

***Myzus persicae* (Sulz.) (Hemiptera: Aphididae)'de insektisitlere direnç ile ilişkili karboksilesterazın spektrofotometre ve elektroforez ile belirlenmesi¹**

A. Sibel VELİOĞLU²

Seval TOROS³

SUMMARY

Determination of carboxylesterase-related insecticide resistance in *Myzus persicae* (Sulz.) (Hemiptera: Aphididae) by spectrophotometer and electrophoresis

Carboxylesterase-related insecticide resistance in six different populations of *Myzus persicae* (Sulz.) (Hemiptera: Aphididae) collected from Izmir, Antalya, Ankara and Icel was investigated by spectrophotometer and electrophoresis. Total carboxylesterase activities of three resistant populations from Icel were found as extremely high levels comparing to the others. The carboxylesterase E4/FE4 bands determined with polyacrylamide gel electrophoresis were also intense in all Icel populations.

Key words: *Myzus persicae*, insecticide resistance, carboxylesterase

ÖZET

Myzus persicae (Sulz.) (Hemiptera: Aphididae)'nin İzmir, Antalya, Ankara ve İçel'den toplanan 6 farklı popülasyonunda insektisitlere direnç ile ilişkili olan karboksilesteraz enzimi spektrofotometre ve elektroforez ile incelenmiştir. İçel'den toplanan ve dirençli olan 3 popülasyonun toplam karboksilesteraz aktiviteleri diğer popülasyonlara göre daha yüksek bulunmuştur. Bu popülasyonların poliakrilamid jel elektroforez ile incelenen karboksilesteraz E4/FE4 bantları da diğer popülasyonlara göre daha kalındır.

Anahtar kelimeler: *Myzus persicae*, insektisit direnci, karboksilesteraz

¹ Bu çalışma "Değişik Bölgelerden Toplanan *Myzus persicae* (Sulz.) Populasyonlarının Farklı Grupları Bazı İsektisitlere Karşı Duyarlılık Farklarının Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar" isimli doktora tezinin bir bölümüdür.

² Ziraî Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü, 06172 Yenimahalle, Ankara

³ Emekli (Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü)
Yazının Yayın Kurulu'na geliş tarihi (Received): 05.12.2008

GİRİŞ

Yeşil şeftali yaprakbiti [*Myzus persicae* (Sulz.)] polifag bir zararlı olup, sokup emerek beslenmesi sonucu taze sürgünlere ve yapraklara doğrudan zarar verdiği gibi, 86'dan fazla bitki virüs hastalığını naklederek (Cloquemin et al. 1990) de bitkilere dolaylı olarak etkide bulunmaktadır. *M. persicae* seralarda sürekli parthenogenetik olarak çoğalmaya devam ettiğinden, zararı tüm yıl boyunca görülebilmektedir. Bu nedenle mücadelesinde kısa sürede etkili olan kimyasal ilaçlar tercih edilmektedir. Ancak izole edilmiş bu alanlarda kullanılan kimyasal ilaçlar, yaprakbitlerinin kısa sürede dirençli hale gelmesine neden olmaktadır.

İnsektisitlere direnç, WHO (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından "bir türün normal bir popülasyonundaki bireylerin çoğunu öldürdüğü ispatlanan bir insektisit dozunu, aynı böceğin diğer bir ırkının tolere etme yeteneğinin gelişmesi" olarak tanımlanmaktadır (Brown 1958). Bir insektisit etkili olabilmesi için, hedef alınan organizmadaki hedef alana ulaşması ve bu alandaki biyolojik işlemleri etkilemek için yeterli konsantrasyonda olması gerekmektedir. İnsektisit etki alanına ulaşması için yaptığı hareketi engelleyen fiziksel veya kimyasal herhangi bir engel, böceğin bu toksik maddeye direnç kazanmasına neden olabilir.

Biyosay yöntemlerle yapılan araştırmalar sonucunda, *M. persicae*'nin insektisitlere direnç kazandığı 1970'li yılların başından beri bilinmektedir. Direnç ile 1-naftil asetat'ı hidrolize eden esteraz enziminin aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon olduğunun belirlenmesi, *M. persicae*'deki direncin biyokimyasal yöntemlerle belirlenmesinde önemli bir dönüm noktası olmuştur (Needham and Sawicki 1971). Devonshire (1975)'in yaptığı elektroforez çalışması sonucunda 1-naftil asetat'ı hidrolize eden birçok enzimden sadece karboksilesteraz E4'ün artan aktivitesinin dirençte önemli rol oynadığı ortaya çıkmıştır. Fazla miktarda karboksilesteraz E4 bulunduğu, insektisitler sinir sistemindeki hedefe ulaşmadan önce detoksifiye olmakta ve bu nedenle de böcek normal biyolojik fonksiyonuna devam etmektedir.

Dünyada *M. persicae*'nin direnç durumu ile ilgili pek çok araştırma yapılmış olmasına karşın ülkemizdeki araştırmaların sayısı oldukça sınırlıdır ve sadece biyosay çalışmaları şeklindedir (Karman 1965: Öden 1979'dan, Polat ve ark. 1973, Zümreoğlu 1978, Velioğlu ve Toros 2002). Dünyada özellikle son 25 yıldır böceklerde insektisitlere karşı oluşan direncin mekanizmalarının belirlenmesinde biyokimyasal yöntemler oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Biyokimyasal çalışmalar invitro koşullarda yapıldığından ve sonucu daha kısa sürede alındığından, invivoda yürütülen biyosay çalışmalara göre de daha avantajlı durumdadır. Bu sayede direnç daha erken dönemde belirlenerek gerekli önlemler alınabilmektedir. Bu çalışma yoğun insektisit kullanımının olduğu sebze seralarından toplanan *M. persicae* popülasyonlarında direnç mekanizmalarının biyokimyasal yöntemler kullanılarak belirlenebilmesi

amacıyla 1997-1998 yılları arasında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nde yürütülmüştür.

MATERYAL VE METOT

Denemenin materyalini, *M. persicae* popülasyonları ile spektrofotometre, vertikal elektroforez sistemi, hassas terazi, inkübatör, tüp karıştırıcı, mikropipetler, değişik kimyasal, cam ve plastik malzemeler oluşturmuştur.

Myzus persicae popülasyonları

M. persicae popülasyonları ülkemizde örtüaltı sebze yetiştiriciliğinin önemli olduğu ve yoğun insektisit kullanılan bölgelerimizi temsilen Ege bölgesinden İzmir ili ile Akdeniz Bölgesi'nden Antalya ve İçel illerinden toplanmıştır. Adı geçen illerde, sebze seralarının yoğun olarak bulunduğu alanlar dolaşarak elde edilen *M. persicae* popülasyonları laboratuvarında kültüre alınmışlardır. Çizelge 1'de illere göre *M. persicae* bireylerinin toplandığı yerler açıklanmaktadır. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi (A.Ü.Z.F.) Bitki Koruma Bölümü serasında fındık turbu üzerinde yetiştirilmekte olan *M. persicae* popülasyonu ise Çizelge 1'de de görüleceği gibi Ankara popülasyonu olarak denemelerde incelenmiştir.

ÇİZELGE 1. *Myzus persicae* popülasyonlarının toplandıkları yerler

POPÜLASYON	TOPLANDIĞI YER
İzmir	Balçova-İzmir
Antalya	Kumluca -Antalya
Ankara	A.Ü.Z.F. Bitki Koruma Bölümü serası-Ankara
İçel-1	Adanalıoğlu köyü -İçel
İçel-2	Homurlu köyü -İçel
İçel-3	Kazanlı köyü -İçel

Tüm denemelerde, Rothamsted Research (İngiltere)'den getirilen *M. persicae*'nin "US1L" adlı hassas popülasyonu karşılaştırma amacı ile kullanılmıştır.

İzmir ve İçel popülasyonları biber bitkileri üzerinden, Antalya popülasyonu ise patlıcan bitkisi üzerinden toplanmıştır. Kültür için serada kolaylıkla yetiştirilebilen fındık turbu (*Raphanus sativus*) konukçu bitki olarak seçilmiştir. Kültürler 25±3 °C sıcaklık, %60-70 orantılı nem ve floresan lambalarla 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık sağlanan koşullarda yetiştirilmiştir.

Spektrofotometre ile toplam karboksilesteraz aktivitesinin belirlenmesi

Yeşil şeftali yaprakbitinde toplam karboksilesteraz aktivitesi Devonshire (1977)'in yöntemine göre belirlenmiştir. Bu amaçla kanatsız ergin *M. persicae* bireyleri tek tek 1.5 mL'lik ependorf tüplere konulmuş ve 200 µL 20 mM fosfat buffer (pH:7.0), içinde homojenize edilmiştir. Homojenattan 10 µL alınıp bir cam

tüpe konulmuş ve üzerine 3 mL 0.25 mM 1-naftil asetat çözeltisi ilave edilmiştir. Vorteks tüp karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra 25 °C sıcaklıkta 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda 0.5 mL %3.5 (w/v) sulu sodyum dodesil sülfat içinde %0.3 Fast Blue B salt (tetra-azotized *o*-dianisidine/ZnCl₂) çözeltisi ilave edilmiştir. Hazırlanan örneklerin 15 dakika sonra Varian 634 S marka spektrofotometrede, 605 nm dalga boyunda absorpsiyon okumaları yapılmıştır. Kontrol olarak 10 µL homojenat yerine, 10 µL 20 mM fosfat buffer (pH:7.0) çözeltisi kullanılmıştır.

Yaprakbitlerinde bulunan toplam karboksilesteraz miktarının belirlenebilmesi için saf karboksilesteraz enzimi kullanılarak standart hazırlanmıştır. Deneme süresince enzimi stabil halde tutabilmek için 1 mg/mL oranında BSA (bovine serum albumin)'lı buffer ilave edilmiştir (Devonshire 1977). Bunun için 0.5 mg esterase (E.C.3.1.1.1) 5 mL BSA'lı buffer ile karıştırılarak stok hazırlanmıştır. Bu stoktan BSA'lı buffer kullanılarak seyreltmeler yapılmış ve her seyreltmeden 10µL alınıp üzerine 3 mL 0.25 mM 1-naftil asetat ilave edilmiştir. Daha sonraki aşamalar yukarıda açıklanan yöntemle göre sürdürülmüş ve Varian 634 S marka 605 nm dalga boyunda absorpsiyon okunmuştur.

Standart için 8 ayrı seyreltme hazırlanmış ve deneme 4 tekerrürlü yapılmıştır. *M. persicae* bireylerinin kullanıldığı denemelerde ise en az 30 birey kullanılmıştır. Elde edilen absorpsiyon değerlerinin logaritması alındıktan sonra grafikleri çizilmiştir.

Elektroforez ile karboksilesterazın incelenmesi

Tüm popülasyonların karboksilesteraz bantları %7.5'lük poliakrilamid jel (Davis 1964, William and Reisfeld 1964) ve barbiton buffer (Williams and Reisfeld 1964) kullanılarak dikey elektroforezde incelenmiştir. Bu amaçla kanatsız ergin yaprakbitleri tek tek 15 µL homojenizasyon çözeltisi (1 g sakkaroz, 9 g destile su, 50 µL %0.5 Triton X-100 ve %0.001 bromocresolpurple) içinde homojenize edilmiş ve her bir jel kuyusuna 10'ar µL homojenat yüklenmiştir. Jel, 150 voltta, 100 mA'de yaklaşık olarak 3 saat koşturulmuştur. Cam plakaların arasından çıkarılan jel, 10 mL 30 mM 1-naftil asetat içeren 500 mL Fast Blue RR salt boya çözeltisi [1g Fast Blue RR salt, 500 mL 0.2 M fosfat buffer (pH: 6.0)] içine konulmuştur. Karanlıkta 30-60 dakika boyandıktan sonra, jel fiksasyon için %7'lik asetik asit içine konulmuştur. Jellerin bir gün sonra fotoğrafı çekilmiştir.

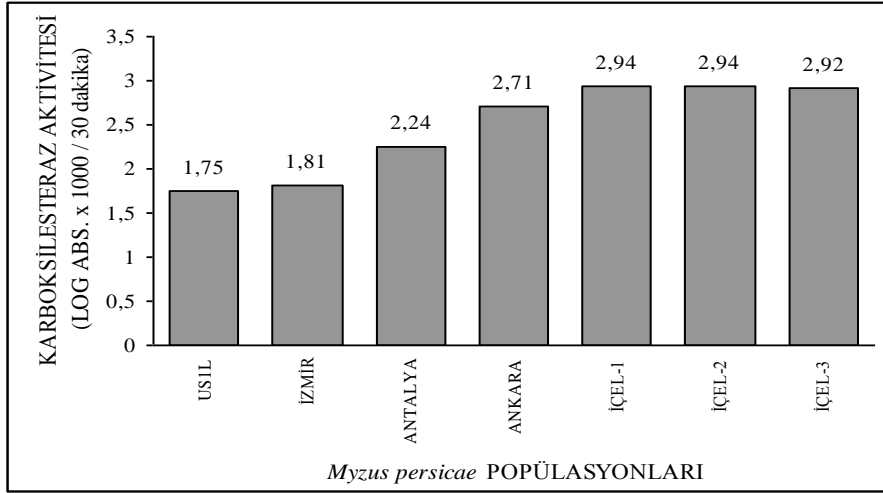
SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Spektrofotometre ile toplam karboksilesteraz aktivitesinin belirlenmesi

İnsektisitlere direnç, bazı böceklerin belirli karboksilesterazları hidrolize etme yeteneğindeki artış ile ilişkilidir. Artan karboksilesteraz aktivitesine bağlı direnç, ilk olarak *Nephotettix cincticeps* ve *Laodelphax striatellus*'da bulunmuştur (Ozaki 1969). Direnç ile 1-naftil asetatın hidrolizi arasındaki pozitif korelasyon, *M.*

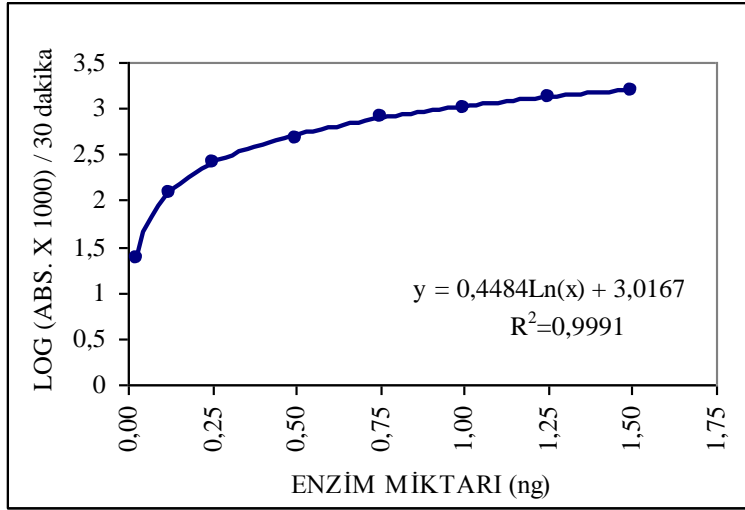
persicae (Needham and Sawicki 1971) ve *A. gossypii* (Furk *et al.* 1980)'de belirlenmiştir. Yapılan çalışmalara göre, *M. persicae*'de karboksilesteraz E4'ün aktivitesindeki artışa bağlı olarak direnç de artmaktadır ve bu bireyler arasında enzim miktarının artmasını sağlayan E4'ün yapısal geniyle ilgili bir hipotez bulunmaktadır (Devonshire and Sawicki 1979). Bu hipotezde, "varolan enzimin aynı miktarda, daha etkin olma" görüşünün aksine "dirençli ırklarda hassas ırklara göre daha fazla miktarda enzimin bulunduğu" öne sürülmektedir. *M. persicae*'de E4'ün dirençten sorumlu olduğu kesin olarak anlaşıldıktan sonra, bunun yaprakbiti bireylerinden belirlenebilmesi önem kazanmıştır. Çünkü duyarlı ve çok dirençli yaprakbitileri, toplam karboksilesteraz aktivitesi ile birbirlerinden ayrılabilirlerdir. Bu amaçla, bir yaprakbiti homojenize edilmekte ve 1-naftil asetatı hidrolize edebilen bütün esterazların aktivitesi birlikte ölçülmektedir.

Deneme sonucunda, tüm popülasyonların toplam karboksilesteraz aktivitelere ait veriler elde edilmiş ve bu değerlerin logaritması alınarak Şekil 1'de verilmiştir. USIL, İzmir, Antalya, Ankara, İçel-1, İçel-2 ve İçel-3 popülasyonlarına ait aktivite değerleri sırasıyla 1.75, 1.81, 2.24, 2.71, 2.94, 2.94 ve 2.92 olarak bulunmuştur.



ŞEKİL 1. *Myzus persicae* popülasyonlarının spektrofotometre ile ölçülen toplam karboksilesteraz aktiviteleeri.

Araştırmada, saf karboksilesteraz enzimi kullanılarak yapılan spektrofotometrik analizler sonucu elde edilen verilere ait standart eğri grafiği ile regresyon denklemi ve katsayısı Şekil 2'de verilmiştir. Regresyon denklemi kullanılarak spektrofotometrede okunan absorbans değerleri ile *M. persicae* bireylerinin karboksilesteraz enzimi miktarları da bulunmuştur.



ŞEKİL 2. Spektrofotometre ile elde edilen karboksilesteraz standart eğrisi, regresyon denklemi ve katsayısı.

Saf karboksilesteraz enzimi kullanılarak bulunan regresyon denklemi ile hesaplanan popülasyonların toplam karboksilesteraz miktarı ortalamaları ise US1L’de 0.0593ng, İzmir’de 0.0678ng, Antalya’da 0.1769ng, Ankara’da 0.5046ng, İçel-1’de 0.8428ng, İçel-2’de 0.8428ng ve İçel-3’de 0.8060ng olarak bulunmuştur.

Elde edilen bu veriler incelendiğinde, İçel popülasyonlarının yüksek düzeyde toplam karboksilesteraz aktivitesine sahip oldukları görülmektedir. Veliöğlu ve Toros (2002), aynı popülasyonlarla yürütülen biyoassay çalışmaları sonucunda İçel popülasyonlarının pirimicarb’a 600 kattan fazla, diazinon ve deltamethrin’e karşı da sırasıyla en az 6.4 ve 10.0 kat dirençli olduklarını tespit etmiştir (Çizelge 2). Bu durum, direnç ile karboksilesteraz aktivitesi arasındaki pozitif korelasyonu doğrular niteliktedir.

Ankara popülasyonunun toplam karboksilesteraz aktivitesi, İçel popülasyonlarının aktivitesinden düşük, US1L, İzmir ve Antalya popülasyonlarının aktivitesinden daha yüksektir. Veliöğlu ve Toros (2002) tarafından organikfosforlardan diazinona karşı Ankara popülasyonunun denenen tüm popülasyonlardan daha yüksek LD₅₀ değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu popülasyonun direnç oranı 10 kattan fazla bulunmuştur (Çizelge 2). US1L, İzmir ve Antalya popülasyonları incelendiğinde, hassas US1L popülasyonunun en düşük düzeyde toplam karboksilesteraz aktivitesine sahip olduğu görülmektedir. Bu popülasyonu sırasıyla İzmir ve Antalya popülasyonları izlemektedir. İzmir popülasyonunun toplam karboksilesteraz aktivitesi ise biraz daha yüksektir.

ÇİZELGE 2. Daldırma yöntemi ile *Myzus persicae*'ye uygulanan insektisitlerin LC₅₀ değerleri ve direnç oranları (Velioğlu ve Toros 2002'den değiştirilerek alınmıştır)

Popülasyon	Pirimicarb		Diazinon		Deltamethrin	
	LC ₅₀ ppm	Direnç oranı**	LC ₅₀ ppm	Direnç oranı**	LC ₅₀ ppm	Direnç oranı**
US1L	14.950	-	58.154	-	0.285	-
İZMİR	35.386	2.4	37.642	< 1.0	0.555	1.9
ANTALYA	50.178	3.4	95.900	1.6	0.819	2.9
ANKARA	52.995	3.5	630.448	10.8	0.123	< 1.0
İÇEL-1	Belirlenemedi*	>600	395.747	6.8	3.080	10.8
İÇEL-2	Belirlenemedi*	>600	374.783	6.4	3.047	10.7
İÇEL-3	Belirlenemedi*	>600	489.383	8.4	2.854	10.0

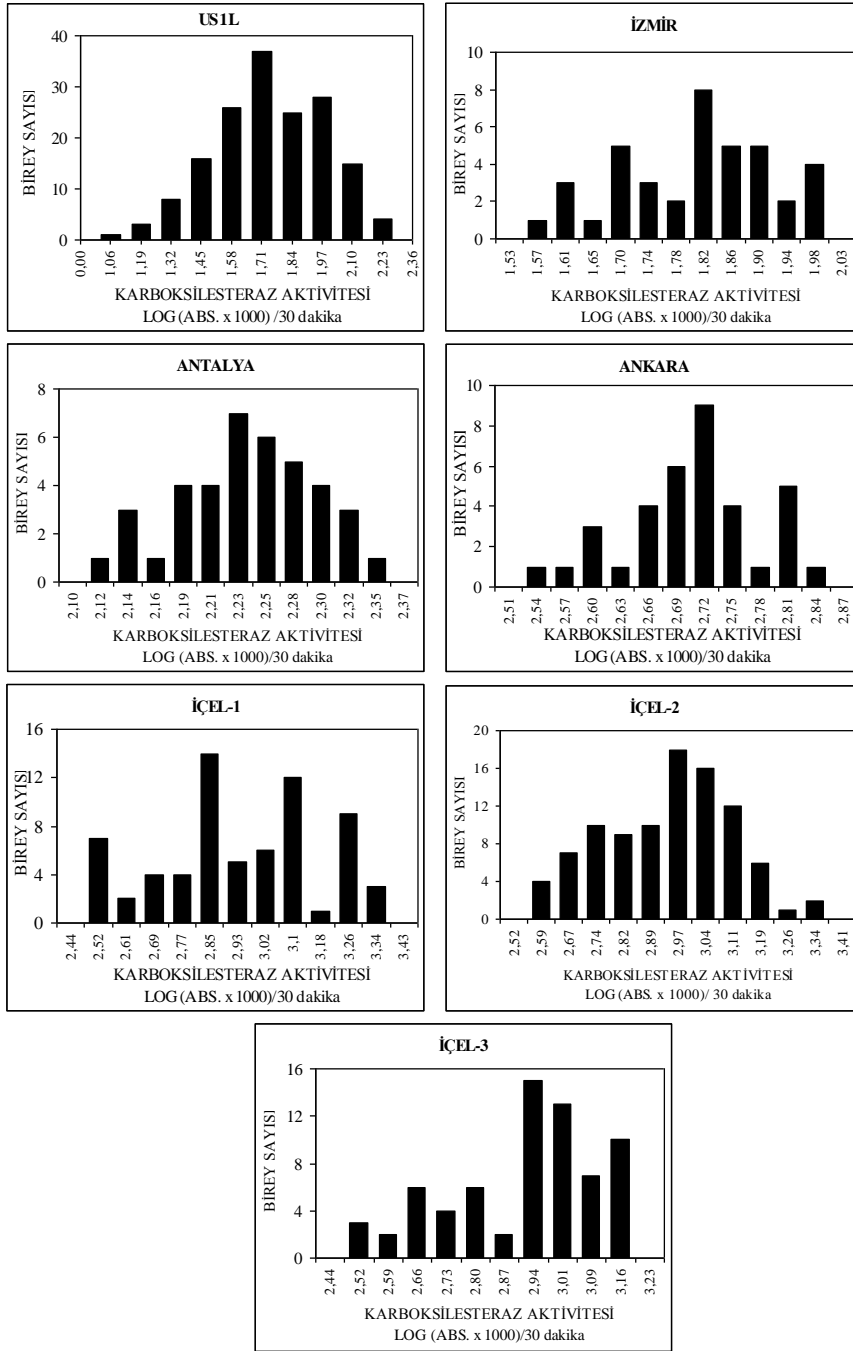
* Pirimicarb'ın çok yüksek dozları denenmesine rağmen, yaprakbitlerinde LC₅₀ düzeylerinin belirlenmesi için gerekli ölüm elde edilememiştir

** Direnç oranı = LC₅₀ (popülasyon)/LC₅₀ (US1L)

Velioğlu ve Toros (2002)'nin yürüttüğü biyoassay denemelerinden elde edilen veriler incelendiğinde, İzmir popülasyonunun diazinon için <1.0, pirimicarb için 2.4, deltamethrin için 1.9 kat direnç oranlarına sahip olduğu görülmektedir. Bu sonuçlara göre İzmir popülasyonunun, US1L popülasyonuna yakın düzeyde aktivite değerine sahip olması beklenen bir durumdur. Çizelge 2'deki biyoassay sonuçlarından da tahmin edileceği gibi, Antalya popülasyonu İzmir popülasyonundan daha yüksek aktiviteye, dolayısıyla daha yüksek toplam karboksilesteraz miktarına sahiptir.

Elde edilen toplam karboksilesteraz aktivitesi değerlerine göre popülasyonların frekans dağılımlarını gösteren grafikler ayrı ayrı çizilerek Şekil 3'te gösterilmiştir. Şekilde US1L popülasyonuna ait frekans dağılım grafiğinde, popülasyonu oluşturan bireylerin toplam karboksilesteraz aktivitesi bakımından 1.71 değerinde pik yaptığı görülmektedir. Bu popülasyona ait denenen bireylerin %71'i 1.58–1.97 değerleri arasında toplam karboksilesteraz aktivitesine sahip bulunmaktadır.

İzmir popülasyonuna ait frekans dağılım grafiği incelendiğinde bu popülasyonu oluşturan bireylerin, toplam karboksilesteraz aktivitesi bakımından 1.82 değerinde pik oluşturduğu görülmektedir (Şekil 3). İzmir popülasyonunun %62'sini 1.82–1.90 değerleri arasında toplam karboksilesteraz aktivitesine sahip bireyler oluşturmaktadır.



ŞEKİL 3. USIL, İzmir, Antalya, Ankara, İçel-1, İçel-2 ve İçel-3 popülasyonlarının toplam karboksilesteraz aktivitesine göre frekans dağılımları.

Şekil 3’de Antalya popülasyonunun toplam karboksilesteraz aktivitesi bakımından 2.23 değerinde pik oluşturduğu, bu popülasyona ait bireylerin %77’sinin 2.19–2.30 değerleri arasında toplam karboksilesteraz aktivitesine sahip durumda olduğu görülmektedir.

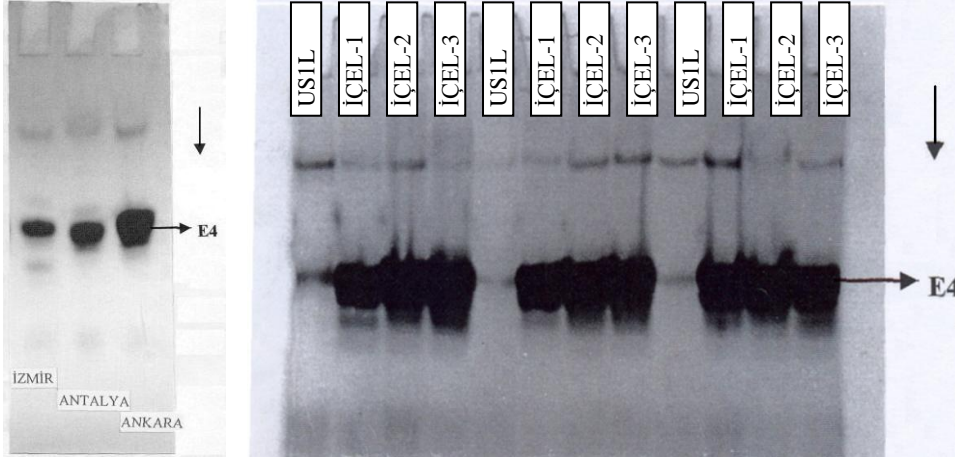
Ankara popülasyonuna ait frekans dağılım grafiği incelendiğinde ise, popülasyonun toplam karboksilesteraz aktivitesi bakımından 2.72 değerinde pik yaptığı görülmektedir. Popülasyonun %64’ünü 2.66–2.75 arasında toplam karboksilesteraz aktivitesine sahip bireyler oluşturmaktadır (Şekil 3). İçel-1, İçel-2 ve İçel-3 popülasyonlarına ait frekans dağılım grafiklerinde, popülasyonların toplam karboksilesteraz aktivitesi bakımından sırasıyla 2.85, 2.97 ve 2.94 değerlerinde pik yaptıkları görülmektedir (Şekil 3). İçel-1 popülasyonuna ait bireylerin %70’i 2.85–3.26 arasında toplam karboksilesteraz aktivitesine sahip durumdadır. İçel-2 popülasyonunun %79’u 2.74-3.11 arasında toplam karboksilesteraz aktivitesine sahip bireylerden oluşmaktadır. İçel-3 popülasyonunun %66’sının ise 2.94-3.16 arasında toplam karboksilesteraz aktivitesine sahip bireylerden oluştuğu görülmektedir.

Bu sonuçlara göre, US1L ve İzmir popülasyonlarını oluşturan bireylerin aktivitelerinin birbirlerine yakın oldukları, ancak US1L popülasyonunun daha düşük toplam karboksilesteraz aktivitesine sahip bireylerden de oluştuğu anlaşılmaktadır. İçel iline ait 3 popülasyon da oldukça yüksek aktiviteye sahip bireylerden oluşmaktadır. Antalya popülasyonu, US1L ve İzmir popülasyonlarından yüksek, diğer popülasyonlardan ise düşük aktiviteye sahip bireylerden meydana gelmektedir. Ankara popülasyonu ise US1L, İzmir ve Antalya popülasyonlarından daha yüksek aktiviteye sahiptir. Ankara popülasyonuna ait en yüksek aktivite değeri, İçel popülasyonlarının pik noktalarından daha düşük değere sahip bulunmaktadır.

Elektroforez ile karboksilesteraz enzimi bulguları

Direnci belirlemede en çok kullanılan biyokimyasal yöntemlerden biri de poliakrilamid jel elektroforez (PAGE) ’dir (Devonshire 1975, Devonshire 1977). 1-naftil asetat’ın substrat olarak kullanıldığı bu yöntemde, direnç ile kantitatif ilişkisinin olduğu belirlenen karboksilesteraz enzimi incelenmektedir. Elektroforezde koşturma işlemi sonucu oluşan jelde, karboksilesteraz 7 bant oluşturmaktadır. Bu bantlardan, *M. persicae*’de insektisitlere direnç ile arasında ilişki olduğu belirlenen ve E4/FE4 adı verilen dördüncüsü ele alınmaktadır.

Denemede kullanılan tüm popülasyonlara ait jel fotoğrafları Şekil 4’de verilmektedir. Şekil 4’de İzmir, Antalya ve Ankara popülasyonlarına ait jel incelendiğinde, E4/FE4 bandının Ankara popülasyonunda diğerlerine göre oldukça kalın bulunduğu görülmektedir. Bu bandın, İzmir popülasyonunda ince, Antalya popülasyonunda ise diğer ikisinin arasında bir kalınlıkta olduğu belirlenmiştir.



ŞEKİL 4. US1L, İzmir, Antalya, Ankara, İçel-1, İçel-2 ve İçel-3 popülasyonlarının karboksilesteraz enzimlerinin elektroforetik ayrımı.

İçel ve US1L popülasyonuna ait jel fotoğrafı incelendiğinde, E4/FE4 bandı kalınlığının, hassas US1L popülasyonunda çok ince, İçel popülasyonlarında ise çok kalın olduğu görülmektedir.

İki jel birlikte değerlendirilecek olursa, US1L oldukça ince bir banda sahiptir ve çok net görülememektedir. İzmir popülasyonunun E4/FE4 bandı, US1L'den daha kalın olup, bunu sırasıyla Antalya ve Ankara popülasyonları izlemektedir. Her üç İçel popülasyonunun E4/FE4 bantları oldukça kalındır. Spektrofotometreden elde edilen toplam karboksilesteraz miktarları ile birlikte değerlendirildiğinde (Şekil 2), bant kalınlıkları ile enzim miktarlarından elde edilen sonuçların beklendiği gibi birbirleriyle paralel oldukları görülmektedir.

Devonshire (1989), *M. persicae*'de elektroforez ile direncin belirlenmesinin birçok avantajı olduğunu belirtmektedir. Bunların bazıları aşağıda sıralamaktadır:

-Elektroforezden önce toplanan kültürün dikkatli teşhisine gerek yoktur. Çünkü *M. persicae*'ye çok yakın türler olan *Myzus antirrhinii* ve *Myzus certus* bile farklı karboksilesteraz bant dizilişi vermektedirler.

-Hymenopter parazitoidler tarafından parazitlenmesi durumunda ilave bir parazitoid bandı vermektedir. Ancak bu durumda bile E4/FE4 bandı özelliğini kaybetmemektedir.

Ancak, bu avantajlara karşılık, elektroforez yöntemi ile orta ve çok yüksek düzeyde dirençli yaprakbitlerinin ayrımında güçlük çekilmektedir.

Araştırma sonucu popülasyonların organikfosforlu ve karbamatlı insektisitlere gösterdikleri direnç oranındaki artışa bağlı olarak karboksilesteraz aktivitesinin de arttığı spektrofotometrik yöntem ile belirlenmiştir. Bu durum

ayrıca poliakrilamid jel elektroforez ile de kanıtlanmış ve *M. persicae*'de dirençten sorumlu olan karboksilesterazın E4/FE4 bandı da açıkça belirlenmiştir. Bu durum dünyada *M. persicae* ile yapılmış çalışmaları destekler niteliktedir.

Bu çalışma ile özellikle İçel'de bulunan sebze seralarından toplanan popülasyonların oldukça yüksek karboksilesteraz aktivitesine sahip oldukları görülmüştür. Dolayısıyla bu popülasyonlara karşı kullanılan insektisitlerin yaprakbiti vücudundaki hedef alan olan sinir sistemine ulaşmadan önce karboksilesteraz enzimi tarafından büyük oranda detoksifikasyona uğradığı anlaşılmaktadır. Kullanılan bu insektisitler yaprakbitlerine büyük ölçüde etkisiz olmaktadır. Bu durumda aynı etki mekanizmasına sahip insektisitlerin ardı ardına kullanılmaması, farklı etki mekanizmasına sahip insektisitlerin dönüşümlü olarak kullanılması direnç yönetim programları için temel önlemler olarak sıralanabilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı destekleyen Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu Müdürlüğü ile Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü'ne, hassas *Myzus persicae* popülasyonunun temin edildiği Rothamsted Research (İngiltere)'e ve bu popülasyonun getirilmesini sağlayan Syngenta firmasına teşekkür ederim.

LİTERATÜR

- Brown, A.W.A. 1958. Insecticide resistance in arthropods. WHO Monograph Series, No: 38, 240 p., Switzerland.
- Cloquemin, G., Hérold D. and Geny, A. 1990. La résistance des puserons aux aphicides. Phytoma, 423, 60-63.
- Davis, B. J. 1964. Disc electrophoresis-II, Method and application to human serum proteins. Ann. NY. Acad. Sci., 121, 404- 427.
- Devonshire, A. L. 1975. Studies of the carboxylesterases of *Myzus persicae* resistant and susceptible to organophosphorus insecticides. Proceedings 8th British Insecticide and Fungicide Conference, 67-73.
- Devonshire, A. L. 1977. The properties of a carboxylesterase from the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulz.), and its role in conferring insecticide resistance. Biochem. J., 167, 675-683.
- Devonshire, A. L. and Sawicki, R. M. 1979. Insecticide-resistant *Myzus persicae* as an example of evolution by gene duplication. Nature, 280, 140-141.
- Devonshire, A. L. 1989. The role of electrophoresis in the biochemical detection of insecticide resistance. In: Electrophoretic Studies on Agricultural Pests (eds. Loxdale, H. D. and Hollander, J. den). Systematic Association Special Volume No: 39, Clarendon Press, 363-374, Oxford.

- Furk, C., Powell, D. F. and Heyd, S. 1980. Pirimicarb resistance in the mellon and cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover. Plant Pathol., 29, 191-196.
- Needham, P. H. and Sawicki, R. M. 1971. Diagnosis of resistance to organophosphorus insecticides in *Myzus persicae* (Sulz.). Nature, 230, 125-126.
- Ozaki, K. 1969. The resistance to organophosphorus insecticides of the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* (Uhler) and the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* (Fallen). Rev. Plant Protec. Res., 2, 1-13.
- Öden, T. 1979. Insecticide resistance in agricultural insect species of Turkey. VI. Balkan Ülkeleri Bitki Koruma Konferansı Bildirileri, İzmir, 10-16 Ekim 1977, 187-193.
- Polat, M., Özışık, H. ve Yıldırım, A. F. 1973. Karadeniz bölgesi tütün dikim alanlarında tütünde yaprak biti *Myzus persicae* Sulzer'in insektisitlere karşı gösterdiği direnç üzerinde araştırmalar. Samsun Bölge Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü, 108.662 E nolu proje nihai raporu (basılmamış).
- Velioğlu, A. S. ve Toros, S. 2002. Değişik bölgelerden toplanan *Myzus persicae* (Sulz.) (Homoptera: Aphididae) populasyonlarının farklı gruptan bazı insektisitlere karşı duyarlılık farklarının belirlenmesi. Bitki Koruma Bülteni, 42 (1-4): 67-79.
- Williams, D. E. and Reisfeld, R. A. 1964. Disc electrophoresis in polyacrylamide gels: extension to new conditions of pH and buffer. Ann. NY. Acad. Sci., 121, 373-381.
- Zümreoğlu, S. 1978. Investigations on resistance of the green peach aphid (*Myzus persicae*) (Sulzer) against insecticides on tobacco growing areas in Aegean Region. Türk. Bit. Kor. Derg., 2 (2), 97-102.