination of genetic variation in populations of *Bemisia tabaci* in Antalya. Turk J Agric For, 26: 211-216.
- GÖÇMEN, H., TOPAKÇI, N. ve İKTEN, C. 2007. Pamuk Beyazsineği, *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera:Aleyrodidae)’ye Karşı Azadirachtin’ in Etkinliği Üzerine Bir Araştırma. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, 07058 Antalya.

- GULLAN, P.J. and CRANSTON, P.S. 2004. The insect Blackwell publishing. Department of Entomology, University of California, Davis, USA.
- HAYAOKA, T. and DAUTERMAN, W.C. 1982. Induction of Glutathion Stransferase by Phenobarbital and Pesticides in Various House Fly Strains and Its Effect on Toxicity. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 17: 113-119.
- HEMINGWAY, J., MIYAMOTO, J., and HERATH, P.R.J. 1991. A possible novel link between organophosphorus and DDT insecticide resistance genes and in Anopheles supporting evidence from fenitrothion metabolism studies. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 39, 45–56.
- HOUNDETE, T.A., KETOH, G.K., HEMA, O.S.A, BREVAULT, T., GLITHO, I.A. and MARTIN, T., 2010. Insecticide resistance in field populations of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in West Africa. *Pest Manag Sci*, 66: 1181–1185, www.soci.org, 2010 Society of Chemical Industry.
- HSU, J.C., HYMER, D.S., WU, W.J. and FENG, H.T. 2006. Mutations in the acetylcholinesterase gene of *Bactrocera dorsalis* associated with resistance to organophosphorus insecticides. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 36: 396-402.
- HUANG, Y., YARIO, T.A. and STEITZ, J.A. 2004. A molecular link between SR protein dephosphorylation and mRNA export. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101: 9666–9670.
- HOROWITZ, A.R., KONTSEDALOV, S., KHASDAN,V. and ISHAAYA, I. 2005. Biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* and their relevance to neonicotinoid and pyriproxyfen resistance, *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 58: 216.
- IRAC 2012. <http://www.irc-online.org/>.
- JAVED, N., VINER, R., WILLIAMSON, M.S., FIELD, L.M., DEVONSHIRE, A.L. and MOORES, G.D. 2003. Characterization of acetylcholinesterases, and their genes, from the hemipteran species *Myzus persicae* (Sulzer), *Aphis gossypii* (Glover), *Bemisia tabaci* (Gennadius) and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). *Insect Molecular Biology*, 12: 613- 620.
- JONES, D.R. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies, *Eur. J. Plant Pathol.*, 109: 195.
- KAKANI, E.G., IOANNIDES, I.M., MARGARITOPOULOS, J.T., SERAPHIDES, N.A., SKOURAS, P.J., TSITSIPIS, J.A. and MATHIOPOULOS, K.D. 2008. A small deletion in the olive fly acetylcholinesterase gene associated with high levels of organophosphate resistance. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 38: 781–787.
- KARUNKER, I., BENTING, J., LUEKE, B., PONGE, T., NAUEN, R., RODITAKIS, E., VONTAS, J., GORMAN K., DENHOLM, I. and MORIN, S. 2008. Over-expression of cytochrome P450 CYP6CM1 is associated with high resistance to imidacloprid in the B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 38: 634– 644.

- KASAI, S., SHONO, T. and YAMAKAWA, M. 1998. Molecular cloning and nucleotide sequence of a cytochrome P450 cDNA from a pyrethroid-resistant mosquito, *Culex quinquefasciatus* say. Insect Mol. Biol., 7: 185– 190.
- KASAI, S., WEERASHINGHE, I. S., SHONO, T. and YAMAKAWA, M. 2000. Molecular cloning, nucleotide sequence and gene expression of a cytochrome P450 (CYP6F1) from the pyrethroidresistant mosquito, *Culex quinquefasciatus* say. Insect Biochem. Mol. Biol., 30: 163–171.
- KAYHAN, F.E.B., KOÇ, N.D., CONTUK, G.,MUŞLU, M.N. ve SESAL, N.C. 2009. Sıçan Böbrek Dokusunda Endosulfan ve Malathion'un Oluşturduğu Yapısal Değişiklikler. Çankaya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Journal of Arts & Sciences,12.
- KILIÇ, E. 2006. Tütün Beyazsineği [*Bemisia tabaci* Gennadius, 1936 (Homoptera: Aleyrodidae)] ile Biyolojik Mücadelede *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1826 Hyphomycetes: Deuteromycotina) İzolatlarının Potansiyellerinin Belirlenmesi, Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- KIZILDENİZLİ, Ö. 1990. İnektisitlerin Sınıflandırılması, Etki Mekanizmaları ve Kullanım Kuralları, Adana, 42.
- KRANTHI, K.R. 2005. İnekticide Resistance Monitoring, Mekanisms and Management Manual Kitabı. Central Institute for Cotton Research, PB No 2,Shankarnagar PO, Nagpur 440 010 (India).
- KOZAKI, T., SHONO, T., TOMITA, T. and KONO, Y. 2001a. Fenitroxon insensitve acetylcholinesterases of the housefly, *Musca domestica* associated with point mutations. Insect Biochem Mol Biol., 31: 991–997.
- KOZAKI T., TOMITA, T., SHONO, T. and KONO, Y. 2001b. Polymorphism in the acetylcholinesterase gene of the housefly, *Musca domestica* L..Appl. Entomol. Zool, 36: 377–380.
- KOZAKI, T., KIMMELBLATT, B.A., HAMM, R.L. and SCOTT, J.G. 2008. Comparison of two acetylcholinesterase gene cDNAs of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*, in insecticide susceptible and resistant strains. Arch. Insect Biochem. Physiol. 67, 130e138.
- LEORA SOFTWARE 1987. POLO-PC.
- LEE, S. H. and CLARK, J.M. 1998. Permethrin Carboxylesterase functions as nonspecific sequestration proteins in the hemolymph of colorado potato beetle. Pest. Biochem. Phys., 62: 51–63.
- LI, X., ZANGERL, A.R., SCHULER, M.A. and BERENBAUM, M.R. 2000. Cross-resistance to alphacypermethrin after xanthotoxin ingestion in *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol., 93: 18– 25.

- LI, X., SCHULER, M.A. and BERENBAUM, M.R. 2007. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annu. Rev. Entomol.*, 52: 231-253.
- LIU, N. and PRIDGEON, J.W. 2002. Metabolic detoxication and the *kdr* mutation in pyrethroid resistant house flies *Musca domestica* (L.). *Pest Biochem Physiol*, 73:157–163.
- LUO, C., JONES, C.M., DEVINE, G., ZHANG, F., DENHOLM, I. and GORMAN, K. 2010. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* biotype Q (Hemiptera: Aleyrodidae) from China. *Crop Protection*, 29: 429-434.
- LÜLEYAP, Ü.H. 1996. Çukurova Bölgesindeki Sivrisineklerde Gelişen Fizyolojik İnektisit Direncinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- LÜLEYAP, Ü.H. 2008. Moleküler Genetiğin Esasları Kitabı, Nobel Kitabevi, 112-205 ss.
- MARTIN, J.H., MIFSUD, D. and RAPISARDA, C. 2000. The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of Europe and the Mediterranean Basin, *Bull. Entomol. Res.*, 90: 407.
- MENGLE, D.C. and CASIDA, J.E. 1958. Inhibition and Recovery of Brain Cholinesterase Activity in House Flies Poisoned with Organophosphate and Carbamate Compounds. *J. Econ. Ent.*, 51: 750-757.
- 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 Evol. Biol.*, 4: 4.
- MORIN, S., WILLIAMSON, M.S., GOODSON, S.J., BROWN, J.K., TABASHNIK, B.E. and DENNEHY, T.J. 2002. Mutations in the *Bemisia tabaci para* sodium channel gene associated with resistance to a pirethroit plus organophosphate mixture. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32: 1781-1791.
- MUKUNDAN, T.K. 1964. *Plant Protection Principles and Practice*. Asia Publishing House, London, 389 pp.
- MUTERO, A., PRALAVORIO, M., BRIDE, J.M. and FOURNIER, D. 1994. Resistance-associated point mutations in insecticide insensitive acetylcholinesterase. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 91: 5922–5926.
- NABESHIMA, T., MORI, A., KOZAKI, T., IWATA, Y., HIDOH, O., HARADA, S., KASAI, S., SEVERSON, D.W., KONO, Y. and TOMITA, T. 2004. An amino acid substitution attributable to insecticide-insensitivity of acetylcholinesterase in a Japanese encephalitis vector mosquito, *Culex tritaeniorhynchus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 313: 794-801.

- NARAHASHI, T. 1989. The role of ion channels in insecticide action. In: Narahashi, T., Chambers, J.E. (Eds.), *Insecticide Action. From Molecule to Organism*. Plenum Press, New York and London, 55-84 pp.
- NAUEN, R. and DENHOLM, I. 2005. Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: current status and future prospects. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 58: 200.
- NELSON, D.L. and COX, M.M. 2005. *Lehninger Biyokimyanın Etkileri*. Palme Yayıncılık., 444- 445 ss.
- NICHOLSON, R.A., BOTHAM, R.P. and COLLINS, C. 2006. The use of [3H] permethrin to investigate the mechanisms underlying its differential toxicity to adult and larval stages of the sheen blowfly *Lucilia sericata*. *Pest. Sci.*, 14: 57-63.
- NCBI 2011. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>.
- O'BRIEN, R.D. 1974. *Insecticides -Action and Metabolism-*. Academic Press, Inc., London, 332 s.
- OH, S.H., KOZAKI, T., MIZUNO, H., TOMITA, T. and KONO, Y. 2006. Expression of *Ace*-paralogous acetylcholinesterase of *Culex tritaeniorhynchus* with an amino acid substitution conferring insecticide insensitivity in baculovirus–insect cell system, *Pestic. Biochem. Physiol.*, 85: 46–51.
- OLIVEIRA, M.R.V., HENNEBERRY, T.J. and ANDERSON, P. 2001. History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. *Crop. Prot.*, 20: 709–723.
- ONSTAD, D.W. 2008. *Insect Resistance Management: Biology, Economics and Prediction*. Academic Press is an imprint of Elsevier. ISBN: 978-0-12-373858-5, web site at www.books.elsevier.com, Typeset by Charon Tec Ltd (A Macmillan Company), Chennai, India. Printed and bound in the USA.
- OTTEA, J.A., IBRAHIM, S., YOUINS, A.M., YOUNG, R.J., LEONARD, B.R., and MCCAFFERY, A.R. 1995. Biochemical and physiological mechanisms of pyrethroid resistance in *Heliothis virescens* (F.). *Pestic. Biochem. Physiol.*, 51, 117– 128.
- ÖNCÜER, C. 1993. 'Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları'. İkinci Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi: İzmir, 326 ss.
- ÖNCÜER, C. 2004. Tarımsal zararlılarla savaş yöntemleri ve ilaçları. Adanan Menderes Üniversitesi Yayınları, 19: 260-299.
- PERRING, T.M. 2001. The *Bemisia tabaci* Species Complex. *Crop Protection*, 20: 725-737.

- PERRY, T., BATTERHAM, P. and DABORN, P.J. 2011. The biology of insecticidal activity and resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 1- 12.
- PHYTOSANITARY ALERT SYSTEM 2005. First report of *Bemisia tabaci* Biotype Q in the United States. NAPPO (<http://www.pestalert.org/pestnews.cfm>).
- RINKEVICH, F.D., HAMM, R.L., GEDEN, C.J. and SCOTT, J.G. 2006. Dynamics of insecticide resistance alleles in house fly populations from New York and Florida. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 37: 550–558.
- RODITAKIS, E., RODITAKIS N.E. and TSAGKARAKOU A. 2005. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) populations from Crete. *Pest Manag Sci*, 61: 577–582.
- RODITAKIS, E., TSAGKARAKOU, A. and VONTAS, J. 2006. Identification of mutations in the para sodium channel of *Bemisia tabaci* from Crete, associated with resistance to pyrethroids. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 85: 161–166.
- ROMTHAMSTED RESEARCH 2010. An example of a protein: the sodium channel <http://www.rothamsted.ac.uk/notebook/sodiumchannel.html#Top>.
- ROSE, R.L., GOH, D., THOMPSON, D.M., VERMA, K.D., HECKEL, D.G., GAHAN, L.J., ROE, R.M. and HODGSON, E. 1997. Cytochrome P450 (CYP)9A1 in *Heliothis virescens*: the first member of a new CYP family. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 27: 605– 615.
- SADAR, M.H., KARAMAN, H. ve BAŞOL, M.S. 1978. «Bazı Pestisitlerin Enzimlerle Etkileşmesi,136-154 s.» Tarım İlaçlarının Kullanılması Semineri Ed. O.D.T.Ü. Gaziantep Kampüsü, 350 s.
- SALAS, J. and MENDOZA, O. 1995. Biology of the Sweetpotato Whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) on Tomato. *Florida Entomologist*, 78.
- SANGER, F., NICKLEN, S. and COULSON, A.R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74: 5463-7.
- SAYILI, M. ve AKMAN, Z. 1994. Tarımsal Uygulamalar ve Çevreye Etkileri, Ekoloji Çevre ve Bilim Dergisi, 12: 28-32.
- SCHARF, M.E., SIEGFRIED, B.D., MEINKE, L.J., and CHANDLER, L.D. 2000. Fipronil metabolism, oxidative sulfone formation and toxicity among organophosphate and carbamate-resistant and susceptible western corn rootworm populations. *Pest Manag. Sci.*, 56: 757-766.
- SEIFERT, J. and SCOTT, J.G. 2002. The CYP6D1v1 allele is associated with insecticide resistance. *Pestic. Biochem. Physiol.*,72: 40-44.

- SERİN, E.M. 2009. Diklorvos' un Subletal Dozlarının *Pimpla turionellae* L.'nin Yumurta Açılımına Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- SHI, M., LOUGARRE, A., ALIES, C., FRÉMAUX, I., TANG, Z., STOJAN, J. and FOURNIER, D. 2004. Acetylcholinesterase alterations reveal the fitness cost of mutations conferring insecticidal resistance. *BMC Evolutionary Biology*, 4:5. [http:// www.biomedcentral.com/1471-2148/4/5](http://www.biomedcentral.com/1471-2148/4/5).
- SODERLUND, D.M. and KNIPPLE, D.C. 2003. The molecular biology of knockdown resistance to pyrethroid insecticides. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 33: 563–577.
- SODERLUND, D.M and BLOOMQUIST, J.R. 1989. Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. *Annu. Rev. Entomol.*, 34: 77–96.
- SUNDUKOV, O.V. 1969. The Effect of Organic Phosphorous Insecticides on the Central. Nervous System of the Caterpillars of Lepidoptera. *Entomol. Rev.*, 48: 37-42.
- STUART, J.J., RAY, S., HARRINGTON, B.J., NEAL, J.J. and BEEMAN, R.W. 1998. Genetic mapping of a major locus controlling pyrethroid resistance in *Tribolium castaneum* (Coleoptera:Tenebrionidae). *J. Econ. Entomol.*, 91: 1232– 1238.
- ŞANLI, Y. 1988. Veteriner Farmakoloji Kemoterapotik İlaçlar, Veteriner Fakültesi Yayınları, 658- 696 s.
- TİRYAKİ, O., CANHİLAL, R. ve HORUZ, S. 2010. Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26: 154-169.
- TOPAKÇI, N. 2008. Türkiye'deki bazı *Bemisia tabaci* (Genn.)(Homoptera: Aleyrodidae) Populasyonlarının Biyolojik, Morfolojik, Biyokimyasal ve Moleküller Genetik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Akdeniz Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı.
- TSAGKARAKOU, A., NIKOU, D., RODITAKIS, E., SHARVIT, E., MORIN, S. and VONTAS, J. 2009. Molecular diagnostics for detecting pirethroit and organophosphate resistance mutations in the Q biotype of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 94: 49–54.
- ÜNAL, G. ve GÜRKAN, M.O. 2001. İnektisitler Kimyasal Yapıları, Toksikolojileri ve Ekotoksikolojileri, Ethemoglu Ofset Matbacılık, 3- 24 ss.
- UYGUN, N. ve ELEKÇİOĞLU, I.H. 1990. Doğu Akdeniz Bölgesi Beyazsinek (Homoptera: Aleyrodidae) Türlerinin Saptanması. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 14: 85-96.
- VAIS, H., GOODSON, S., ELDURSI, N., WILLIAMSON, M.S., DEVONSHIRE, A.L., COHEN ,C.J. and USHERWOOD, P.N.R. 2000. Cooperativity between pyrethroid-resistance mutations (*kdr* and *super-kdr*) upon insertion into the

Drosophila para sodium channel, Society for Neuroscience 30th Annual Meeting, New Orleans, LA, Abstracts, 26: 1110.

- VASSILIOU, V., EMMANOUILIDOU, M., PERRAKIS, A., MOROU, E., VONTAS, J., TSAGKARAKOU, A. and RODITAKIS, E. 2010. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* from Cyprus. *Insect Science*, 18: 30–39.
- VAUGHAN, A., ROCHELEAU, T. and FFRENCH-CONSTANT, R. 1997. Site-directed mutagenesis of an acetylcholinesterase gene from the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* confers insecticide insensitivity. *Exp. Parasitol.*, 87: 237–244.
- VIKIPEDI 2012. Asetilkolin. [Http://tr.wikipedia.org/wiki/Asetilkolin](http://tr.wikipedia.org/wiki/Asetilkolin).
- VISCARRET, M.M., TORRES-JREZ, I., AGOSTINI DE MANERO, E., LOPEZ, S.N., BOTTO, E.E. and BROWN, J.K. 2003. Mitokondrial DNA Evidence for a Distinct New World Group of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) Indigenous to Argentina and Bolivia, and Presence of the World B Biotype in Argentina. *Ecology and Population Biology.*, 96: 65- 72.
- VONTAS, J.G., HEJAZI, M.J., HAWKES, N.J., COSMIDIS, N., LOUKAS, M. and HEMINGWAY, J. 2002. Resistance-associated point mutations of organophosphate acetylcholinesterase, in the olive fruit fly *Bactrocera oleae*. *Insect Mol Biol*, 11: 329–336.
- WALSH, S.B., DOLDEN, T.A., MOORES, G.D., KRISTENSEN, M., LEWIS, T., DEVONSHIRE A.L. and WILLIAMSON, M.S. 2001. Identification and Characterization of Mutations in Housefly (*Musca domestica*) Acetylcholinesterase Involved in Insecticide Resistance. *Biochemistry Journal*, 359: 175-181.
- XIE, W. , WANG, S., WU, Q., FENG, Y., PAN, H., JIAO, X., ZHOU, L., YANG, X., FU, W., TENG, H., XU, B. and ZHANG, Y. 2010. Induction effects of host plants on insecticide susceptibility and detoxification enzymes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Manag Sci*, 67: 87–93.
- YUAN, L., WANG, S., ZHOU, J., DU, Y., ZHANG, Y. and WANG, J. 2012. Status of insecticide resistance and associated mutations in Q-biotype of whitefly, *Bemisia tabaci*, from eastern China. *Crop Protection*, 31: 67- 71.
- ZHU, K.Y., LEE, S.H. and CLARK, J.M. 1996. A point mutation of acetylcholinesterase associated with azinphosmethyl resistance and reduced fitness in Colorado potato beetle. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 55: 100-108.

ÖZGEÇMİŞ

20.02.1986 yılında Artvin’de dünyaya geldi. İlk ve orta öğretimini Antalya’da tamamladı. 2004- 2009 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü’nde eğitim gördü. 2009 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2010 yılında aynı bölümde Araştırma Görevlisi kadrosuna atandı.