

***Myzus persicae* (Sulz.) (Hemiptera: Aphididae)
popülasyonlarının karboksilesteraz
E4 ve FE4 tiplerinin elektroforez ile belirlenmesi¹**

A. Sibel VELİOĞLU²

Cem ERDOĞAN²

M. Oktay GÜRKAN³

Graham D. MOORES⁴

SUMMARY

Determination of carboxylesterase E4 and FE4 types in *Myzus persicae* (Sulz.) (Hemiptera:Aphididae) populations collected from Turkey by electrophoresis

The peach potato aphid, *Myzus persicae* (Sulz.) (Hemiptera: Aphididae), is a polyphagous pest, which is found in vegetable, horticultural and ornamental crop production systems in Turkey and throughout the world. Electrophoresis is the main technique for separating proteins and nucleic acids for a variety of purposes in most of the laboratories today. Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) is the preferred method for protein separations. There are positive correlation between insecticide resistance and carboxylesterase activity in *M. persicae*. One type of carboxylesterase E4 or FE4 activity is responsible for resistance in this aphid. During this study, different *M. persicae* populations that collected from Ankara, Antalya and Mersin vegetable green houses and fields were characterized using two different PAGE methods to determine the carboxylesterase E4 or FE4 types. The typical E4 band is found in Beypazarı and Karakeşli populations where as the others have FE4 band.

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

ÖZET

Yeşil şeftali yaprakbiti, *Myzus persicae* (Sulz.) (Hemiptera: Aphididae), ülkemizde ve dünyada sebze, meyve ve süs bitkilerinde bulunan polifag bir zararlıdır. Elektroforez, günümüzde birçok laboratuvarında proteinlerin ve nükleik asitlerin farklı amaçlarla ayrılması için kullanılan ana tekniklerden biridir. Poliakrilamid jel elektroforez (PAGE), proteinlerin

¹ Bu çalışma Tübitak TOVAG 105O176 numaralı projenin bir bölümüdür.

² Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü, Yenimahalle, Ankara

³ Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

⁴ Rothamsted Research, Harpenden, İngiltere

Sorumlu Yazar (Corresponding author) e-mail: sibel_velioglu@zmmae.gov.tr

Yazının Yayın Kuruluna Geliş Tarihi (Received): 16.06.2010

ayrılmasında tercih edilen bir yöntemdir. *M. persicae*'de insektisitlere direnç ile karboksilesteraz aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon bulunmaktadır. Karboksilesterazın E4 veya FE4 adı verilen iki tipinden birinin aktivitesi bu yaprakbitindeki dirençten sorumludur. Bu çalışmada, Ankara, Antalya ve Mersin illerinde örtüaltı ve tarla sebze ekiliş alanlarından toplanan farklı *M. persicae* popülasyonlarının karboksilesteraz E4 ve FE4 tipleri iki farklı PAGE yöntemi kullanılmak suretiyle karakterize edilmiştir. Beypazarı ve Karakeşli popülasyonunun E4, diğer popülasyonların ise FE4 tipte karboksilesteraza sahip oldukları belirlenmiştir.

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

GİRİŞ

Türkiye'de örtüaltı yetiştiricilik faaliyetleri sebze yetiştiriciliğinde yoğunlaşmış olup, toplam örtü altı yetiştiriciliğinin %95'ini teşkil etmektedir (Keskin ve Çakaryıldırım 2003). Hem örtüaltı hem de açık alanda yapılan sebze yetiştiriciliğinde Yeşil şeftali yaprakbiti, *Myzus persicae* (Sulz.) (Hemiptera: Aphididae) önemli düzeyde zararlara neden olmaktadır. Polifag bir zararlı olan *M. persicae*, sokup emerek beslenmesi sonucu taze sürgünlere ve yapraklara verdiği doğrudan zararın yanında, bitki virüs hastalıklarını naklederek de bitkilere dolaylı olarak etkide bulunmaktadır. Bu türün 120'den fazla virüs hastalığının vektörü olduğu belirtilmektedir (Anonymous 2010). Kısa sürede etkisini gösterdiğinden *M. persicae* ile mücadelede yoğun olarak insektisitler kullanılmaktadır. Bu durum, Yeşil şeftali yaprakbitinin insektisitlere karşı direnç kazanmasına neden olmaktadır.

M. persicae'de direnç ile 1-naftil asetat'ı hidrolize eden esteraz enziminin aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon olduğunun belirlenmesi, direncin biyokimyasal yöntemlerle saptanmasında önemli bir aşama kaydedilmesini sağlamıştır (Needham and Sawicki 1971). 1-naftil asetat'ı hidrolize eden birçok enzimden sadece karboksilesteraz E4'ün artan aktivitesinin dirençte önemli rol oynadığını, Devonshire (1975) yaptığı elektroforez çalışması sonucunda ortaya çıkarmıştır. Daha sonra yapılan bir çalışmada ise E4'ün modifiye formu olarak nitelenen karboksilesteraz FE4 belirlenmiştir (Devonshire et al. 1983). Birbirine çok yakın E4 ve FE4 adlı iki karboksilesterazdan birinin artan üretimi, *M. persicae*'de pek çok organikfosforlu, karbamatlı ve sentetik piretroidli insektisite dirençten sorumludur (Devonshire and Moores 1982). Direncin erken dönemde belirlenmesi için yapılacak çalışmalar direnç yönetimi açısından büyük öneme sahiptir. Karboksilesteraz aktivitesinin incelenmesinde kullanılan poliakrilamid jel elektroforez (PAGE) (Devonshire 1975, 1977) direncin belirlenmesinde kullanılan hızlı ve pratik bir yöntemdir.

Bu çalışmada, ülkemizdeki örtüaltı ve tarla sebze ekiliş alanları taranarak toplanan farklı *M. persicae* popülasyonları laboratuvarında kültüre alınmış ve bu popülasyonların karboksilesteraz bant dizilişleri iki farklı PAGE yöntemi

kullanılarak incelenmiştir. Denemeler 2006–2008 yılları arasında Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü’nde yürütülmüştür.

MATERYAL VE METOT

Denemenin ana materyalini, sebze ekiliş alanlarından toplanan ve yurt dışından temin edilen *M. persicae* popülasyonları oluşturmuştur. Ayrıca, soğutmalı mini dikey elektroforez sistemi (Atto), çoklu homojenizer (Burkard Scientific), hassas terazi (Mettler Toledo), 96 kuyulu düztabanlı mikropalakalar ile değişik kimyasal malzemeler kullanılmıştır.

Myzus persicae popülasyonları ve yetiştirilmesi

Ülkemizde sebze yetiştiriciliği yapılan farklı bölgelerdeki sera ve tarlalar 2006-2008 yıllarında dolaşarak, biber, patlıcan ve turp bitkilerinden *M. persicae* popülasyonları toplanmıştır. Üzerinde *M. persicae* bireyleri bulunan yapraklar kağıt torbalara konularak, buz kutusu içerisinde Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü’ne getirilmiş ve böcek yetiştirme odalarında patlıcan ve turp bitkileri üzerinde kültüre alınmışlardır. Tüm popülasyonlar, 40x75x29 cm ölçülerindeki pleksiglas kabinler ile 4.9x8.0x2.1 cm boyutlarındaki yaprak kafes kutularında, 25 ± 2 °C sıcaklık, % 50-60 orantılı nem ve 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık koşullarda yetiştirilmiştir. Çizelge 1’de çalışmada kullanılan *M. persicae* popülasyonlarına ait bilgiler yer almaktadır. Çalışmada ayrıca Rothamsted Research (İngiltere)’ten getirtilen US1L (hassas), 4106A (hassas), 794Jz (E4) ve 926B (FE4) adlı standart *M. persicae* popülasyonları da karşılaştırma amacı ile kullanılmıştır.

Çizelge 1. 2006-2008 yıllarında toplanan *Myzus persicae* popülasyonlarına ait bilgiler

Popülasyon	İl	İlçe-mevki	Konukçu bitki
Aydıncık	Mersin	Aydıncık	patlıcan
Bağlık	Antalya	Kumluca- Bağlık	biber
Beykonak	Antalya	Kumluca- Beykonak	biber
Beypazarı	Ankara	Beypazarı- Yukarı Ulucak köyü	biber
Çavundur-1	Ankara	Çubuk- Aşağı Çavundur köyü	patlıcan
Çavundur-2	Ankara	Çubuk- Aşağı Çavundur köyü	biber
Hacıveliler-1	Antalya	Kumluca- Hacıveliler	patlıcan
Hacıveliler-2	Antalya	Kumluca- Hacıveliler	biber
Karakeşli	Mersin	Karakeşli	turp
Karşıyaka	Antalya	Kumluca- Karşıyaka	biber
Sarıcasu	Antalya	Kumluca- Sarıcasu	patlıcan

Beypazarı, Çavundur-1, Hacıveliler-1 ve Karakeşli popülasyonları tarladan, Aydıncık, Bağlık, Beykonak, Çavundur-2, Hacıveliler-2, Karşıyaka ve Sarıcasu popülasyonları ise seralardan toplanmıştır.

Poliakrilamid jel elektroforez (PAGE) çalışmaları

M. persicae popülasyonlarının karboksilesteraz bant tipini belirlemek amacıyla iki farklı elektroforez metodu kullanılmıştır.

Williams and Reisfeld (1964) metodu

Bu amaçla 10.2x11.9x0.3 cm boyutlarındaki cam plakalar kullanılarak Williams and Reisfeld (1964)'in metoduna göre denemeler yürütülmüştür. Bu plakaların üst kısmında 2 cm boşluk kalacak şekilde %7,5'luk poliakrilamid jel dökülmüş ve yaklaşık 30-60 dakika jelin polimerize olması için beklenmiştir. Daha sonra üzerinde kalan boşluğu dolduracak şekilde %2,5'luk poliakrilamid jel dökülmüş ve taraklar yerleştirilmiştir. Işık kaynağı önüne konulan jelin polimerize olması amacıyla 30-60 dakika beklenmiştir.

Polimerizasyonu takiben %10 sakkaroz, %1,6 Triton X-100 ve %0.001 bromocresol purple'dan oluşan homojenizasyon çözeltisi hazırlanmıştır. Homojenizasyon çözeltisi içerisine katılan bromocresol purple, izleme boyası olarak kullanılmıştır. Kanatsız ergin yaprakbiti bireyleri, içerisnde 25µl homojenizasyon çözeltisi bulunan mikropkaya hücrelerine tek tek aktarılmıştır. Aktarılan yaprakbitleri, mikropkaya uyumlu çoklu homojenizer (Burkard Scientific) (Ffrench-Constant and Devonshire 1987) yardımıyla homojenize edilmiş ve her bir poliakrilamid jel kuyucuğuna bu homojenatlardan 7.5 µL (yaklaşık 1/3 birey) aktarılmıştır. Aynı anda 4 jel koşturulabilen, Atto marka dikey elektroforez tankında 4 °C'de, 250 voltta 1.5 saat süreyle barbiton buffer içerisnde koşturulmuştur. 50 ml 0.2 M fosfat buffer (pH:6.0) içerisine 100 mg Fast Blue RR salt (4-benzoyllamino-2,2-dimethoxybenzene diazoniumchloride hemi [zinc chloride] salt; Sigma) konularak hazırlanan ve Whatman 1 no'lu filtre kağıdından süzölen boya çözeltisine substrat olarak 1 mL 100 mM 1-naftil asetat (CH₃CO₂C₁₀H₇) ilave edilmiştir. Plakalardan çıkarılan jel hazırlanan bu çözeltiye alınmış, oda sıcaklığında yaklaşık 15 dakika veya karboksilesteraz bantları net olarak görölünceye kadar boyama işlemi sürdürölmüştür. Boyanan jeller su ile yıkandıktan sonra, % 7'lik asetik asit içerisine alınarak fikse edilmiştir. Elde edilen bu jeller bir gün sonra fotoğraflanmıştır.

Ornstein and Davis (1964) metodu

Bu metotta yine 10.2x11.9x0.3 cm boyutlarındaki cam plakalar kullanılmıştır. Williams and Reisfeld (1964) jelinden farklı olarak %7,5'luk jelde potasyum ferrisiyanit kullanılmamaktadır. Ornstein and Davis (1964)'e göre hazırlanan %7,5 ve % 2,5'luk jeller bir önceki metotta anlatıldığı şekilde dökölerek hazırlanmıştır. Williams and Reisfeld metodundaki gibi hazırlanan ve jellere yüklenen örnekler Atto marka dikey elektroforez tankında glisin buffer kullanılmak suretiyle, 4 °C'de, 250 V'ta 1.5 saat süre ile koşturulmuştur. Jeller cam plakalar arasından çıkarıldıktan sonra boyama işlemine tabi tutulmadan önce, 0.2 M fosfat buffer (pH: 6.0) içerisnde 5-10 dakika yıkanmıştır. Her bir jel için 50 ml 0.2 M fosfat buffer (pH: 6.0) içerisine, 100 mg Fast Blue RR salt konulup iyice karıştırılmış ve

Whatman 1 no'lu filtre kağıdından süzölmüştür. Substrat olarak 1 mL 100mM 1-naftil asetat ilave edilmiştir. Boyama işlemi oda sıcaklığında genellikle 15 dakika ya da karboksilesteraz bantları net olarak görölmünceye kadar sürmüştür. Boyanan jeller su ile yıkandıktan sonra, %7'lik asetik asit içerisinde alınarak fikse edilmiştir. Jellerin bir gün sonra fotoğrafları çekilmiştir.

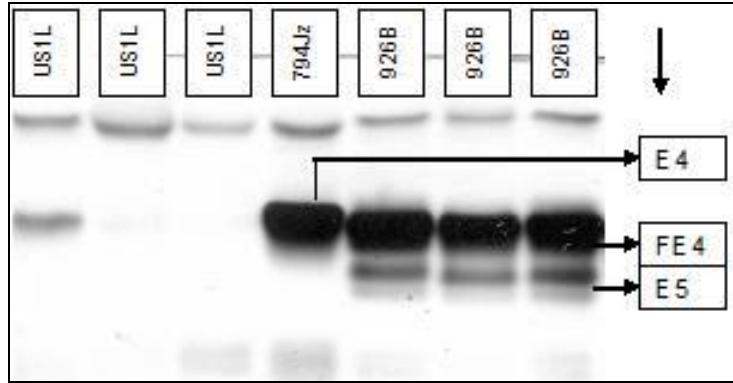
Ankara'dan toplanan popölyasyonların karboksilesteraz aktiviteleri düşük bulunduğundan bu popölyasyonların bant tipinin belirlenebilmesi amacıyla homojenizasyon aşamasında kullanılan birey miktarı arttırılmıştır. Bu amaçla Çavundur-1 popölyasyonundan 15, Çavundur-2 ve Beypazarı popölyasyonlarından 10'ar birey 25 µl homojenizasyon buffer'ı içerisinde homojenize edilmiş ve elde edilen bu homojenatın 7.5 µl (Çavundur-1 yaklaşık 5 birey, Çavundur-2 ve Beypazarı yaklaşık 3'er birey)'si jele yüklenmiştir. Geri kalan işlemler yukarıda belirtildiği şekilde yürütölmüştür.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Karboksilesteraz aktivitesinin incelenmesinde kullanılan elektroforez yöntemi ile *M. persicae* bireyelerine ait homojenatlar, poliakrilamid jelde işleme alınmakta, 1-naftil asetat substrat olarak kullanılmakta ve boyama sonucunda jelde beliren karboksilesteraz bantları incelenmektedir. Elektroforez işlemi sonucunda jelde 7 karboksilesteraz bandı oluşmaktadır. *M. persicae*'de insektisitlere direnç ile arasında ilişki olduğu belirlenen E4/FE4 adı verilen dördüncü bant dikkate alınmaktadır.

Williams and Reisfeld (1964) metoduna göre elde edilen sonuçlar

Çalışmamızda ilk olarak standart popölyasyonlar kullanılarak karboksilesteraz bant tiplerinin ayrımı için elektroforez yapılmıştır. Williams and Reisfeld (1964) jel ve barbiton buffer sistemi kullanılması sonucu elde edilen jelle ait fotoğraf Şekil 1'de görölmektedir.



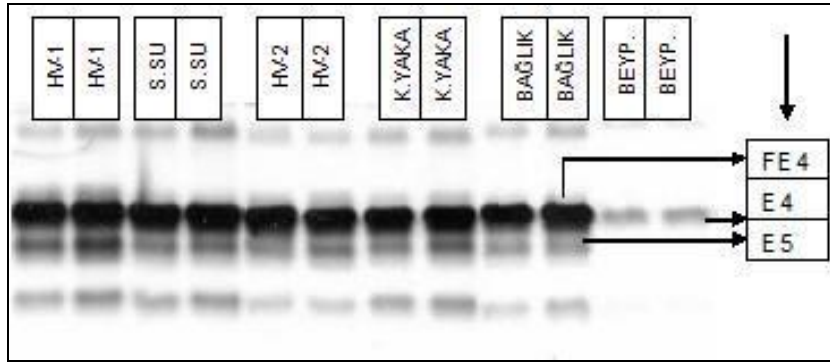
Şekil 1. Williams and Reisfeld (1964) metoduna göre standart *Myzus persicae* popölyasyonlarının karboksilesteraz tipinin belirlendiği elektroforez bant dizilişleri.

Buna göre, E4 tipinde karboksilesteraza sahip olan 794Jz'ye ait bantın daha yavaş ilerlediği, dolayısıyla daha önce bant oluşturduğu görülmektedir. FE4 tipinde karboksilesteraza sahip olan 926B bireylerinde ise bant daha hızlı ilerlemiş ve E4'e göre daha ileride bant oluşturmuştur. Bunun yanı sıra FE4 tipinde karboksilesteraza sahip olan bireylerde ayrıca E5 olarak adlandırılan bir bant daha bulunmaktadır (Devonshire 1989a). E5 bandı FE4 tipinde karboksilesteraza sahip olan 926B bireylerinde de görülmektedir (Şekil 1).

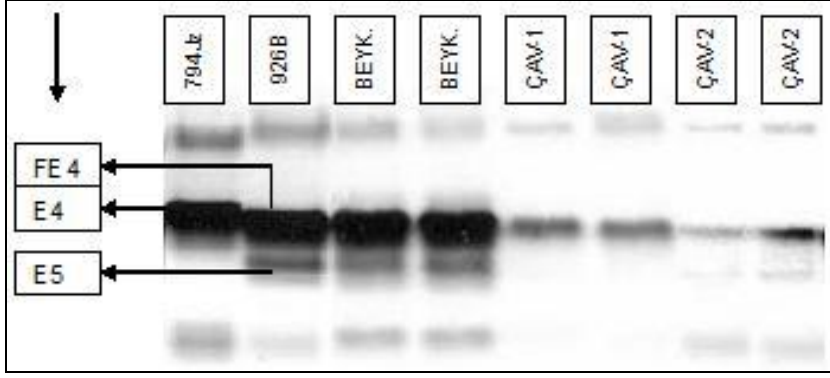
Şekil 1'de yer alan ilk üç birey standart hassas US1L popülasyonuna ait olduğundan, bu bireylerin enzim aktivitesi de çok düşüktür. Bu nedenle oldukça belirsiz karboksilesteraz bandı oluşmuştur. Buna karşın diğer bireylerin yüksek düzeyde karboksilesteraz aktivitesine sahip olmaları nedeniyle oldukça koyu ve kalın bant verdikleri görülmektedir.

Standart *M. persicae* popülasyonlarında karboksilesteraz tiplerinin belirlenmesini takiben, ülkemizden toplanan popülasyonlar üzerinde Williams and Reisfeld (1964) metoduna göre çalışmalara devam edilmiştir. Bu popülasyonlarda karboksilesteraz tipinin belirlenmesi amacıyla yürütülen jellere ait fotoğraflar Şekil 2 ve 3'te yer almaktadır.

Şekil 2 ve 3 incelendiğinde, Bağlık, Beykonak, Hacıveliler-1, Hacıveliler-2, Karşıyaka ve Sarıcasu popülasyonlarının, FE4 tipinde karboksilesteraza sahip olan standart 926B popülasyonu ile benzer bant dizilişine sahip oldukları anlaşılmaktadır. Dolayısıyla, bu popülasyonlar FE4 tipinde karboksilesteraza sahiptirler. Ayrıca FE4 tipinde karboksilesteraza sahip olan bireylerde bulunan E5 bandını da içermektedirler. Ancak, Ankara ilinden toplanan Çavundur-1, Çavundur-2 ve Beypazarı popülasyonlarına ait bireylerin jelde oldukça ince ve açık renkli bant vermeleri nedeniyle, Şekil 2 ve 3'te hangi tipte karboksilesteraza sahip oldukları belirlenememiştir.



Şekil 2. Hacıveliler-1, Sarıcasu, Hacıveliler-2, Karşıyaka, Bağlık ve Beypazarı'ndan toplanan *Myzus persicae* popülasyonlarının Williams and Reisfeld (1964) metoduna göre belirlenen karboksilesteraz tipleri.



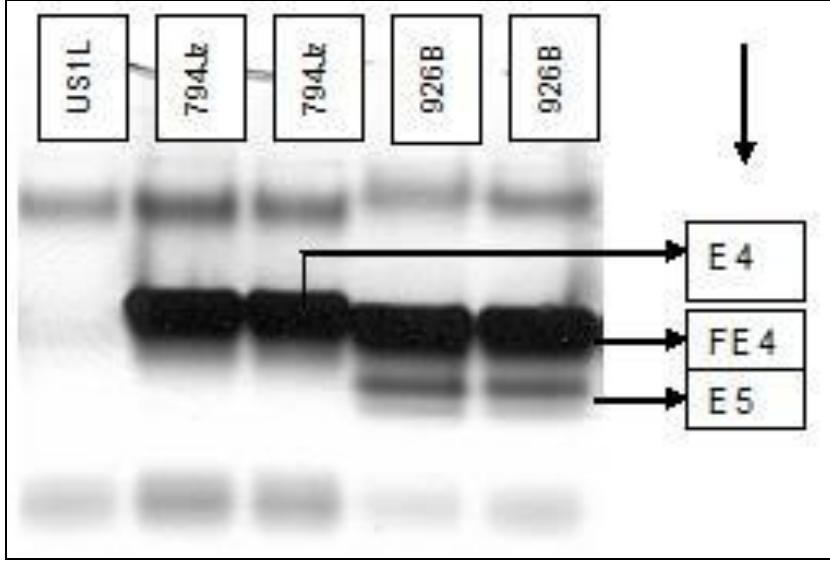
Şekil 3. Beykonak, Çavundur-1, Çavundur-2 ve standart *Myzus persicae* popülasyonlarının Williams and Reisfeld (1964) metoduna göre belirlenen karboksilesteraz tipleri.

Ornstein and Davis (1964) metoduna göre elde edilen sonuçlar

M. persicae popülasyonlarının karboksilesteraz tiplerinin belirlenmesi amacıyla Ornstein and Davis (1964)'e göre yürütülen denemelere, sonradan toplanmış olan Aydıncık ve Karakeşli popülasyonları da dahil edilmiştir.

Ornstein and Davis (1964)'e göre hazırlanan jel ve glisin buffer kullanılarak yürütülen deneme sonucu elde edilen standart popülasyonlara ait fotoğraf Şekil 4'te verilmektedir. Şekil 4 incelendiğinde karboksilesteraz tiplerine ait farkın bu jel sisteminde de belirlendiği görülmektedir. E4 tipinde karboksilesteraza sahip olan 794Jz bireyine ait bant yavaş ilerlerken, FE4 tipindeki 926B'nin bandı biraz daha hızlı ilerlemiştir. Şekil 4'te ayrıca FE4 bandına sahip olan bireylerin ekstra E5 bandı verdiği de görülmektedir. Yine ilk sırada yer alan hassas US1L popülasyonuna ait bireyin enzim aktivitesi oldukça düşük bulunduğundan, çok ince ve belirgin olmayan bir bant verdiği Şekil 4'te görülmektedir. Standart popülasyonlarla yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar daha önce yürütülen Williams and Reisfeld (1964) metodundan elde edilen sonuçlarla uyum içerisindedir.

Standart *M. persicae* popülasyonlarında Ornstein and Davis (1964) metoduna göre karboksilesteraz tiplerinin belirlenmesini takiben, Ankara, Antalya ve Mersin illerinden toplanan popülasyonlar üzerinde çalışmalara devam edilmiştir. Bu popülasyonlarda karboksilesteraz tipinin belirlenmesi amacıyla yürütülen jellere ait fotoğraflar Şekil 5 ve 6'da yer almaktadır.

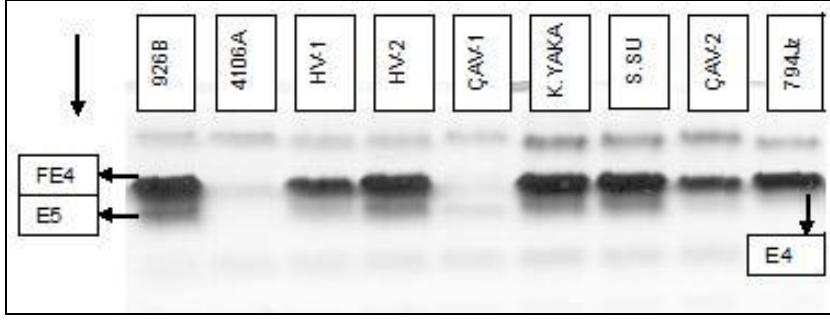


Şekil 4. Ornstein and Davis (1964) metoduna göre standart *Myzus persicae* popülasyonlarında karboksilesteraz tipinin belirlendiği elektroforez bant dizilişleri.



Şekil 5. Bağlık, Beykonak, Beypazarı, Karakeşli, Aydıncık ve standart *Myzus persicae* popülasyonlarının Ornstein and Davis (1964) metoduna göre belirlenen karboksilesteraz tipleri.

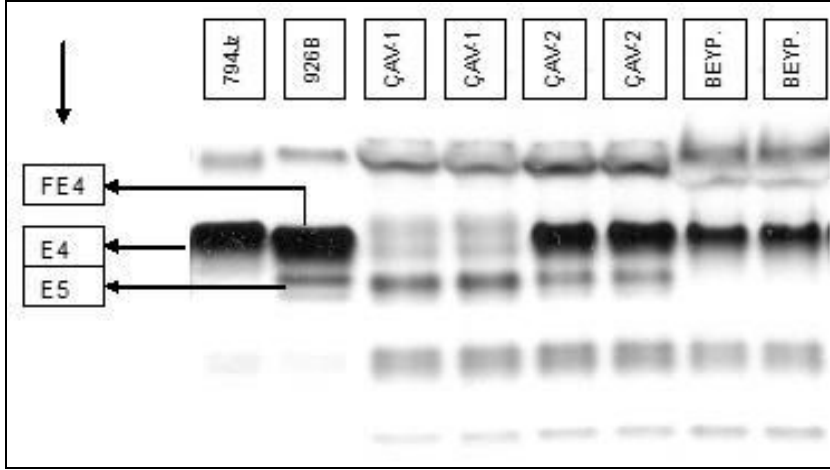
Şekil 5 ve 6'da görüldüğü üzere, Aydıncık, Bağlık, Beykonak, Hacıveliler-1, Hacıveliler-2, Karşıyaka ve Sarıcasu popülasyonlarının standart 926B popülasyonu ile benzer bant dizilişine sahip oldukları anlaşılmaktadır. Dolayısıyla, FE4 tipinde karboksilesteraza sahiptirler. Bu popülasyonlar FE4 tipinde karboksilesteraza sahip Şekil 5 ve 6'da görüldüğü üzere, Aydıncık, Bağlık, Beykonak, Hacıveliler-1, Hacıveliler-2, Karşıyaka ve Sarıcasu popülasyonlarının standart 926B popülasyonu ile benzer bant dizilişine sahip oldukları anlaşılmaktadır. Dolayısıyla, FE4 tipinde



Şekil 6. Hacıveliler-1, Hacıveliler-2, Çavundur-1, Karşıyaka, Sarıcasu, Çavundur-2 ve standart *Myzus persicae* popülasyonlarının Ornstein and Davis (1964) metoduna göre belirlenen karboksilesteraz tipleri.

karboksilesteraza sahiptirler. Bu popülasyonlar FE4 tipinde karboksilesteraza sahip olan bireylerde bulunan E5 bandını da içermektedirler. Karakeşli popülasyonu ise standart 794Jz popülasyonu ile benzer bant dizilişine sahip bulunmuştur. Dolayısıyla Karakeşli popülasyonu E4 tipinde karboksilesteraza sahiptir. Ancak, Williams and Reisfeld (1964) metodunda olduğu gibi yine Ankara ilinden toplanan Çavundur-1, Çavundur-2 ve Beypazarı popülasyonlarına ait bireylerin jelde oldukça ince ve açık renkli bant vermeleri nedeniyle, hangi tipte karboksilesteraza sahip oldukları belirlenememiştir.

Bu nedenle Ankara'dan toplanan popülasyonların bant tipinin belirlenebilmesi amacıyla elektroforez çalışmalarına devam edilmiş ve yükleme yapılırken birey miktarı artırılmıştır. Bu amaçla bantın daha koyu çıkabilmesi için Çavundur-1 popülasyonundan yaklaşık 5 birey, Çavundur-2 ve Beypazarı popülasyonlarından ise yaklaşık 3'er bireye denk gelen homojenat jele yüklenmiştir. Karşılaştırma amacıyla kullanılan standart popülasyonlardan 794Jz ve 926B popülasyonları da yine yaklaşık 1/3 birey içerecek şekilde jele yüklenmiş ve tüm popülasyonların sonuçları birlikte değerlendirilmiştir. Elde edilen jele ait fotoğraf Şekil 7'de verilmektedir. Şekil 7'de görüldüğü gibi 794Jz, daha önce yürütülen jellerde de belirlendiği gibi E4 tipinde karboksilesteraza sahiptir. 926B popülasyonu ise E4'e göre daha hızlı ilerleyen FE4 tipinde karboksilesteraza sahip bireylerden oluşmaktadır. Bu popülasyonun FE4 tipindeki bireylerin hepsinde bulunan, E5 bandını içerdiği de görülmektedir. Çavundur-1 ve Çavundur-2 popülasyonlarının E5 bandını içerdikleri ve bu nedenle FE4 tipinde karboksilesteraza sahip oldukları anlaşılmaktadır (Şekil 7). Beypazarı popülasyonunun ise E5 bandını içermemesi nedeniyle E4 tipinde karboksilesteraza sahip olduğu belirlenmiştir.



Şekil 7. Ornstein and Davis (1964) poliakrilamid jel elektroforez metoduna göre Çavundur-1, Çavundur-2, Beypazarı ve standart *Myzus persicae* popülasyonlarına ait karboksilesteraz bant dizilişleri.

M. persicae popülasyonlarının elektroforez ile incelenmeleri sırasında dirençten, birbirine çok yakın iki karboksilesterazdan birinin sorumlu olduğu belirlenmiştir. Bu açıklamaya göre karboksilesterazın, E4 ve FE4 adı verilen iki tipinden birinin aktivitesi, yaprakbitindeki dirençle ilişkilidir (Devonshire et al. 1983). Fazla miktarda üretilen bu karboksilesterazların tipi, yaprakbitinin karyotipine bağlı olarak değişmektedir. Normal karyotipte olanlar genellikle FE4'e sahipken, A1,3 translokasyonuna (otozom 1 ve 3 arasında kromozomal translokasyona) sahip olanlar daha çok E4 tipinde karboksilesteraza sahiptirler (Ffrench-Constant et al. 1988; Devonshire 1989b, 1991). Dolayısıyla bu iki karboksilesteraz tipi aynı böcekte birlikte bulunmamaktadır. Bunların molekül kütleleri ve katalitik aktiviteleri çok az da olsa birbirlerinden farklılık göstermektedir. FE4 yaklaşık 66, E4 ise yaklaşık 65 kDa molekül külesine sahiptir (Field et al. 1993). E4, denature edilmemiş elektroforez jelinde FE4'den biraz daha yavaş hareket etmesi ile belli olmaktadır (Devonshire 1989a).

İlk kez İtalya'dan toplanan Ferrara ırkında tespit edilen FE4 tipindeki karboksilesteraza (Devonshire et al. 1983), daha sonraları Akdeniz ülkelerinden toplanan birçok yaprakbiti popülasyonunda da rastlanmıştır (Devonshire and Field 1991, Field and Devonshire 1992).

Velioğlu ve ark. (2008) tarafından yürütülen PAGE çalışmaları ile İçel ilindeki sebze seralarından toplanan dört farklı *M. persicae* popülasyonunun FE4 tipinde karboksilesteraza sahip oldukları belirlenmiştir.

Yürütülen bu çalışma ile, özellikle farklı illerden toplanan *M. persicae* popülasyonlarının karboksilesteraz tipleri iki farklı elektroforez metodu kullanılmak suretiyle incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, E4 ve FE4 tipinde karboksilesteraza sahip olan standart *M. persicae* popülasyonlarının ayrımı her iki

metot ile ortaya konulmuştur. Yine Ankara, Antalya ve Mersin illerinden toplanan farklı popülasyonların karboksilesteraz tipleri de belirlenmiştir. Buna göre Ankara ili Beypazarı ilçesi ve Mersin ili Karakeşli ilçelerinden toplanan popülasyonların E4, diğer popülasyonların ise FE4 tipte karboksilesteraza sahip oldukları belirlenmiştir. Sonuçlar birbirleriyle uyum halinde olup, enzim aktivitelerine göre jeldeki bant kalınlıkları da değişmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Anonymous 2010. http://www.rothamsted.ac.uk/insect-survey/STMyzus_persicae.php (Erişim tarihi: 16.06.2010).
- Devonshire A. L. 1975. Studies of the carboxylesterases of *Myzus persicae* resistant and susceptible to organophosphorus insecticides. Proceedings 8th British Insecticide and Fungicide Conference, U.K., 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 Moores G. D. 1982. A carboxylesterase with broad substrate specificity causes organophosphorus, carbamate and pyrethroid resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae*). Pesticide Biochemistry and Physiology, 18, 235-246.
- Devonshire A. L., Moores G. D. and Chiang C. L. 1983. The biochemistry of insecticide resistance in the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. In: Miyamoto J., Kearney P. C., Matsunaka D. H. and Murphy S. D. (eds). Pesticide Chemistry: Human Welfare and the Environment, Proceedings of the 5th International Congress of Pesticide Chemistry, pp. 191-196. Pergamon, Oxford.
- Devonshire A. L. 1989a. The role of electrophoresis in the biochemical detection of insecticide resistance. In: Loxdale H. D. and Hollander J. D. (eds). Vol: 39, pp. 363-374. Clarendon Press, Oxford.
- Devonshire A. L. 1989b. Insecticide resistance in *Myzus persicae* : from field to gene and back again. Pestic. Sci. 26, 375-382.
- Devonshire A. L. 1991. Role of esterases in resistance of insects to insecticides. Biochemical Society Transactions, 19 (3), 755-759.
- Devonshire A. L. and Field L. M. 1991. Gene amplification and insecticide resistance. Annu. Rev. Entomol., 36, 1-23.
- Ffrench-Constant R. H. and Devonshire A. L. 1987. A multiple homogenizer for rapid sample preparation in immunoassays and electrophoresis. Biochem. Genet., 25, 493-499.

- Ffrench-Constant R. H., Devonshire A. L. and White R. P. 1988. Spontaneous loss and reselection of resistance in extremely resistant *Myzus persicae* (Sulzer). Pestic. Biochem. Physiol., 30, 1-10.
- Field L. M. and Devonshire A. L. 1992. Esterase genes conferring insecticide resistance in aphids. In: Mullin C. A. and Scott J. G. (eds). Molecular Mechanisms of Insecticide Resistance, pp. 209-217. ACS Symposium Series, Vol. 505, USA.
- Field L. M., Williamson M. S., Moores G. D. and Devonshire A. L. 1993. Cloning and analysis of the esterase genes conferring insecticide resistance in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). Biochem. J., 294, 569-574.
- Keskin G. ve Çakaryıldırım N. 2003. Örtüaltı sebze yetiştiriciliği. Tarımsal Ekonomik Araştırma Enstitüsü-Bakış, 1, 1-4.
- Needham P. H. and Sawicki R. M. 1971. Diagnosis of resistance to organophosphorus insecticides in *Myzus persicae* (Sulz.). Nature, 230, 125-126.
- Ornstein L. and Davis B. J. 1964. Disc electrophoresis I. Background and theory. Ann. NY. Acad. Sci., 121, 321-349.
- Velioğlu A.S., Moores G.D., Devonshire A.L. ve Toros S. 2008. İçel'den toplanan *Myzus persicae* (Sulz.) (Hemiptera: Aphididae) popülasyonlarında insektisitlere direnç mekanizmalarının biyokimyasal yöntemlerle belirlenmesi. Bitki Koruma Bülteni, 48 (3), 15-31.
- 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.