

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

**PAMUK BEYAZSİNEĞİ *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae)’NİN
B VE Q BİYOTİPLERİNİN FARKLI İNSEKTİSİTLERE DİRENÇ
GELİŞTİRME POTANSİYELLERİ VE ENZİM AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ**

Utku YÜKSELBABA

**DOKTORA TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

2015

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

**PAMUK BEYAZSİNEĞİ *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae)'NİN
B VE Q BİYOTİPLERİNİN FARKLI İNSEKTİSİTLERE DİRENÇ
GELİŞTİRME POTANSİYELLERİ VE ENZİM AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ**

Utku YÜKSELBABA

**DOKTORA TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**Bu Tez Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Tarafından
2010.03.0121.019 no`lu Projeye Desteklenmiştir**

2015

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PAMUK BEYAZSİNEĞİ *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera:Aleyrodidae)'NİN
B VE Q BİYOTİPLERİNİN FARKLI İNSEKTİSİTLERE DİRENÇ
GELİŞTİRME POTANSİYELLERİ VE ENZİM AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ**

Utku YÜKSELBABA

**DOKTORA TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİMDALI**

Bu tez 13/03/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oyların/Özellikle ile kabul edilmiştir.

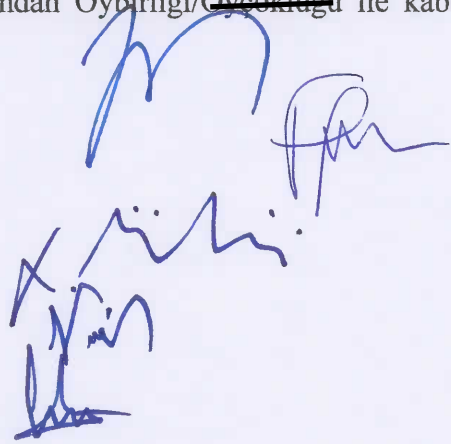
Prof. Dr. Hüseyin GÖÇMEN

Prof. Dr. Fehmi GÜREL

Prof. Dr. Levent ÜNLÜ

Yrd. Doç. Dr Fatih DAĞLI

Yrd. Doç. Dr Cengiz İKTEN



ÖZET

PAMUK BEYAZSİNEĞİ *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae)’NİN B VE Q BİYOTİPLERİNİN FARKLI İNSEKTİSİTLERE DİRENÇ GELİŞTİRME POTANSİYELLERİ VE ENZİM AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Utku YÜKSELBABA

**Danışman: Prof. Dr. Hüseyin GÖÇMEN
Doktora Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı
Ocak 2015, 77 Sayfa**

Çalışmada tropik ve subtropik bölgelerde geniş yayılım gösteren, birçok sebze ve süs bitkileri üzerinde önemli zarara neden olan, polifag zararlı pamuk beyazsineği *Bemisia tabaci* (Genn.)’nin B ve Q biyotiplerinin insektisitlere direnç geliştirme potansiyelleri ve enzim aktiviteleri belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılan beyazsinek popülasyonlarının biyotipleri mitokondriyal sitokrom oksidaz I gen (mtCOI) bölgesinin sekansına göre belirlenmiştir.

B ve Q biyotiplerinin lethal konsantrasyon (LC₅₀) değerlerinin belirlenmesi için cypermethrin ergin dönemine, spiromesifen 1.nimf dönemine, imidacloprid ergin dönemine ve pyriproxyfen beyazsinek yumurtalarına yaprak daldırma metoduyla farklı dozlarda, uygulanarak belirlenmiştir. Biyotipler; aynı metodla herbir insektisit ile ayrı ayrı seleksiyona da tabi tutulmuştur. Cypermethrin ile beş seleksiyon sonunda Q biyotipi 213 kat, B biyotipi 1.35 kat direnç geliştirmiştir. Spiromesifen ile sekiz seleksiyon sonunda Q biyotipi 2 kat, B biyotipi 3. 5 kat direnç geliştirmiştir. Pyriproxyfen ile yedi seleksiyon sonunda Q biyotipi 15.3 kat, B biyotipi 4 kat direnç geliştirmiştir. Imidacloprid ile seleksiyon sonunda B ve Q biyotiplerinde direnç gelişimi gözlemlenmemiştir.

Seleksiyon biyoassayları sonunda biyotiplerin estera (EST) aktivitesi, glutathion S-Transferaz (GST), sitokrom P450 Monooksijenaz (P450) ve asetilkolinesteraz (AChE) aktivitelerindeki değişimler de belirlenmiştir.

EST aktivitesi cypermethrin seleksiyonu sonunda Q biyotipinde 128 kat, B biyotipinde 1.35 kat; spiromesifen seleksiyonu sonunda Q biyotipinde 21.5 kat, B biyotipinde 1.61 kat; pyriproxyfen seleksiyonu sonunda Q biyotipinde 22 kat, B biyotipinde 1.60 katlık artış gözlemlenmiştir. EST aktivitelerindeki artışlar Q biyotipinde istatistik olarak önemli olurken B biyotipinde istatistik olarak önemsiz bulunmuştur. Imidacloprid seleksiyonu sonunda B ve Q biyotiplerinin EST aktivitelerinde değişim olmamıştır.

AChE aktivitesi cypermethrin seleksiyonu sonunda Q biyotipinde 1.69 kat, B biyotipinde 1.71 kat; spiromesifen seleksiyonu sonunda Q biyotipinde 2.26 kat, B biyotipinde 2.50 kat; pyriproxyfen seleksiyonu sonunda Q biyotipinde 1.92 kat, B biyotipinde 1.83 katlık artış gözlemlenmiştir. AChE aktivitelerindeki artışlar Q ve B

biyotiplerinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Imidacloprid seleksiyonu sonunda B ve Q biyotiplerinin AChE aktivitelerinde değişim olmamıştır.

P450 aktivitesi cypermethrin seleksiyonu sonunda Q biyotipinde 1.91 kat, B biyotipinde 1.28 kat; spiromesifen seleksiyonu sonunda Q biyotipinde 1.77 kat, B biyotipinde 1.08 kat; pyriproxyfen seleksiyonu sonunda Q biyotipinde 1.72 kat, B biyotipinde 1.33 katlık artış gözlemlenmiştir. P450 aktivitelerindeki artışlar Q biyotipinde istatistiki olarak önemli olurken B biyotipinde pyriproxyfen hariç istatistiki olarak önemsiz olmuştur. Imidacloprid seleksiyonu sonunda B ve Q biyotiplerinin P450 aktivitelerinde değişim olmamıştır.

GST aktivitesinde ise tüm seleksiyonlarda negatif yönde değişim tespit edilmiştir.

Sonuç olarak B biyotipinin direnç geliştirme kabiliyetinin kısıtlı olduğu, Q biyotipinin özellikle cypermethrin ve pyriproxyfen'e B biyotipine göre kısa sürede daha fazla direnç geliştirebilme kabiliyetinde olduğu görülmüştür. Cypermethrin, pyriproxyfen ve spiromesifen ile seleksiyonlar sonunda Q biyotipindeki en fazla artış EST aktivitesinde görülürken, B biyotipindeki EST aktivite değerleri yüksek olarak gözlemlenmiştir ancak aktivitedeki artış sahip olduğu direnç yüzünden kısıtlı kalmıştır. Cypermethrin, pyriproxyfen ve spiromesifen direncinde EST aktivitesinin ana direnç mekanizması olduğunu, AChE ve P450 aktivitelerinin verilere göre düşük oranda direnç mekanizmasında etkili olduğu, Q biyotipindeki direnç kabiliyetinin sahip olduğu yüksek EST aktivitesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

ANAHTAR KELİMELEER: Cypermethrin, imidacloprid, pyriproxyfen, spiromesifen, insektisit direnci, *Bemisa tabaci*, biyotip, Esteraz, Glutathion S-Transferaz, sitokrom P450 Monooksigenaz, Asetilkolinesteraz

JÜRİ : Prof. Dr. Hüseyin GÖÇMEN (Danışman)

Prof. Dr. Fehmi GÜREL

Prof. Dr. Levent ÜNLÜ

Yrd. Doç. Dr. Fatih DAĞLI

Yrd. Doç. Dr. Cengiz İKTEN

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE RESISTANCE DEVELOPING POTENTIAL TO DIFFERENT INSECTICIDES AND THE ENZYM ACTIVITIES OF THE BIOTYPES B AND Q OF COTTON WHITEFLY *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera:Aleyrodidae)

PhD Thesis in Plant Protection
Supervisor: Prof. Dr. Hüseyin GÖÇMEN
January 2015, 77 pages

Cotton whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.) is an polyfagous pest that is widely distributed in tropical and subtropical regions. In this study, we determined resistance developing potential to insecticides and enzyme activities of the biotypes B and Q of *B. tabaci*.

We identified the biotypes of *B. tabaci* populations by sequence analysis of Mitochondrial cytochrome oxidase I (mtCOI) region.

After determination of biotypes, leaf dip bioassays were used to calculate initial lethal concentration (LC₅₀) values of the biotypes. Cypermethrine and imidacloprid were applied to adult stage, spiromesifen to first nymph stage, and pyriproxyfen to eggs of whitefly in different concentrations to calculate LC₅₀ values. Selection biyoassays were done as described above. After five times selection with cypermethrine, the resistance to cypermethrine was increased by 213 fold in Q biotype, 1.35 fold in B biotype. After selection with spiromesifen eight times, the resistance to spiromesifen resulted in 2 fold increase in Q biotype, 3.5 fold in B biotype. After selection with pyriproxyfen seven times, the resistance to pyriproxyfen was increased by 15.3 fold in Q biotype, 4 fold in B biotype. After selection with imidacloprid, the resistance development on biotype B and Q has not been noticed.

At the end of the selection bioassays, change in the activities of Esterases, Glutathione S-Transferases (GST), Cytochrome P450 Monooxygenases (P450) and Acetylcholinesterases (AChE) of biotypes were determined.

Esterase activities with cypermethrin selection was increased by 128 fold in Q biotype, 1.35 fold in B biotype; spiromesifen selection by 2.15 fold in Q biotype, 1.61fold in B biotype; pyriproxyfen selection by 22 fold in Q biotype, 1.60 fold in B biotype. The changes in esterase activities were statistically significant in Q biotype but not in B biotype. After selection with imidacloprid, there were no significant difference in EST activities of both B and Q Biotypes.

AChE activities with cypermethrin selection was increased by 1.69 fold in Q biotype, 1.71 fold in B biotype; spiromesifen selection by 2.26 fold in Q biotype, 2.50 fold in B biotype; pyriproxyfen selection by 1.92 fold in Q biotype, 1.83 fold in B biotype. The changes in AChE activities were statistically significant in both Q and B biotypes. After selection with imidacloprid, there were no significant difference in AChE activities of both B and Q Biotypes.

P450 activities with cypermethrin selection was increased by 1.91 fold in Q biotype, 1.28 fold in B biotype; spiromesifen selection 1.77 fold in Q biotype, 1.08 fold in B biotype; pyriproxyfen 1.72 fold in Q biotype, 1.33 fold in B biotype. The changes in P450 activities were statistically different in Q biotype but no statistically difference in B biotype expect pyriproxyfen selection. After selection with imidacloprid, there were no significant difference in P450 activities of both B and Q Biotypes.

The changes in GST activities resulted in decrease in all insecticides selections.

In conclusion, the resistance developing potential of B biotype is limited. Biotype Q has ability to develop more resistance to cypermethrine and pyriproxyfen in a short period of time compared with biotype B. After selections of biotype Q with cypermethrine, pyriproxyfen and spiromesifen, the results showed that there was higher increase in EST activities. The EST activity value of biotype B was found to be high but increase in the activity was limited as a result of its resistance. According to our results Esterase activity is the main resistance mechanism of cypermethrin, spiromesifen and pyriproxyfen resistance, AChE and P450 activities has a limited role in the resistance mechanism, the resistance capability of biotype Q was as a result of its high Esterase activity.

KEYWORDS: Cypermethrine, imidacloprid, pyriproxyfen, spiromesifen insecticide resistance, *Bemisa tabaci*, biotype, Esterase, Glutathione S-Transferase, cytochrome P450 Monooxygenase, Acetylcholinesterase

COMMITTEE: Prof. Dr. Hüseyin GÖÇMEN (Supervisor)

Prof. Dr. Fehmi GÜREL

Prof. Dr. Levent ÜNLÜ

Asst. Prof. Dr. Fatih DAĞLI

Asst. Prof. Dr. Cengiz İKTEN

ÖNSÖZ

Pamuk beyazsineği *Bemisia tabaci* (Genn.) tropikal ve subtropikal bölgelerde geniş yayılım gösteren polifag bir zararlıdır. Birçok biyotipinin tanımlanmış olması ile türler kompleksi olarak kabul edilmektedir. B ve Q en yaygın iki biyotiptir. Biyotipler morfolojik olarak benzerdirler fakat yaşam döngüleri, biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri bakımından farklıdır. Biyotip ayrımında daha sağlıklı sonuç vermesi nedeni ile moleküler yöntemler ön plana çıkmaktadır. *B. tabaci* türler kompleksi olarak bilinmesinin yanında insektisitlere karşı hızlı direnç geliştirme potansiyeline sahiptir. Farklı insektisitlere karşı direnç geliştirmesinde farklı enzim aktivitelerinin rol oynadığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.

Yapılan çalışmada ülkemizde ve dünyada önemli zarara neden olan, direnç problemi nedeni ile mücadelesinde zorluklarla karşılaşılan *B. tabaci* B ve Q biyotiplerinin insektisitlere direnç geliştirme potansiyelleri ve enzim aktiviteleri belirlenmiştir.

Çalışma konusunun belirlenmesinde, araştırmanın yürütülmesi ve değerlendirilmesine kadar her aşamada, güvenini ve tam desteğini hissettiğim değerli hocam ve danışmanım sayın Prof. Dr. Hüseyin GÖÇMEN'e, çalışma esnasında yakın desteklerini aldığım hocalarım, Sayın Yrd. Doç. Dr. Fatih DAĞLI ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Cengiz İKTEN'e, aynı zamanda Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkürlerimi sunarım. Gösterdikleri fedakârlıktan ve desteklerden dolayı ailem Necla & Ali İhsan YÜKSELBABA'ya, tez yazım aşamasında manevi desteğinden ve yardımlarından dolayı eşim Cansu YÜKSELBABA'ya, teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMASI	4
2.1. <i>Bemisia tabaci</i>	4
2.1.2. Biyoloji.....	4
2.1.5. Konukçuları.....	5
2.1.6. Ekonomik zararı	5
2.2. <i>Bemisia tabaci</i> Biyotip Çalışmaları.....	5
2.3. <i>Bemisia tabaci</i> İnsektisit Direnci	12
2.3.1. Piretroid insektisitler	12
2.3.2. Neonikotinoid insektisitler	16
2.3.3. Böcek gelişim düzenleyici (IGR)	19
2.3.4. Spiromesifen.....	22
2.3.5. Direnç düzeyi belirleme çalışmaları.....	24
3. MATERYAL ve METOT	27
3.1. Beyazsinek Popülasyonları.....	27
3.2. Biyotiplerin Belirlenmesi	27
3.2.1. PCR Reaksiyonları	27
3.3 İnsektisit Biyoassayleri.....	30
3.4. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	33
3.4.1. Enzim kaynağının hazırlanması	33
3.4.2. Protein miktarının belirlenmesi	33
3.4.3. Esteraz aktivitesinin belirlenmesi.....	34
3.4.4. Asetilkolinesteraz aktivitesinin belirlenmesi	34
3.4.5. Glutathion S-Transferaz enzim aktivitesinin ölçülmesi	34
3.4.6 Sitokrom P450 monooksijenaz enzim aktivitesinin ölçülmesi	34
3.4.7 Verilerin istatistiksel analizi.....	35

4. BULGULAR.....	36
4.1. Biyotiplerin Belirlenmesi	36
4.2. İnsektisit biyoassayleri	38
4.2.1. Cypermethrin insektisit biyoassayleri	38
4.2.2. Imidacloprid insektisit biyoassayleri.....	39
4.2.3 Pyriproxyfen insektisit biyoassayleri	40
4.2.4. Spiromesifen insektisit biyoassayleri	41
4.3 Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	42
4.3.1 Protein miktarlarının belirlenmesi.....	42
4.3.2 Esteraz enzim aktivitelerinin Belirlenmesi	43
4.3.3. Asetilkolinesteraz aktivitesinin belirlenmesi	48
4.3.4. Gulathion S-Transferaz enzim aktivitesinin ölçülmesi	51
4.3.5 Sitokrom P450 monooksigenaz enzim aktivitesinin ölçülmesi.....	54
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ	62
7. KAYNAKLAR	64
8. EKLER.....	74
EK:1	74
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

°C	Santigrat Derece
°	Derece
`	Dakika
``	saniye
g	Gram
Lt	litre
ml	Mililitre
mg	Miligram
M	Molar
mM	Milimolar
nmole	Nanomol
µl	Mikrolitre
Ph	Hidrojen potansiyeli
%	Yüzde
>	Küçüktür
mm	Milimetre
H ₂ O	Su

Kısaltmalar

AChE	Asetilkolinesteraz
AD	Absorbans Değeri
A:K	Aydınlık: Karanlık
ATChI	Acetylthiocholine iodide
bp	Bazıçifti
BSA	Bovine Serum Albumin
CDNB	1-chloro-2,4-dinitrobenzene
D	Doğru
dk	Dakika
DK	Direnç Katı
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	Deoksi Nükleotit Trifosfat
DTNB	5,5-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid
e.m.	Etkili Madde
EST	Esteraz
Fosfat buffer	Sodyum fosfat buffer
GSH	reduced glutathione
GST	Glutathione S Transferaz
K	Kuzey
LC ₅₀	lethal konsantrasyon 50
NaPHO ₄	Sodyum fosfat buffer
UPGMA	Aritmetik Ortalama ile Ağırlıklandırılmamış ikili Grup Metodu
MgCl ₂	Magnezyum klorür
mtCOI	Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz 1

PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PNOD	P-nitroanisol ile P450 monoksijenaz aktivitesi
P450	Sitokrom P450 Monooksijenaz
Rpm	Dakikadaki devir sayısı (Rotation per minute)
<i>Sn</i>	<i>Saniye</i>
TAE	Tris asetik asit EDTA
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
Vd	Ve diğeri
α -NA	1- Naftil asetat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Voltage gated sodium kanalı.....	13
Şekil 2.2. Voltage Gated sodium kanaldaki direnç mutasyon bölgeleri	14
Şekil 2.3. Neonikotinoidlerin hedefi Ligand gated iyon kanalı	17
Şekil 3.1. Cypermethrin ve imidacloprid etken maddeleri için test alanı	31
Şekil 3.2. Clip-cage kafes ve yumurta bırakan ergin beyazsinekler	32
Şekil 4.1. Serik popülasyonuna ait PCR ürünleri.....	36
Şekil 4.2. Antalya (B biyotipi) ve Koçarlı (Q biyotipi) popülasyonlarının UPGMA filogenetik analizi.....	37
Şekil 4.3. Antalya popülasyonlarının biyotip dağılımı.....	37
Şekil 4.4. Protein standart eğrisi	42
Şekil 4.5. Protein miktarı belirlenirken bradford solusyonu ile reaksiyon	43
sonucu oluşan mavi renk	43
Şekil 4.6. Esteraz aktivitesi için 1-Naphtol standart eğrisi	43
Şekil 4.7. Esteraz Aktivitesi sonucunda oluşan renk değişimi	44
Şekil 4.8. <i>Bemisia tabaci</i> Q ve B biyotipi cypermethrin ile seleksiyonundaki esteraz enzim aktivitesi değişimi	45
Şekil 4.9. <i>Bemisia tabaci</i> Q ve B biyotipi spiromesifen ile seleksiyonundaki esteraz enzim aktivitesi değişimi	46
Şekil 4.10. <i>Bemisia tabaci</i> Q ve B biyotipi pyriproxyfen ile seleksiyonundaki esteraz enzim aktivitesi değişimi.....	47
Şekil 4.11. <i>Bemisia tabaci</i> Q ve B biyotipi cypermethrin ile seleksiyonundaki Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi değişimi.....	48
Şekil 4.12. <i>Bemisia tabaci</i> Q ve B biyotipi spiromesifen ile seleksiyonundaki Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi değişimi	49
Şekil 4.13. <i>Bemisia tabaci</i> Q ve B biyotipinin pyriproxyfen ile seleksiyonundaki asetilkolinesteraz enzim aktivitesi değişimi	50
Şekil 4.14. <i>Bemisia tabaci</i> Q ve B biyotipi cypermethrin ile seleksiyonundaki Glutathion S-Transferaz enzim aktivitesi değişimi ...	51
Şekil 4.15. <i>Bemisia tabaci</i> Q ve B biyotipi spiromesifen ile seleksiyonundaki Glutathion S-Transferaz enzim aktivitesi değişimi	52
Şekil 4.16. <i>Bemisia tabaci</i> Q ve B biyotipi pyriproxyfen ile seleksiyonundaki Glutathion S-Transferaz enzim aktivitesi değişimi ...	53

Şekil 4.17. <i>Bemisia tabaci</i> Q ve B biyotipi pyriproxyfen ile seleksiyonundaki monooksijenaz enzim aktivitesi değişimi.....	54
Şekil 4.18. <i>Bemisia tabaci</i> Q ve B biyotipi spiromesifen etkili maddesi ile seleksiyonundaki monooksijenaz enzim aktivitesi değişimi.....	55
Şekil 4.19. <i>Bemisia tabaci</i> Q ve B biyotipi pyriproxyfen ile seleksiyonundaki monooksijenaz enzim aktivitesi değişimi.....	56

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Beyazsinek örnekleri toplanan yerler	27
Çizelge 3.2. Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz I gen bölgesine spesifik primer dizilimleri	28
Çizelge 3.3. Master-miks bileşenleri.....	28
Çizelge 3.4. Thermal-Cycler protokolü	29
Çizelge 3.5. Sekans master miks.....	29
Çizelge 3.6. Sekans analizi için Thermal- Cycler protokolü	29
Çizelge 3.7 İnsektisit seleksiyon dozları.....	33
Çizelge 4.1. Bemisia tabaci B ve Q biyotiplerinin cypermethrin etkili maddesi ile biyoassay sonuçları.....	38
Çizelge 4.2. Bemisia tabaci B ve Q biyotiplerinin imidacloprid etkili maddesi ile biyoassay sonuçları.....	39
Çizelge 4.3. Bemisia tabaci B ve Q biyotiplerinin pyriproxyfen etkili maddesi ile biyoassay sonuçları.....	40
Çizelge 4.4. Bemisia tabaci B ve Q biyotiplerinin spiromesifen etkili maddesi ile biyoassay sonuçları.....	41
Çizelge 4.5. Bemisia tabaci Q ve B biyotiplerinin cypermethrin etkili maddesi ile seleksiyonundaki esterase aktivitesi.....	45
Çizelge 4.6. Bemisia tabaci Q ve B biyotiplerinin spiromesifen etkili maddesi ile seleksiyonundaki esterase aktivitesi.....	46
Çizelge 4.7. Bemisia tabaci Q ve B biyotiplerinin pyriproxyfen etkili maddesi ile seleksiyonundaki esterase aktivitesi.....	47
Çizelge 4.8. Bemisia tabaci Q ve B biyotiplerinin cypermethrin etkili maddesi ile seleksiyonundaki asetilkolinesteraz aktivitesi.....	48
Çizelge 4.9. Bemisia tabaci Q ve B biyotiplerinin spiromesifen etkili maddesi ile seleksiyonundaki asetilkolinesteraz aktivitesi.....	49
Çizelge 4.10. Bemisia tabaci Q ve B biyotiplerinin pyriproxyfen etkili maddesi ile seleksiyonundaki asetilkolinesteraz aktivitesi.....	50
Çizelge 4.11. Bemisia tabaci Q ve B biyotiplerinin cypermethrin etkili maddesi ile seleksiyonundaki Glutathion S-Transferaz enzim aktivitesi ..	51

Çizelge 4.12. <i>Bemisia tabaci</i> Q ve B biyotiplerinin spiromesifen etkili maddesi ile seleksiyonundaki Glutathion S-Transferaz enzim aktivitesi ..	52
Çizelge 4.13. <i>Bemisia tabaci</i> Q ve B biyotiplerinin pyriproxyfen etkili maddesi ile seleksiyonundaki Glutathion S-Transferaz enzim aktivitesi ..	53
Çizelge 4.14 <i>Bemisia tabaci</i> Q ve B biyotiplerinin cypermethrin etkili maddesi ile seleksiyonundaki monooksijenaz enzim aktivitesi	54
Çizelge 4.15. <i>Bemisia tabaci</i> Q ve B biyotiplerinin spiromesifen etkili maddesi ile seleksiyonundaki monooksijenaz enzim aktivitesi	55
Çizelge 4.16. <i>Bemisia tabaci</i> Q ve B biyotiplerinin pyriproxyfen etkili maddesi ile seleksiyonundaki monooksijenaz enzim aktivitesi	56

1. GİRİŞ

İnsektisitlerin yoğun ve bilinçsiz kullanımı zararlı böceklerin insektisitlere karşı direnç geliştirmelerine neden olmakta, bunun sonucunda da böceklerle mücadelede başarı azalırken önemli ürün kayıpları meydana gelmektedir. İnsektisit direnci her defasında daha fazla kimyasal kullanımına yol açmakta, bu da hedef olmayan doğal düşmanları ve diğer türleri etkileyerek doğal dengenin bozulmasına, kalıntı problemlerine ve çevre kirliliği gibi ekolojik sorunlara neden olmaktadır.

Pamuk beyazsineği *Bemisia tabaci* (Genn.) tropikal ve subtropikal bölgelerde geniş yayılım gösteren, birçok sebze ve süs bitkileri üzerinde önemli zarara neden olan polifag bir zararlıdır (Frohlich vd 1999, De Barro vd 2000). *B. tabaci* tür kompleksi yeni konukçulara ve coğrafik bölgelere kolay adapte olması sayesinde Antartika istisnası dışında dünyanın bütün bölgelerinde rapor edilmiş ve 600 bitki türü ile ilişkilendirilmiştir. Bitkide beslenmesi sonucunda %50'ye yakın ürün kaybına ve beslenme sonucunda ballı madde salgılayarak fumajine neden olmaktadır. Aynı zamanda çeşitli bitki virüslerinin vektörüdür (Horowitz vd 2003).

B. tabaci biyotipleri morfolojik olarak benzerdirler fakat yaşam döngüleri, biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri bakımından farklıdır ve bu farklılıklarda konukçu bitki tercihlerine ve virüs taşıma kapasitelerine etki etmektedir, aynı zamanda bazı konukçu bitkilerde fizyolojik değişimlere neden olmaktadır. Perring (2001) 41 farklı *B. tabaci* popülasyonunun çalışıldığını ve bunlardan 24 tanesinin spesifik biyotip olarak isimlendirildiğini 17 popülasyonun ise isimlendirilmediğini belirtmiştir. Bu biyotipler esteraz profilleri ve biyolojik karakterler (mtCOI veya ribosomal ITS1 DNA sekansları) kullanılarak tanımlanmıştır (Costa ve Brown 1991, Bedford vd 1994, Brown vd 1995, Frohlich vd 1999). Birçok biyotipin dünyanın farklı bölgelerinde tanımlanması *B. tabaci*'nin türler ve biyotipler kompleksi olduğunu göstermektedir (Perring 2001, Abdullahi vd 2003).

Güney Avrupa ve Orta Doğuda en geniş yayılım gösteren B ve Q biyotipleridir (Guirao vd 1997). Her iki biyotip geniş konukçu dağılımı, hızlı popülasyon artışı ve insektisitlere karşı direnç geliştirme kabiliyeti göstermektedir (Horowitz vd 2005). B biyotipi Avustralya'da ilk olarak 1994 yılında tespit edilmiştir, geniş coğrafik yayılım göstermekle birlikte yayıldığı alanlarda istilacı olduğu ileri sürülmekte ve beyazsinek türleri arasında en geniş konukçu dağılımına sahiptir. Q biyotipinin yayılışı İber yarımadası ile sınırlanmış fakat son zamanlarda Akdeniz ülkelerinde belirlenmiştir (Brown vd 1995, Gunning vd 1995, Brown vd 2000, Palumbo vd 2001, Nauen vd 2002). Son zamanlardaki yayınlamamış sonuçlar birçok ülkede Q biyotipinin B biyotipinin yerini aldığını göstermektedir (Mahadav vd 2009).

Kimyasalların yaygın olarak kullanılması sonucunda *B. tabaci* popülasyonları organik fosforlular, piretroidler, neonikotinoidler, karbamatlılar gibi insektisitlere ve böcek büyüme düzenleyicilerine karşı direnç geliştirmiştir (Denholm vd 1996, Horowitz vd 1998, Elbert ve Nauen 2000). Biyotiplerin farklı biyolojik özelliklerinin, biyotiplerde insektisitlere karşı direnç ve hassasiyete neden olduğu veya katkı sağladığı öne sürülmektedir (Brown vd 1995, Costa vd 1993, Beitia vd 1997, Devine vd 2004).

İnsektisit direnci “aynı türlerin normal popülasyon larındaki bireylerin çoğunluğuna etki eden lethal doza karşı böcek popülasyonunun hayatta kalma kabiliyeti” olarak tanımlanabilir (Anonim 1957). Böceklerde insektiside karşı direnç çeşitli mekanizmalarla açığa çıkmaktadır. İlk olarak kütikula vasıtasıyla insektisidin organizmaya girişi engellenmektedir. Eğer insektisit organizmaya girerse Target-site (hedef bölge) veya metabolizmada değişim meydana gelir ve sırasıyla hedef bölge duyarlılığının azalması sonucu dayanıklılık veya metabolik dayanıklılık olarak ortaya çıkmaktadır (Ahmad 2007).

Organofosfatlar, böcek sinir sisteminde asetilkolinesteraz (AChE) enzimini inaktivite ederek böceğin felç olması ya da ölmesine sebep olur (Nauen vd 2001). Organofosfatlara karşı dayanıklılık mekanizmaları, nokta mutasyonlar (Point) sonucunda AChE'nin Organofosfatlara karşı duyarlılığının azalması ve insektisidin sitokrom P450 monooxygenases (P450), glutathione-S- transferaz (GST) ve estera (EST) enzimlerinin en az bir tanesi ile detoksifiye edilmesidir. Organofosfatlara karşı *B. tabaci*'de dayanıklılık mekanizması, insektisite karşı hedef bölgenin duyarlılığının değişmesi veya karboksilesteraz'ın fazla çalışması sonucunda insektisit detoksifikasyonu olarak ortaya çıkmaktadır.

Neonikotinoidler, imidaclopridin ticari amaçla satışa sunulmasından beri en hızlı büyüyen insektisit grubudur. Neonikotinoidlere direnç ve cross resistance (çapraz direnç) İspanya'nın güneyindeki Almeria bölgesinde bulunan seralardaki Q biyotiplerinde ve İtalya ile Almanya'da bazı Q biyotipi popülasyonlarında görülmüştür (Elbert ve Nauen 2000, Nauen vd 2002). Detoksifikasyon neonikotinoidlere karşı *B. tabaci*'de ana dayanıklılık mekanizmasıdır. Monooxygenase enzim aktivitesinin beyazsinekte dayanıklılıktan sorumlu olduğu görülmekte ve sitokrom P450 genlerinin overekspresyonu (fazla çalışması) sonucunda neonikotinoidlere karşı direnç gelişmektedir. Neonikotinoidlere karşı dirençte hedef bölge duyarlılık mekanizması *B. tabaci*' de görülmemektedir (Rauch ve Nauen 2003).

Birçok çalışmada bazı bileşiklere karşı dayanıklılık sorunu belirtilmektedir ve bu nedenle özellikle hedef zararlıya etkili olan ve çevreye düşük toksik etki gösteren yeni kimyasal bileşiklere ihtiyaç duyulmaktadır. Tetronik asit türevleri yeni geliştirilen insektisit sınıfıdır. Tetronik asitler beyazsineklere etki etmektedirler. Etki mekanizmaları lipid metabolizması enzimi olan asetil-CoA-karboksilaz'ı inhibe ederek toplam lipidde düşüşe neden olarak ortaya çıkmaktadır (Bretschneider vd 2003, Nauen vd 2005).

Piretroidler bitkilerde doğal olarak bulunan nörotoksinlerin sentetik olarak üretilmesiyle elde edilen insektisitlerdir (Narahashi 1989). Morin vd (2002) pyretroidlerin Para- tip voltage gated sodyum kanal lokusuna etki ettiğini ve direncin bu lokustaki genlerin mutasyonu ile alakalı olduğunu, moleküler çalışmaların pyretroidlere karşı direncin daha iyi anlaşılmasına, gözlemlenmesine ve yönetilmesine olanak sağladığını belirtmişlerdir. Pyretroidlere karşı *B. tabaci*'de direnç detoksifikasyon sonucu ortaya çıkmaktadır. Karboksilesterazlar ve sitokrom P450 monooxygenases metabolik dirençte rol oynamaktadır. İlave olarak dirençte hedef bölge duyarlılığı da rol oynamaktadır (Morin vd 2002).

İnsektisitlere karşı direnç *B. tabaci* B ve Q biyotiplerinde değişiklik göstermektedir (Horowitz vd 2005). Roditakis vd (2009) Yunanistan’da Luo vd (2009) ise Çin’de Q biyotipi popülasyonlarının insektisitlere direnç durumunu araştırmışlardır. Rauch ve Nauen (2003) 1999-2002 seneleri arasında araziden topladıkları *B. tabaci* B ve Q biyotiplerinin neonicotinoidlere karşı direnç düzeylerini ve biyokimyasal enzim aktivitelerini çalışmışlardır. Horowitz vd (2005) çalışmalarının bir bölümünü oluşturan denemede B ve Q biyotiplerini neonicotinoidlerle açık arazide selekte ederek direnç geliştirmişler ve Q biyotipinin direnç konusunda daha baskın olduğunu söylemişlerdir. Roditakis vd (2006) piretroid direncindeki mutasyonları çalışmışlardır. *B. tabaci* para tip sodyum kanalı üzerindeki mutasyonları belirlemişlerdir. Kontsedalov vd (2008) spiromesifenin B biyotipi gelişme evreleri üzerindeki etkisini çalışmışlardır. Erginde toplam %40 ölüm oranı sergilerken yumurta ve birinci nimfte etkili olduğunu belirtmişlerdir. Ma vd (2010) pyriproxyfen direncinde metabolik mekaizmayı araziden topladıkları B biyotipi ve laboratuvarı pyriproxyfen ile selekte ettikleri Q biyotipinde araştırmışlardır. P450 ve GST’nin pyriproxyfen direnciyle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Horowitz ve Ishaaya (2014) İsrail’de 2003 ile 2012 yılları arasında sörvey yapmışlardır. Erken sezonda B biyotipini yoğun olarak tespit etmelerine rağmen sezon sonuna doğru Q biyotipinde belirgin bir artış gözlemlemişlerdir. İsrail’de pyriproxyfene yüksek direncin Q biyotipi ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Dağlı vd (2007) *B. tabaci*’nin Akdeniz ve Ege popülasyonlarının insektisitlere duyarlılığını araştırmıştır.

Bu çalışmalardan da anlaşılacağı üzere *B. tabaci* B ve Q biyotiplerinin insektisitlere karşı belirli bölgedeki direnç durumları çalışılmıştır. Ancak B ve Q biyotipinin direnç geliştirme potansiyellerinin ve dirençte rol oynayan enzim aktivitelerinin karşılaştırılması üzerine çalışma fazla yapılmamıştır. Ülkemizde B ve Q biyotiplerinde insektisitlere direnç ve direnç geliştirme oranlarının karşılaştırılması ve direncin enzim aktivitesi ile ilişkisi üzerine çalışma bulunmamaktadır. Ülkemizde ve dünyada önemli zarara neden olan direnç problemi nedeni ile mücadelesinde zorluklarla karşılaşılın *B. tabaci* biyotiplerinin direnç gelişimindeki rolünü, dirençte enzim aktivitelerinin değişimini belirlemek ve aynı zamanda ülkemizde bu konudaki literatür eksikliğini gidermek üzere B ve Q biyotiplerinin insektisitlere direnç geliştirme potansiyelleri ve enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Çalışmada beyazsinekle mücadelede kullanılan farklı insektislere karşı *B. tabaci*’nin B ve Q biyotiplerinde seleksiyonla direnç geliştirilmeye çalışılmış ve direnç düzeylerine bakılarak biyotiplerin direnç geliştirme oranları kıyaslanmıştır. Çalışmada aynı zamanda dirençli bireylerdeki enzim aktiviteleri belirlenmiştir.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMASI

2.1. *Bemisia tabaci*

Bilimsel isim: *Bemisia tabaci* (Gennadius)

Sinonimleri : *Bemisia gossypiperda* Misra & Lamba

Bemisia longispina Priesner & Hosny

Bemisia nigeriensis Corbett

Genel isimleri: Tütün beyazsineği, pamuk beyazsineği, tatlı patetes beyazsineği

Bemisia cinsi 37 tür içermekte ve Asya orijinli olduğu düşünülmektedir. *B. tabaci* muhtemelen Hindistan orijinlidir ve morfolojik farklılıklarının kabul edilmesinden önce birçok farklı isim altında tanımlanmıştır (Anonim 2014a). İlk kez *Aleurodes tabaci* olarak tütün üzerinde Yunanistan'da tanımlanmıştır (Perring 2001).

İlk raporlara göre *B. tabaci* B biyotipi 1980'lerin ortalarında görülmüştür. Gümüşiyaprak beyazsineği veya poinsettia ırkı olarak ve farklı tür *B. argentifolii* olarak isimlendirilmiştir. B biyotipi bazı bitki türlerinde kabaklarda (*Cucurbita*) gümüşiyaprak gibi fitotoksik etkilere neden olabilmektedir. Q biyotipi olarak isimlendirilen diğer biyotip 1990'ların sonunda Akdeniz havzasında özellikle tarımsal ürünler üzerinde yaygın ve mücadelesi zor hale gelmiştir (Anonim 2014a).

2.1.2. Biyoloji

Yumurtalar genellikle dairesel gruplar halinde, geniş tarafı yaprakların alttarafında yüzeye dokunacak şekilde ve yaprağa dik şekilde bırakılır. Yumurtalar birçok diğer aleyrodidlerde olduğu gibi dokuda dişi tarafından açılan ince yarığa sokulan pedicel (sap) ile tutturulurlar (stomalara tutturmazlar) (Anonim 2014a).

Açıldıktan sonra birinci nimf veya hareketli nimf yassı, oval ve pul benzeridir. Birinci nimf bu böceğin hareketli olan ergin öncesi tek evredir. Yumurtadan çıktıktan sonra beslenmek için uygun bir yer buluncaya kadar yaprağın alt yüzeyinde hareket eder, bunu bacaklarını kaybeden bir deri değiştirme takipeder ve nimf hareketsiz duruma geçer. Bu yüzden geri kalan nimf dönemlerinde hareket etmez. İlk üç nimf evresinin herbiri 2-4 gün arasında son bulur. Dördüncü nimf evresi 'pupa' olarak isimlendirilir (Anonim 2014a).

Ergin, pupa yüzeyinde 'T' şeklinde yırtık açarak çıkar ve abdomende bulunan salgı bezlerinden çıkan mumsu madde ile bulanmaya başlamadan birkaç dakika önce kanatlarını gerer. Dişinin yaşam süresi 60 gün kadar olabilmektedir. Erkeğin ömrü ise genellikle daha kısadır, 9 ila 17 gün arasında olmaktadır. Herbir dişi yaşam süresi boyunca 160 yumurtaya kadar yumurtlayabilir. Bir yıl içerisinde 11-15 arasında döl verebilir (Anonim 2014a).

2.1.5. Konukçuları

Şu ana kadar *B. tabaci* tropikal ve sub-tropikal ülkelerdeki tarla ürünlerinin ana zararlısı olarak bilinmektedir. Kasava (*Manihot esculenta*), pamuk (*Gossypium*), tatlı patates (*Ipomoea batatas*), tütün (*Nicotiana*) ve domates (*Lycopersicon esculentum*) aralarında olduğu karmaşık konukçu bitki dağılımına sahip olup, 63 familya içindeki bitki türleri konukçusudur (Anonim 2014a).

2.1.6. Ekonomik zararı

B. tabaci dünyanın ılıman bölümlerindeki pamuk ve diğer tropikal veya yarı-tropikal ürünlerin minor zararlısı olarak bilinmektedir. Erginlerin ve nimflerin beslenmesi yaprak yüzeyinde görülen klorotik beneklere sebep olmaktadır. Popülasyonun yoğunluğuna bağlı olarak bu benekler birleşerek tüm yaprak yüzeyinin sararmasına neden olabilmektedir. Bu şekildeki yapraklar daha sonra dökülmektedir. Nimflerin beslenmesi sonucunda açığa çıkan ballı madde yaprak yüzeyini kaplar ve kolonize olan küfler nedeniyle fotosentez potansiyelinde düşüş olur. Ballı madde aynı zamanda çiçeklerin güzelliğini bozabilmekte ve pamukta olduğu takdirde liflerin işlenmesinde problemlere yol açabilmektedir. Yoğun bulaşıklıklarda bitki boyu, boğum sayısı, ürün kalitesi ve miktarı etkilenebilmektedir (Anonim 2014a).

Virüs vektörü *B. tabaci* çubuk-şekilli DNA virüsünün ve *Geminivirus*, *Closterovirus*, *Nepovirus*, *Carlavirus*, *Potyvirus* cinsleri içinde 60'tan fazla bitki virüsünün vektörüdür.

Ergin *B. tabaci* yeteri kadar uçamamaktadır. Fakat öncelikle hava kaynaklı olarak epey uzak mesafelere rüzgar yardımıyla uçabilmektedir. Zararının her evresinin bitki materyallerinin üzerinde ve konukçu türlerin çiçeklerinin kesilmesi yoluyla taşınması muhtemeldir (Anonim 2014a).

2.2. *Bemisia tabaci* Biyotip Çalışmaları

De Barro ve Driver (1997) çalışmalarında RAPD PCR kullanarak beyazsinek *B. tabaci* B biyotipini tanımlamışlar bunu diğer beyazsinek türlerinden ve biyotiplerinden ayırmışlardır. Bu tekniğin, canlı veya donmuş materyale ihtiyaç duyan allozim elektroforeze göre alkolde muhafaza edilmiş örneklerin kullanımına mücade ettiğini, yumurtaların, ergin öncesi dönemlerin ve erkek veya dişi bireylerin kullanılabildiğini belirtmişlerdir.

Calvert vd (2001) Kolombiya'da kasava ve fasülyedeki beyazsinek türleri *B. tabaci* *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring, *Bemisia tuberculata* (Bondar), *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), *T. variabilis* (Quaintance), ve *Aleurotrachelus socialis* (Bondar)'in ergin bileşik gözlerini ve üçüncü anten segmentlerinin morfolojilerini taramalı elektron mikroskobu kullanarak tanımlamaya çalışmışlardır. Rastlantısal amplifiye polimorfik DNA polimeraz zincir reaksiyonu markırlarını beyazsinek türlerinin morfolojik teşhisini ispatlayıcı ve *B. tabaci* türler kompleksinin bireylerini hızlı ayırabilen bir method olarak belirtmişlerdir. Her bir beyazsinek türünün mitokondriyal 16S rDNA gen bölgesi amplifiye edilmiş, klonlanmış

ve sekansları belirlenmiştir. Parsimony ve uzaklık analizi yapılmış ve sonuçların morfolojiye benzer olduğunu belirtmişlerdir. *Trialeurodes*'ün iki türü arasındaki uzaklığı iki tür için aynı cins içerisinde beklenenden daha fazla bulmuşlardır. Morfolojik ve moleküler özelliklerin kombinasyonunun bu beyazsinek türlerinin evrimi ve farklılığının anlaşılmasında faydalı olduğunu bildirmişlerdir.

De La Rua vd (2006), beyazsinek *B. tabaci* Akdeniz havzasındaki en önemli tarımsal zararlıdır ve beş biyotipi B, Q, S, T ve M Akdeniz havzasında rapor edilmiştir. Çalışmalarında bu Akdeniz biyotiplerinin diğerleri ile filocoğrafik ilişkisini saptamışlardır, Avrupa ve Afrika'dan mitokondriyal sitokrom oksidaz I geni (mtCOI)'nin sekansına göre analiz etmek üzere 54 örnek toplamışlardır. Filogeni İspanya örneklerinin S biyotipine denk geldiğini ve Afrika clade'inin Uganda 2 haplotipi ile akraba olduğunu ve o ülkede kasava mozaik virüsünün (CMV) son salgının hızlı artışı ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu filocoğrafik ilişki Afrika clade içindeki farklı altgrupları desteklemektedir. İtalya'dan *Euphorbia* bitkisinden toplanan *B. tabaci* (biyotip T) Güneybatı/Uzak Batı Asya Clade içinde var olan üç ayrı alt grubun birinde yer alırken, Türkiye'den örnekler (biyotip M) Tayland ve Pakistan'dan referans beyazsinek mitokondriyal sekansları ile birlikte yer almaktadır. Son raporlar *Bemisia* biyotip S ve T popülasyonlarının başlangıçta sınırlandırıldıkları alanlardan daha fazla yayıldığını göstermektedir. Diğer sonuçlar Sudan'dan toplanan örneklerin İspanya ve Fas'tan toplanan referans Q biyotipi sekansları ile beraber Akdeniz-Kuzey Afrika Clade içinde gruplandırıldığını işaret etmektedir. Gana'dan tatlı patatesten toplanan *B. tabaci*'nin mitokondriyal haplotipleri Afrika Clade içinde tanımlanmış beş Sub-Saharan altgruplarının birinde yer alan referans Kamerun örneklerinin sekansı ile bir araya geldiğini belirtmişler. Bu veriler ile *B. tabaci* türler kompleksinin filogenetik bilgisini genişletmişler ve araştırılmak üzere yeni sorular sunmuşlardır.

Hsieh vd (2006) Doğu Asya'da *B. tabaci*'nin dağılımı ve biyotiplerinin anlaşılır olmadığını belirtmişlerdir. Çalışmalarında *B. tabaci* popülasyonları Tayvan ve Doğu Asya'nın komşu adalarından toplanmıştır. Konukçu dağılımı 15 familyadan 51 bitki türü olarak kaydedilmiştir. Mitokondriyal sitokrom oksidaz I (mtCOI) gen sekansını biyotipleri ayırmak üzere moleküler marker olarak kullanmışlardır. Filogenetik analizleri Doğu Asya'da üç biyotipin: B, Nauru ve An olduğunu göstermiştir. Tayvan'da An ve B biyotipinin bulunduğu ilk moleküler olarak kanıtı ve Nauru ve An biyotiplerinin Çin için yeni olduğunu belirtmişlerdir. Bu nedenle en azından B, Q, Nauru ve An biyotiplerinin Çin'de varlığı bilinmektedir. Filogenetik ağaç Tayvan'da B biyotipinin istilasının yeni olduğunu göstermiş ve çoklu istilaların insanların ticaret aktivitesinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. B biyotipi Tayvan'da en yaygın biyotiptir. Nauru ve An biyotiplerinin istilalarına hem doğal yayılma hem de ticaret aktiviteleri sebep olmaktadır. Aksi takdirde Nauru ve An biyotiplerinin yayılımı Asya'yı kaplardı ve ikisinin yakın ilişkili oldukları farzedilmiştir. Sonuçları Nauru biyotipinin Asya orijinli olduğunu, An biyotipinin Asya veya Avustralya orijinli olabileceğini desteklemektedir. İlave olarak ağaç topolojileri *B. tabaci*'nin üç ana Clade'e ayrıldığını göstermektedir: Yeni Dünya, Asya/Avustralya ve Akdeniz/Asya Minor/ Afrika grupları. Çalışmalarının aynı zamanda *B. tabaci* türler kompleksi içindeki ilişki üzerine bazı bilgiler sağladığını belirtmişlerdir. İlave olarak çalışmalarının Doğu Asya'da *B. tabaci*'ye karşı mücadelede yardımcı olacağını belirtmişlerdir.

Boykin vd (2007) *B. tabaci* türler kompleksi olarak dünya çapındaki en tahrip edici tarımsal zararlılardan biri olduğunu ve geniş aralıktaki yiyecek, lif ve süs bitkilerini etkilemekte olduğunu belirtmişlerdir. Maalesef parsimony ve neighbor joining methodlarının kullanımı *B. tabaci*'nin ana ırk/biyotiplerinin global filogenetik akrabalığını çözümlememiş olarak kalmakta olduğunu bildirmişlerdir. Bu methodların zayıflıklarından dolayı filogenetik analizleri *B. tabaci* global koleksiyonlarının sadece küçük bir kısmı ile sınırlıdır. Çalışmalarında *B. tabaci*'nin global filogenetik akrabalık bilginizi arttırmak, Genbankta yer alan dünya çapındaki tüm *B. tabaci* mtCOI DNA sekans ilişkilerini açıklamak üzere Bayesiyan filogenetik tekniğini kullanmışlardır. Sonuçları ilk olarak *B. tabaci* türler kompleksinin iyi çözümlenmiş filogenisi 12 ana genetik grup olduğunu göstermiştir: (Akdeniz/Asya Minor/Afrika), (Akdeniz), (Hint Okyanus), (alt-Saharan Afrika gümüşyapraklık), (Asya I), (Avustralya), (Çin), (Asya II), (İtalya), (Yeni Dünya), (alt-Saharan Afrika gümüşyapraklık olmayan) ve (Uganda tatlı patates). Bu filogeninin sonraki analizleri Asya biyotipleri ile Yeni Dünya *B. tabaci* arasında yakın bir akrabalık olduğunu göstermiş ve ana alt-Saharan Afrika gümüşyapraklık olmayan clade'in karakteristiğinin *B. tabaci*'nin Afrika orijinli olduğunu global filogeninin ortasında yer almasına bağlı olarak güçlü şekilde desteklemekte olduğunu belirtmişlerdir ve bu grubun içindeki alt-cladelerin farklılıkları grubun iyi çözümlenmiş olduğunu göstermektedir. *B. tabaci*'nin ITS, COI tekrar analizleri ve eski çalışmalardaki veri setlerinin kombinasyonu ile Bayesian analizleri yüksek posterior olasılıkla yedi ana iyi çözümlenmiş ırk ile sonuçlanmıştır ve aynı zamanda Bayesian methodunun faydasını göstermişlerdir. Bu çalışmada 12 ana *B. tabaci* genetik grubunun akrabalık ilişkisini tartışmışlardır.

Hsieh vd (2007) B biyotipinin global olarak yüksek ekonomik kayıplara neden olduğunu aynı zamanda Q biyotipinde son zamanlarda yeni istilacı zararlı olarak bildirmişlerdir. Bu iki biyotip Kuzeybatı Pasifik bölgesinde gözlemlenmiştir, ancak bu iki biyotipin bu bölgede popülasyon genetik yapısının henüz açık olmadığını belirtmişlerdir. Çalışmalarında mitokondriyal sitokrom oksidaz I (COI) gen bölgesi kullanılarak yeniden bir filogenetik ağaç oluşturmuşlar, B ve Q biyotipinin tanımlanması için kullanılmış ve süs bitkileri ile istila arasındaki ilişki çalışılmıştır. Filogenetik ağaç ve haplotip analiz kombinasyonu sonucu bu bölgede son zamanlardaki Q biyotipi istilasının Akdeniz bölgesinden uluslararası süs bitkisi ticaretiyle ilişkili olduğu fikrini ileri sürmektedirler. Düşük seviyedeki haplotip farklılığı ve nükleotid farklılığı Kuzeybatı Pasifik bölgesinde B ve Q'nun bulunmasının çok yönlü istila sonucunda olduğunu göstermektedir. Aşamalı moleküler varyans analizlerinin çok yönlü istila hipotezlerini desteklediğini belirtmişlerdir. Ayrıca yüksek sekans benzerliği ve düşük genetik farklılık, istilaların yeni olduğu izlenimini uyandırmıştır. Çalışmalarının sonuçları B ve Q biyotiplerinin bu bölgeye doğrudan çok yönlü yeni istilalar ile girdiğini göstermektedir. Gelecekteki istilaları önlemek için tarımsal ürünlere karantinanın gerekli olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Simon vd (2007) *B. tabaci* kompleksinde tanımlanmış en az beş biyotipin Akdeniz havzasında bulunduğunu bildirmişlerdir. Sadece iki tanesi B ve Q ekonomik olarak önemlidir. İki biyotip arasındaki biyolojik ve genetik farklılıklar üzerine çok çalışılmıştır. Ancak popülasyon yapılarının ve genetik farklılıklarının durumu hakkında bilgi azdır. Bu konuları aydınlatmak için dokuz *B. tabaci* popülasyonunun alt kümesi içinde altı microsatellit lokusdaki farklılıktan kaynaklanan çalışma yürütmüşlerdir (5 Q

ve 4 B biyotipi). Elde edilen verilerin (i) bu lokusların Q ve B biyotiplerinde önemli polimorfizm gösterdiğini ancak boş allelerin varlığı resmi belirsizleştirmekte olduğunu; (ii) İberyan Q, Kanarya Q ve Mısır B popülasyonlarının darboğaz olaylarının sonucu olarak artan heterozigotluk gösterdiğini; (iii) İsrail, İber yarımadası ve İtalya popülasyonları arasındaki düşük genetik farklılığın bu popülasyonların ortak gen havuzunu paylaştıklarını; (iv) Kanarya-Q popülasyonu ile coğrafi olarak yakın Fas popülasyonları arasındaki genetik uzaklığın bölgesel izolasyon ve sınırlı gen akışı gösterdiğini; ve son olarak (v) B popülasyonu için mikrosatellit verileri Mısır ve İsrail'den beyazsineklerin yakın filogenetik ilişki gösterdiğini ancak Akdeniz havzasındaki bu B biyotipi istilasının kaynağının hala belirsiz kaldığını çalışmalarının sonucu olarak bildirmişlerdir.

Dong vd (2008) *B. tabaci* B ve Q biyotiplerinin popülasyonlarının genetik yapısı karşılaştırıldığında istila mekanizmalarında ve kontrollerinde farklılık gösterdiğini belirtmişlerdir. Çalışmalarında dünyadan 16 B biyotip ve 4 Q biyotipi ile Çin'den *T. vaporariorum* popülasyonu ve *B. tabaci* B/Q olmayan kontrol olarak iç basit sekans tekrarları (ISSR) markırı kullanılarak analiz edilmiştir. Genetik farklılıkların analizi Nei's gen farklılık indeksi, Shannon informative indeksi gibi farklılık indeksleri ile polimorfik lokus oranları Q biyotipinde B biyotipindekilere göre yüksek olduğunu göstermiştir. Q biyotipinin yüksek genetik farklılığı mükemmel ekolojik adaptasyon için genetik sağlayabileceğini belirtmişlerdir. Cluster analizinin ISSR'nin filogenetik analizde kullanılamayacağını belirtmeler ise *B. tabaci* biyotiplerini kolayca ayırt edebildiğini bildirmişlerdir. ISSR markera göre B ve Q biyotipleri arasında genetik yapı farklılığı olduğunu belirtmektedirler. Sonuçlarının *B. tabaci* biyotipleri arasında filogenetik analizinde moleküler markırın kendi limitleri olduğunu öne sürmektedirler.

Rabello vd (2008) *B. tabaci* kompleksinin yaklaşık 41 biyotipden oluştuğunu ve bunlardan iki tanesinin (B ve BR) Brezilya'da görüldüğünü belirtmişlerdir. Bu çalışmada farklı biyotiplerin genetik farklılıklarını, genetik markerlar ile belirlemek istemişlerdir. Bunun için RADP, PCR-RFLP ve ITS1 rDNA bölgesinin sekans tekniklerini kullanarak *B. tabaci* B, BR, Q ve Kasava biyotiplerini analiz etmişlerdir. Analizler sonucunda B ve Q bireyleri arasında yüksek benzerlik gözlenirken, bu biyotiplerin Br bireylerinden ayrıldığını belirtmişlerdir. ITS1 rDNA sekansına göre filogenetik ağaç ortaya koymuşlardır. Bu çalışmaları *B. tuberculata* ve *B. tabaci* Br biyotipinin ITS1 rDNA sekansının ilk raporudur.

Bethke vd (2009) Guatemala'dan iki ticari poinsettia serasından topladıkları *B. tabaci* ergin ve ergin öncesi dönemlerin biyotip durumunu belirlemek üzere esterase izozim bantları ve mtCOI sekanslarını kullanmışlardır. Sonuçları Q biyotipinin Guatemala'daki ilk raporudur.

Oiu vd (2009) tatlı patates beyazsineği *B. tabaci* B ve Q biyotipinin Çin'de süs bitkileri ve sebzeler üzerinde yerli CV biyotipi ile birlikte yereldiğini bildirmişlerdir. Çalışmalarında bu üç biyotipin morfolojik karakterlerine, RAPD-PCR analizlerine ve mtCOI geninin DNA sekansına göre tanımlamışlardır. Ön ve arka mum saçaklarının B, Q ve CV biyotiplerinin her birinde çok farklı olduğunu gözlemlemişlerdir. Morfolojik karakterlerine göre bu üç biyotipin arazide ve serada çok rahat ayırtılabildiğini belirtmişlerdir. Genomik DNA RAPD-PCR bandları H₁₆ primeri kullanıldığında bu üç

biyotipte farklılık göstermekte olduğunu gözlemlemişlerdir. B biyotipi 250- 600bp arasında üç parlak DNA bandı, Q biyotipi 300bp civarında tek bant verirken CV biyotipinde 250-500bp arasında bant gözlemlememişlerdir. B ve Q biyotipi 750-1000bp arasında iki bant verirken, B biyotipi 1000 bp civarında tek bant göstermektedir. COI gene göre genetik yakınlığı B ve CV, B ve Q, Q ve CV arasında sırasıyla %85, %94, %86 olarak bulmuşlardır. MP ağacı filogenetik akrabalığın B ve Q biyotipi arasında diğer B ve CV yada Q ve CV'ye göre daha yakın olduğunu göstermektedir. Çalışmalarının sonunda *B. tabaci* biyotiplerinin belirlenmesinde morfolojik, RAPD-PCR ve DNA sekans metodlarının kıyaslanması tartışılmıştır.

Shatters jr vd (2009) Çalışmalarında yeni sekans generasyonu ve erişilebilir beyazsinek mtCOI sekans verilerinin kıyaslanması vasıtası ile şu anda kullanılan ~800bp den ~748 bp daha etkili amplifikasyon elde edilen polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) amplifikasyon primerleri (Btab-Uniprimerleri) tanımlamışlardır. Bu evrensel primerlerin tek amplifikasyon profili kullanılarak *B.tabaci* biyotipinde ve beyazsinek cinsinde mtCOI fragmenti amplifiye ettiğini belirtmişlerdir. Ayrıca *B.tabaci* B, Q ve Yeni Dünya biyotipleri içinde ve biyotipler arasında hızlı bir ayırma izin veren mtCOI PCR spesifik primerleri dizayn etmişlerdir. Dizayn ettikleri primerler B, Q ve Yeni dünya biyotipleri için sırasıyla 478-405 ve 303bp mtCOI fragmenti üretmektedir. Bu primerlerin hızlı PCR ve elektroforez teknikleri kullanılarak kombine edilmesiyle biyotip belirlemenin 96 örnek için 3 saat içinde tamamlanabileceğini bildirmişlerdir.

Chu vd (2011) Çin'in Shandong bölgesindeki yabancı beyazsinek, *Bemisia tabaci* kriptik türler kompleksinin Akdeniz olarak adlandırılan (burada Q biyotipi olarak isimlendirilmiştir) bir üyesi tarafından son istila (son beş yıl süresince), alanı ve Akdeniz bölgesindeki yayılma alanı arasındaki genetik varyasyonu çalışmak için uygun olarak sağladığını belirtmişlerdir. Mitokondriyal sitokrom oksidaz I (mtCOI) ve nükleer (microsatellite) DNA yöntemlerini kullanarak Shandong daki Q biyotipinin batı Akdeniz orijinli olduğunu göstermişlerdir. Aynı zamanda haplotip farklılığının varsayılan coğrafik orijini ile kıyaslandığında düşük olduğunu bulmuşlar ve microsatellite allel farklılığının böyle bir azalma göstermediğini bildirmişlerdir. İstilalardaki kilit faktörün dışilerin yerleşmesi olduğunu ve darboğazlar ile yerel etkilerin çok çabuk ve aşırı derecede mitokondriyal varyasyon kaybına yol açtığını belirtmişlerdir. Shangdon'da haplotip farklılığının olmaması, batı Akdeniz ve Çin arasındaki bir veya daha fazla noktada istilacı Q'nun haplotip farklılığını kaybetmesinde muhtemelen şirketlerin bu yerler arasında devamlı ve yoğun süs bitkileri ticareti yapmasından kaynaklandığı yorumunu desteklemekte olduğunu bildirmişlerdir. Haplotip farklılığının olmaması nükleer allel farklılığının aynı zamanda azalması anlamına gelmediğini belirtmişlerdir. Uygun dışiler uygun herhangi bir erkekle çiftleşebilecek, allel farklılığının korunacağını ve istilacı türün orijini ile ilişkili olarak artabileceğini belirtmişlerdir. Bulguları yeni çevreye sınırlı adaptasyonda genetik farklılığın azalması ve başarılı istilacılar içinde gözlemlenen düşük farklılık arasındaki aşikâr paradoksa bazı açıklamalar getirmektedir.

Grille vd (2011) Arjantin ve Uruguay'da biber ve kavundan topladıkları *B. tabaci* erginlerinin biyotip durumlarını sitokrom oksidaz I gen (mtCOI)'e göre belirlemişlerdir. Tüm bitkilerdeki örneklerin sadece Q biyotipi olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışma Arjantin ve Uruguay'dan Q biyotipinin ilk raporudur.

De Barro (2012) çalışmasında 2007'den başlayarak *B. tabaci* türler kompleksinin farklı üyeleri arasındaki ilişkiyi daha yapısal ve sistematik yoldan düşünüldüğünü belirtmiştir. Bu ilişkilerin birçoğunda mitokondriyal sitokrom oksidaz I (mtCOI) genin bir kısmı göz önüne alınarak sonuç çıkarılmıştır. Bu gerçekten sınırlı bir yaklaşım iken genetik materyalin önemli çeşitliliği göz önüne alınınca faydalıdır, yerel olarak elde edilen verilerle sadece türler kompleksindeki farklılığı gösterebilmektedir. Kısıtlamalara rağmen bu datalardan üretilen filogenetik yapı kullanışlıdır ve temel yapı sorularında kullanılabilir ve gelecek çalışmalar için test edilebilir hipotezler kurulmasına temel oluşturur. Çalışmada en geniş mtCOI veri setlerini kullanmıştır, 383 eşsiz mtCOI haplotiplerini bilinen *B. tabaci* türler kompleksinin tüm farklılıklarını içeren ve geniş gözlemler yapabilmek için gelişen sorularda gelecekte kullanılmak üzere rehber hazırlamıştır.

Kang vd (2012) çalışmalarında *B. tabaci* B ve Q biyotiplerine spesifik karboksilesterase 2 gen (coe2)'deki uzunluk-polimorfik intron varyasyonları ve sekanslarını belirlemişlerdir. Biyotip spesifik coe2 intron varyasyonu nuklear marker olarak kullanılması ile, B ve Q biyotiplerini belirlemede tek adım teşhis protokolü geliştirmişler ve performansı araziden toplanan *B. tabaci* örneklerinde test etmişlerdir. Coe2 intron markırına göre teşhis sonuçları test edilen tüm 256 örneğin B ve Q biyotipleri arasında heterozigot farzedilen dört örnek hariç mtCOI markırından elde edilenlerle aynı olarak bulmuşlardır. Bu sonuçlar coe2 intron marker tabanlı protokol B ve Q biyotiplerini ayırmada yüksek seviyede kesinlik göstermiştir. Çünkü proses sadece PCR amplifikasyonuna ve jel elektroforeze ihtiyaç duymaktadır, çoklu örneklerin analizi daha etkili yapılabilecektir. Tüm heterozigot farzedilenlerin gözlemlerine dayanarak Q biyotipin maternal geçmişine sahiptir. B tip erkeği ve Q tip dişi arasında biyotip arası çaprazlama için yapılmıştır. mtCOI marker ile nuclear coe2 marker kombine edilirse tek markırlara göre anne tarafından kalıtımla kalanlara daha iyi çözüm sağlayabileceğini ve *B. tabaci* biyotip kompleksinin demografik çalışmalarını kolaylaştırabileceğini belirtmişlerdir.

Seal vd (2012) ekonomik olarak önemli *B. tabaci*, Asya 1 mtCOI filogenetik grubu karakterize etmede genomik teknikler geliştirmek ve uygulamak için fonksiyonel genomik araştırmalar programını Greenwich Üniversitesi, UK'da başlatmışlardır.. Çalışmalarında ilk basamak olarak next-generation sekansını (NGS) ergin dişi beyazsineğin transcriptome surveyi için kullanmışlar, bununla birlikte Roche 454 Titanium DNA sekans platformunu kullanarak yüksek kaliteli RNA örneklerini, NGS için cDNA kütüphaneleri oluşturmak üzere hazırlamışlardır. CLC Genomics Workbench generated 3 821 core Contigs software programı kullanılarak sekans sonuçlarına (301094 okuma) göre contig assembly kurmuşlardır. NGS'den elde edilen verilerin kantitatif real-time RT-PCR tabanlı gene ekspresyon analizleri için kesin ve güvenilir metodların gelişimini kolaylaştırmakta olduğunu belirtmişler, tam genom sekansı eksik olan bir organizmada hızlı ekspresyon analizinin bu yaklaşımın gücünü göstermeyi mümkün kılacağını belirtmişlerdir.

Xiao-Jun vd (2012) beyazsinek *B. tabaci*'yi taksonomik kompleks olarak düşünmektedirler. *B. tabaci* Akdeniz (MED) ve Ortadoğu-Asya Minor 1 (MEAM1)n en yaygın iki kriptik türlerdir. Çalışmalarında 2004-2007 arasında *B. tabaci* kompleksinin geniş arazi sörveyinde Çin'in büyük bölümünden 22 ilden 93 örnek toplamışlardır. Çin

popülasyonları mitokondriyal sitokrom oksidaz I geni (mtCOI) sekansına göre iki istilacı tür (MEAM1- MED) ve 4 yerli kriptik tür (Asya II 1, Asya II 3, Çin 3 ve Asya II 7) içermektedir. *B. tabaci* 19 popülasyonun alt kümesinin çeşitliliği ve genetik farklılığı cDNA Amplified fragment length polimorfizm (AFLP) kullanılarak çalışılmıştır. 2007 öncesi, MEAM1 Çin'in birçok vilayetinde dominant tür iken MED'in 2007'de 11 ilde dominant tür olduğunu belirtmişlerdir. İstilacı ve yerli türler bazı bölgelerde aynı anda bulunmuştur. Kuzey Çin'de 6 ilde *B.tabaci*'nin yerli türlerini bulmuşlardır. MED ve MEAM1 geniş konukçu bitki dağılımına sahip ve yerli türler daha sınırlı konukçu dağılımı göstermektedir. Tüm Asya II 3 örnekleri biri hariç pamuk üzerinde biride patlıcan üzerinde bulunmuş. Çin 3 Asya II 3 e göre daha fazla konukçuya sahiptir. Çin 3'ün 12 örneği tatlı patates, japon şerbetçiotu, kabak ve pamuk üzerinden toplanmıştır. Beş AFLP primer kombinasyonunda toplam 677 bant elde etmişlerdir. En yüksek polimorfik bant oranını %98.7 ve en düşük %91.9 olarak bulmuşlardır. Unweighted pair-group metod analizi farklı türlerin kümelenmesinin ayrı olduğunu göstermiştir. MED diğer türlere göre en düşük benzerlik derecesini göstermiştir. Hem MEAM1 hem de MED'in Çinde hızlı yerleşim gösterdiğini belirtmişlerdir.

Esterhuizen vd (2013) beyazsinek *B. tabaci* kriptik türler Kompleksi üyelerinin Güney Afrika (SA)'da beslenme alışkanlıkları ve begomovirüs türlerini taşıma kabiliyetleri nedeniyle ciddi zararlı haline geldiğini ve Ekonomik önemlerine karşın SA'da biyolojisi ve yayılımı üzerine çalışmaların limitli olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalarında bu sebepten dolayı 2002 ile 2009 arasında sekiz coğrafik bölgede mitokondriyal sitokrom oksidaz I (mtCOI) sekanları kullanılarak *B. tabaci* kriptik türlerin yayılımı ve çeşitliliğini araştırmak üzere sörvey gerçekleştirmişlerdir. Filogenetik analizlere göre iki endemik Alt Saharan Afrika altcladelerin (SSAF) üyelerinin varlığı varsayılan iki türün girişiyle aynı zamanda olmaktadır. SSAF-1 altcladeleri cassava konukçusuna adapte olmuş *B. tabaci* popülasyonlarını içerirken kasava ve kasava olmayan konukçulardan toplanan beyazsineklerin farklı altclade içinde yer almakta olduğunu, SSAF-5 olarak adlandırılan ve daha önce tanınan Afrika Cladelerinde yeni clade olarak sunulduğunu çalışmalarında belirtmişlerdir. İki tanıtılan kriptik tür, Akdeniz ve Orta Doğu-Asya minor 1 cladelere ait olan türleri B ve Q biyotipi olarak belirlemişlerdir. B biyotipinin SA'da araştırılan sekiz bölgeden beşinde en geniş yayılım gösterdiğini, birçok konukçu bitkiyi enfekte ettiğini ve yerli haplotipler üzerinde baskın olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmaları daha geniş yayılım gösteren B biyotipi yanında ekzotik Q biyotipinin SA'da varlığını rapor eden ilk çalışmadır. Ayrıca çalışmalarında B, Q ve SSAF varsayılan türleri birbirinden hızlı ayırmaya izin veren mtCOI, PCR RFLP geliştirmişlerdir. Etkili şekilde zararlı ve hastalık mücadele kapasitesi zarara neden olan ajanın tanınmasındaki bilgiye bağlıdır. Bu nedenle bu çalışmalarının Güney Afrika *B. tabaci* tür çeşitliliğini anlamaya katkı sağlayacağını, tecrübe-tabanlı hastalık mücadele uygulamalarının gelişiminde gerekli bilgiye katkı sağlayacağını belirtmişlerdir.

Lee vd (2013) Çalışmalarında *B. tabaci*'nin taksonomik durumunu ve *B. tabaci* kompleksindeki tür kompozisyonunu 1059 *B. tabaci* mtCOI sekansı ve 153 hemiptera türünden 509 mtCOI sekansına göre belirlemişlerdir. *B. tabaci* içindeki genetik uzaklığın (%11.1) 153 türün cinsi içindeki türler arası genetik uzaklığa (%6.5) göre çarpıcı şekilde yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bu sonuçlara göre *B. tabaci*'nin farklı

cins veya altfamilyaya ait olan birçok türden oluştuğunu belirtmişlerdir. Tekrarsız 212 mtCOI sekansına dayanan filogenetik ağaç *B. tabaci* kompleksinin yeni türde içeren 31 sabit türden oluştuğunu göstermektedir. Ancak altı tür içindeki genetik uzaklık (AsyaII 1, AsyaII 7, Avustralya, Akdeniz, Yeni Dünya, Afrika alt Saharan 1) %3.5 den daha fazladır ki bu da *B. tabaci* kompleksindeki başlangıç limitleri olarak kullanılandır. Bu sonuçlara göre *B. tabaci* kompleksi içindeki ana türleri ayırmak için tür limit eşliğini %4' e kadar yükseltmenin gerekli olduğunu önermişlerdir.

Shadmany vd (2013) çalışmalarında sebze ve çiçek üretim alanlarından beyazsinek örnekleri toplanmış ve biyotip durumu mitokondriyal sitokram oksidaz I gen (mtCOI) sekansı ile belirlenmiştir. Çalışma sonucunda Q biyotipini Malezya'da ilk defa tespit etmişlerdir.

2.3. *Bemisia tabaci* İnsektisit Direnci

2.3.1. Piretroid insektisitler

Pirethroidler; *Pyrethrum Chrysanthemum cinerariaefolium* ve *Chrysanthemum coccineum* çiçeklerinin kuru ekstraktlarından elde edilen organik bileşiklerdir. Sentetik olarak üretilmeleri ile sentetik pyretroidler ortaya çıkmıştır. Pyrethrinlerin insektisit aktivitesi krizantemik (Chrysanthemic) ve piretroik (Pyrethroic) asitlerin ketoalkol (Ketoalcoholic) esterlerinden kaynaklanmaktadır. Bu asitler güçlü lipofiliktirler (Lipophilic) (Yağ tutan-emen) ve birçok böceğe hızlıca nüfuz ederek sinir sistemlerini felç etmektedirler. Kimyasal ve toksikolojik olarak benzer pirethrinler ışık, sıcaklık ve neme karşı oldukça hassastırlar (Anonim 2014b)

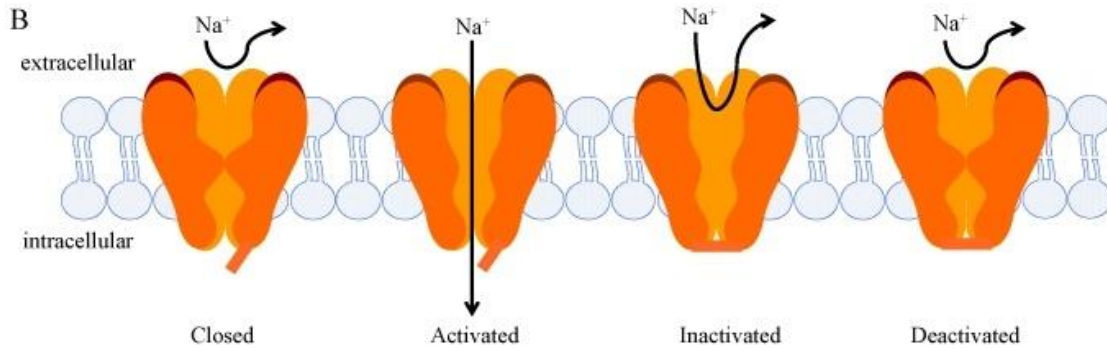
Piretroidler "Rothamsted Research" bilim adamları tarafından ilk defa 1900'lü yılların sonunda giriş yapmış takiben pyrethrin I ve II'nin yapısı 1920'lerde Hermann Staudinger ve Leopold Ružička tarafından tanımlanmıştır. Piretroidler pyretrumda bulunan doğal versiyonunun analogunun sentezi ile kimyada büyük ilerleme sağlamıştır. Yüksek insektisit aktivitesi, nispeten düşük memeli toksitesine ve nadiren hızlı biyolojik bozulmaya sahiptirler. Gelişimleri DDT kullanımı sonucundaki problemlerin belirlenmesiyle aynı zamana rastlamaktadır. *Pyrethrum* uçan böcekleri hızlı bir şekilde yere sermektedir ve önemsenmeyecek kalıcılığa sahiptir. Bu özellik çevre için iyi olmakta fakat arazide uygulandığında düşük etki göstermektedir.

Birinci generasyon piretroidler 1960'larda geliştirilmeye başlamıştır bunlar; bioallethrin, tetramethrin, resmethrin ve bioresmethrin. Doğal *pyrethrum*'dan daha aktiflerdir fakat gün ışığına dayanıksızdır. *Piretrum* ve birinci generasyon piretroidlerin aktivitesi sinerjist piperonyl butoxide ilave edilerek artırılmaktadır.

Rothamsted Ekibi 1974'lerde ikinci generasyon oldukça kalıcı bileşiklerini bulmuşlardır bunlar; permethrin, cypermethrin ve deltamethrin. Işık ve hava bozulmasına (parçalanma) karşı büyük ölçüde dayanıklı olması tarımda kullanıma elverişli yapmaktadır fakat diğerlerine nazaran yüksek memeli toksitesine sahiptir. Daha sonraki yıllarda fenvalerate, lambda-cyhalothrin ve beta-cyfluthrin özel firmalarca tescil edilmiştir (Anonim 2014c)

Piretroidlerin yoğun olarak kullanımı dünyanın farklı yerlerinden bir çok zararlı direnci olayına izin vermektedir. Piretroidlerin ana hedefi voltage- gated sodyum kanallarıdır. Piretroid direncindeki ana mekanizmalardan biri knockdown (Nakavt) direnci (kdr) olarak isimlendirilen bu insektisitlere karşı sinirsel hassasiyetteki azalıştır. Kdr ilk defa evsineklerinde belirlenmiş ve neticede evsineğinde sodyum kanalı lokusundaki 1014 (L1014F) pozisyonunda leucine'den phenylalanine değişimi ile sonuçlanan tek nukleotid polimorfizm haritalaması yapılmıştır. İkinci bir mutasyon L1014F ile aynı anda olan M918T (L1014F+ M918T) genotipi piretroidlere yüksek seviyede dirence izin vermektedir ve süper-kdr olarak isimlendirilmektedir. Kdr mutasyonları birçok artropoda global olarak belirtilmiştir ve sodyum kanallarının kdr'den sorumlu olduğu iyi şekilde belirlenmiştir. Kdr mutasyonlarının belirlenmesi arazi popülasyonlarında kdr-tabanlı direnci belirlemede hızlı ve kesin moleküler metodların gelişmesine izin vermektedir. Piretroidlere dirençli birçok zararlı türünde sodyum kanal mutasyonları belirlenmiştir ve piretroid direnci ile ilişkili birçok yeni mutasyonlar farklı arthropodlarda sodyum kanalda belirlenmeye devam etmektedir (Şekil 2.3) (Rinkevich vd 2013).

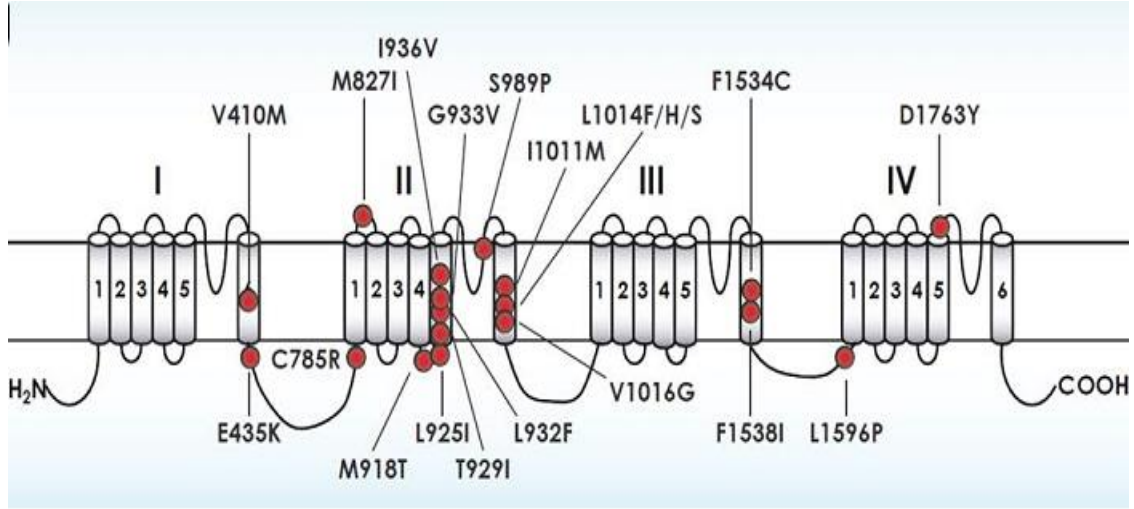
Voltage-gated sodyum kanalları sinir sisteminde ve diğer uyarılabilir hücrelerin aksiyon potansiyellerinin başlaması ve yayılmasının esas sorumlusudur. Voltage- gated sodyum kanalla ilgili bilgilerimiz memeli sodyum kanallarından kaynaklanmaktadır. Memeliler en az dokuz sodyum kanal geninden oluşurken böcekler sadece bir sodyum kanal genine sahiptir. İlk sodyum kanal geni '*para*' *Drosophila melanogaster*'de tanımlanmıştır. Dört alandan (Domain) oluşmaktadır (I-IV) ve herbiri altı alt membrandan oluşmaktadır (S1-S6) (Şekil 2.1. ve Şekil 2.2.). Sodyum kanallarının açılması ve kapanması voltaj tabanlıdır. Membrane depolarizasyonuna karşılık, S4 segmentleri (voltaj sensorleri) dışa doğru açılarak voltaja-bağlı aktivasyonunu başlatır ve etkinleştirme kapısının açılması ile sonuçlanır. Açıldıktan birkaç milisaniye sonra inaktif olmaktadır (Rinkevich vd 2013).



Şekil 2.1. Voltage gated sodium kanalı

Sodyum kanallarının aktivasyonunu (açılmasını) inaktivasyon ve deaktivasyon (kapanma) takip eder. Açık ve kapalı durumlar arasındaki hal değişikliği elektriksel uyarıların (impuls) üretilmesi ve yayılması ile bağlantılıdır. Piretroidler deaktivasyon ve inaktivasyona geçişi değiştirerek kanalın açıklığını uzatmaktadırlar. Hücresel düzeyde piretroidler sinir fonksiyonunu bozarak tekrarlı salım, membrane depolarizasyonuna ve sinaptik karışıklığa sebep olmaktadır. Piretroidler özellikle tip II piretroidler tercihen

active (açık) durumdaki böcek sodyum kanalları bağlanarak kanalın açık kalmasını uzatmaktadır (Rinkevich vd 2013).



Şekil 2.2. Voltage Gated sodium kanaldaki direnç mutasyon bölgeleri

Anthony vd (1998), birçok tatlı patates beyazsineği (*B. tabaci*; SPW) popülasyonunda asetilkolinesteraz (AChE) insektisit hassasiyetini karakterize etmek için biyokimyasal bir yaklaşımı kullanmışlardır. Hassas ve hassas olmayan SPW popülasyonlarını ve bireysel beyazsinek genotiplerini ayırt etmek için insektisitlerin ayırdedici dozlarını belirlemişlerdir. Bu teknik daha sonra birçok SPW popülasyonunda AChE allellerinin sıklığını belirlemek ve heterojen B-tipi popülasyonundan hassas olmayan AChE homozigot bir hat izole etmek için kullanılmıştır. Değişmiş AChE genotiplerinin varsayılan kalıtımı *B. tabaci*'nin ileri sürülen haplo-diploid durumuyla tutarlıdır. Bu biyokimyasal testleri aynı zamanda farklı seleksiyon yöntemlerine tabi tutulmuş birçok laboratuvar popülasyonlarının gözlemlenen direnç profillerinde hassas olmayan AChE'nin rolünü belirlemek için kullanmışlardır. SPW'deki insektisit direnci üzerine yapılan önceki çalışmalarla uyumlu olarak, direncin sadece B-tip ile ilişkili olmadığını fakat ürün sistemlerinde bulunan SPW popülasyonları ile olduğunu belirtmişlerdir.

Morin vd (2002) voltage gated sodyum kanalının piretroit insektisitlerin birinci hedef bölgesi olduğunu belirtmişlerdir. Bazı böceklerde piretroitlere süper knockdown direnci (super-kdr) para-tip sodyum kanal protein domain II (IIS4-5)'in transmembrane segmenti 4 ve 5 arasındaki bağlayıcı (linker) fragmentdeki nokta mutasyondan kaynaklandığını belirtmişlerdir. Çalışmalarında beyazsinek *Bemisia tabaci*'nin para-tip sodyum kanalının IIS4-5 linkerdeki iki mutasyonu 918 pozisyonunda (M918V) Methionine den valine ve 925 pozisyonunda (L925I) leucine den isoleucine tanımlamışlardır. Her ne kadar her bir mutasyon piretroit+organofosfat karışımına > 100 kat dirençli popülasyondan bağımsız olarak izole edilmiş ise de sadece L925I araziden 2000 ve 2001 yılında toplanan popülasyonlarda dirençle ilişkilidir. L925I mutasyonu fenprothrin + acephate'ın ayırıcı dozunda canlı kalan arazi popülasyonunun tüm bireylerinde görülmüştür. Çiftleşmemiş F1 dişilerin hemizigot erkek yavrularının linkage analizi (L925IXwildtype) gözlemlenen direncin voltage

gated sodyum kanalı lokusu ile sıkıca bağlı olduğunu göstermiştir. Sonuçlar *B. tabaci*'de piretroit direncini daha iyi gözlemlemek, yönetmek ve anlamak için moleküler bir yaklaşım sağlamıştır.

Alon vd (2006) Çalışmalarında Q biyotipinde para-type sodyum kanalındaki piretroid direnci ile ilişkili iki mutasyonu; L9251 mutasyonu B biyotipinde de varolan ve threonine'den valine değişimi 929 pozisyonunda (T929V) tanımlamışlardır. Bütün dünyadan toplanmış 13 B ve Q biyotiplerinin DNA bölgelerinin L9251 ve T929V mutasyonlarını tek veya çoklu orijine sahip olduğunu belirlemek üzere sekansını yapmışlardır. Surveyleri beş direnç alleli ve beş hassas alleli belirlemiştir. Dirençli allellerde, biyotipler içinde nükleotit farklılığı düşük (0.001), ancak biyotipler arasında yüksektir (0.003). Hassas allellerde nükleotid farklılığı iki biyotip arasında yüksektir (0.028). Bu gözlemleri direncin bağımsız çoklu orijini ile tutarlıdır. Sonuç olarak akdeniz havzasında birçok bölgede B ve Q biyotipleri bir arada bulunmasına rağmen, para-type voltage gated sodyum kanalı lokusunun DNA sekanslarının ayrılması bu biyotipler arasında az ya da sıfır olduğunu belirtmişlerdir.

Roditakis vd (2006) çalışmalarında Yunanistan'dan toplanmış epeyce yüksek dayanıklılığa sahip *B. tabaci* popülasyonu (GRMAL-RP) α -cypermethrine direnç mekanizmalarını araştırmışlardır. Sitokrom P450 monooxygenase aktivitesi ethoxycoumarin substratı ile ve α -naphtil asetat, β - naphtil –asetat ve paranitrofenol-asetat substratları ile karbositesteraz aktivitesi GRMAL-RP'de, SUD-S popülasyonu ile kıyaslandığında oldukça yüksek olur iken, 1-kloro-2,4-dinitrobenzen substratı ile glutathione-S-transferaz aktivitesinin farklı olmadığını gözlemlemişlerdir. Metabolik inhibitörler piperonyl butoxide ve S,S,S- tributyl phosphorotrithioate, GRMAL-RP popülasyonunda cypermethrin toksisitesini sinerjise ederken, ölüm oranı hassas popülasyondan biraz az iken bunun ilave direnç mekanizmalarının varlığını gösterdiğini belirtmişlerdir. GRMAL-RP popülasyonunun para sodyum kanalı geninin IIS4-IIS6 bölgelerinin sekans analizi SUD-S hassas popülasyon ile karşılaştırıldığında iki amino asidin yer değiştirdiğini gözlemlemişlerdir. Bunlardan birtanesinin önceleri beyazsinek piretroid direncini içine alan 925 pozisyonundaki (L925I) "leucine den isoleucine" değişimi ve *B. tabaci* için özgün kdr direnç mutasyonu, 929 pozisyonundaki (T929V) "threonine'den Valine" değişimi olduğunu bildirmişlerdir. Genotip analizleri L925I ve T929V tüm test edilen GRMAL-RP erkeklerinin tümünde ortalama 1:1 frekansı ile mevcut fakat hiçbir zaman aynı haplotipte kombinasyon göstermediğini belirtmişlerdir.

Tsagkarakou vd (2009) Çalışmalarında *B. tabaci*'deki asetilkolinesteraz enzim ace 1'deki organofosfat direnç mutasyonu iAche F331W ve para-tip voltage gated sodyum kanaldaki direnç mutasyonları T929V ve L925I'nın güvenilir şekilde görüntülenebilmesi için basit PCR- agaroz jel görüntüleme sistemi geliştirmişlerdir. PCR-RFLP assaylerini L925I ve F331W mutasyonlarını tespit etmek için geliştirmişlerdir. Yüksek spesifik PASA T929V mutasyonunu tespit etmek için geliştirmişlerdir. Moleküler teşhis araçları Yunanistan'da organofosfat ve piretroitlerin yoğun kullanıldığı alanlardan geniş sayıda toplanan *B. tabaci* Q biyotiplerinde direnç mutasyonlarının frekansının görüntülenmesi için kullanmışlardır. F331W mutasyonunun tüm arazi bireylerinde mevcut olduğu belirlenmiştir. Piretroit direnç mutasyonunu yüksek frekanslarda tespit etmişlerdir: 0.38 ve 0.54 sırasıyla L925I ve T929V için. Sonuç olarak sade teşhislerin kesin ve sağlam olduğunu, klasik

biyoassayler ile birlikte kullanılarak etkisiz insektisit uygulamalarını önlemek ve dünyadaki dirençli Q biyotipi popülasyonlarının yeni bölgelere yayılarak girişinin erken tanısı için kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

2.3.2. Neonikotinoid insektisitler

Neonikotinoidler sinirsel etki sınıflı kimyasal olarak nikotine benzeyen insektisitlerdir. Neonikotinoidler daha önceleri kullanılan organofosfatlı ve karbamatlı insektisitler ile kıyasalandığında böcekler göre kuşlar ve memelilere daha az toksiktirler. Neonicotinoid ailesi acetamiprid, clothianidin, imidacloprid, nitenpyram, nithiazine, thiacloprid ve thiamethoxamı içermektedir ve imidacloprid dünyada en yaygın kullanılan insektisittir (Anonim 2014d).

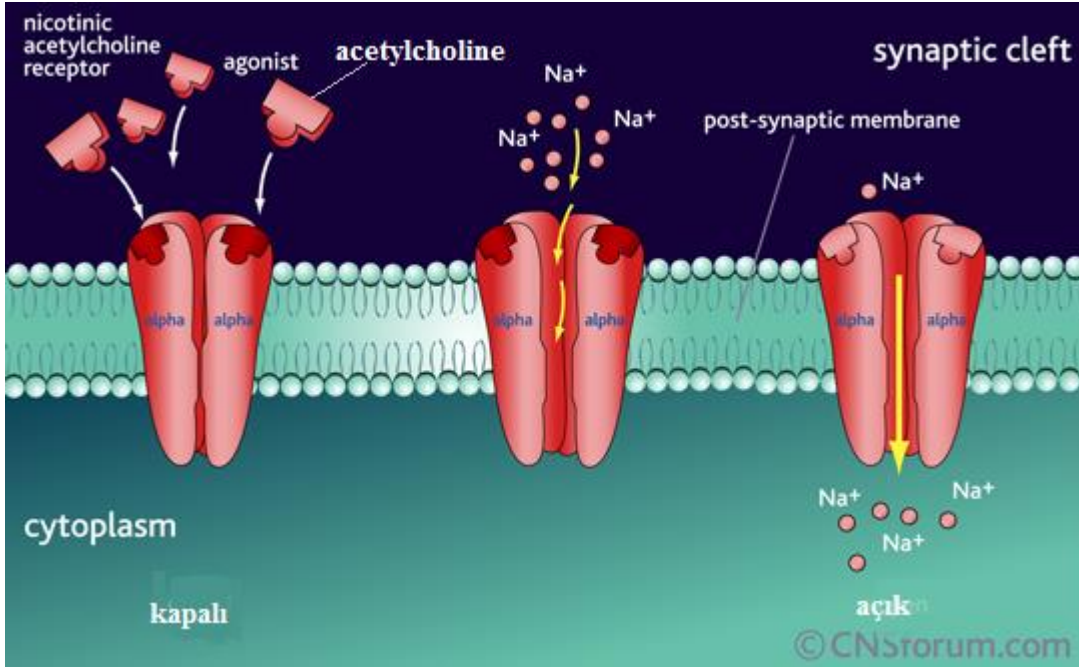
Bazı neonicotinoidlerin çevresel etkileri üzerine 2000'lerin sonunda incelemelerde artış olmuştur. Neonicotinoidlerin kullanımı kötü ekolojik etkileri üzerine çalışmalarla ilişkilidir. Birçok ülke bazı neonicotinoidlerin kullanımını kısıtlamış yada yasaklamıştır (Anonim 2014d).

Nithiazine ilk olarak bir kimyacı tarafından sentezlenmiştir. Araştırmacılar bu ön maddenin insektisit potansiyeli gösterdiğini bulmuşlar ve nithiazine'ni geliştirmek için saflaştırmışlardır. Nithiazine daha sonra postsinaptik asetilkolin reseptör benzeri olarak bulunmuştur, nikotin ile aynı etki şeklini göstermektedir. Nithiazine asetilkolinesteraz inhibitörü olarak, organofosfat ve karbamat insektisitler gibi etki etmemektedir (Anonim 2014d).

Neonicotinoidler nikotin gibi hücrenin nikotinik asetilkolin reseptörüne bağlanmakta ve o hücre tarafından tepki başlatmaktadır. Bu reseptörlerin düşük- orta hareketlenmesi sinir uyarılmasına neden olurken, yüksek seviyelerdeki aşırı uyarılma ve reseptörlerin blokesi paralise (felç) ve ölüme neden olmaktadır. Nikotinik asetilkolin reseptörleri sinir taşıyıcı asetilkolin tarafından aktive olmaktadır. Asetilkolin bu reseptörlerden gelen sinyalleri yok eden asetilkolinesteraz tarafından bozulmaktadır. Ancak asetilkolinesteraz neonicotinoidleri bozamamakta ve bağlanma değiştirilememektedir. Çoğu neonicotinoid böcek sinir nöronlarına memeli sinir nöronlarından daha güçlü bağlanmakta, bu insektisitler seçici olarak böcekler memelilerden daha toksiktir (Anonim 2014d).

Imidacloprid neonicotinoid kimyasal sınıfına dahil olan böcek sinir toksini olarak etki gösteren sistemik insektisittir. Kimyasal böcek sinir sisteminde uyarının iletimine karışarak etki eder. Özellikle nicotinerjik nöronal yolu engellemeye sebep olur. Engelleme böceğin felç olmasıyla sonuçlanır ve neticede ölür. İmidacloprid ilk ticari neonicotinoidtir. Sistemik pestisit imidacloprid bitkilerin ksileminde topraktan yaprak, meyve ve polen içinde kolayca yer değiştirir veya hareket eder (Anonim 2014d).

Nikotinik asetilkolin reseptörü sinir iletiminin ana araçlarından biridir. Bu reseptöre iki asetilkolin molekülü bağlanarak aktive olmaktadır. Sinaptik yarığın dışındaki pozitif iyonların hareketine izin veren ligand gated iyon kanalıdır. Reseptör, iki alfa, bir beta, bir gamma ve bir delta alt ünite olan beş alt ünitelerden oluşmaktadır (Şekil 2.4).



Şekil 2.3. Neonikotinoidlerin hedefi Ligand gated iyon kanalı

Byrne vd (2003) çalışmalarında kesilmiş pamuk yaprakları kullanılarak yapılan sistemik alım bioassaylerinin tütün beyazsineği *B. tabaci*'nin Guatemala popülasyonunda imidaclopride dayanıklılığı desteklediğini belirtmişlerdir. Çalışmalarında naftil esterazlar poliakrilamid jel elektroforezleri ile böcekleri B biyotipi olarak tanımlamışlardır. Araziden toplanan popülasyonda direnci hassas popülasyona göre 58 kat olarak belirlemişlerdir. Direnç seviyesinin pamukta sistemik olarak devamlı uygulama sonucunda 126 kata kadar yükseldiğini gözlemlemişlerdir. Biyokimyasal araştırmalarda seleksiyon uygulaması süresince herhangi bir anda ^{14}C - imidaclopridin NADPH- kaynaklı karışık fonksiyon oksidaz metabolizması tespit edilememiştir. Diğer taraftan ev sinekleri abdomeninde mikrosomal preparasyonların ana bileşikleri olefin türevi ve mono-hidroksinin çabuk ve çok miktarlarda üretildiğini gözlemlemişlerdir. Imidaclopridin evsineği MFO'su tarafından detoksifikasyonu, bu böceğe karşı düşük insektisit toksitesi raporları için beyazsinekle karşılaştırıldığında açıklama olabileceğini belirtmişler, buna rağmen her iki türdede imidacloprid ve nikotinik asetilkolin reseptörleri arasında benzer bağlanma özellikleri olduğunu bildirmişlerdir.

Rauch ve Nauen (2003) çalışmalarında İsrail'de B biyotipinde ilk defa yüksek neonicotinoid çapraz direnci tespit etmişlerdir. İmidacloprid hedef bölge direncini bu yüksek dirençli popülasyonlarda nikotinik asetilkolin reseptördeki (nAChR) bağlanma (^3H) assaylarında tespit edememişlerdir. Çalışmalarında aynı zamanda Neonikotinoid direncinde metabolik enzimlerin etkisini esteraz, Glutathion S-transferaz ve sitokrom P450 bağlantılı monooksijenaz yapay substratları ile biyokimyasal olarak belirlenmiştir. Monooksijenaz aktivitesi normal dirençli popülasyonlarda (RF 30) 2-3 kat artarken, yüksek dirençli popülasyonda (RF~1000) 5-6 kat arttığını tespit etmişlerdir. Monooksijenaz aktivitesinin sadece imidacloprid, thiamethoxam ve acetamiprid direnciyle ilişkili olduğunu ve bu nedenle monooksijenazın *B. tabaci* B ve Q biyotipinde neonicotinoid direncinden sorumlu tek enzim sistemi olarak görüldüğünü

belirtmişlerdir. Dirençli Q biyotipi popülasyonunda imidaclopridin oksidatif degradasyonunu in vivo olarak (^{14}C) imidacloprid metabolizma çalışmalarıyla desteklendiğini belirtmişlerdir. Beş-hidroxy-imidaclopridi sadece ana metabolit olarak tespit etmişlerdir. Bu bileşiğin nAChR'ye bağlanma eğilimini ve insektisit aktivitesini *B. tabaci*'de imidaclopridden 10 kat daha düşük bulmuşlardır.

Karunker vd (2008) çalışmalarında *B. tabaci* imidacloprid direnciyle ilişkili olabilecek P450 cDNA sekansı belirlemek için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) teknolojisini, dejenere primerler kullanılarak korunmuş P450 heliks I ve heme- binding bölgelerini çalışmışlardır. Onbir farklı P450 cDNA sekansı izole etmişlerdir ve CYP4 veya CYP6 ailelerinin üyeleri olarak sınıflandırmışlardır. İmidaclopride güçlü, orta direnç yada hassasiyet gösteren *B. tabaci*'nin 9 B ve Q arazi kökenli popülasyonları arasında real time kantitatif RT-PCR kullanılarak tüm 11 genin mRNA ekspresyon seviyelerini karşılaştırmışlardır. Her iki B ve Q biyotiplerinde imidacloprid direnciyle yakından ilişkili fazla ekspresyondan (17 kata kadar) sorumlu tek P450 geni, CYP6CM1'i bulmuşlardır. Daha sonra dirençli ve hassas Q biyotipi CYP6CM1 allelleri arasında ayıran üç tek nükleotit polimorfizmi (SNP) markırı bulmuşlardır (r-Q ve s-Q sırasıyla) ve r-Q ile direnç arasındaki ilişkiyi test etmek için heterojen popülasyonda kullanmışlardır. Düşük imidacloprid dozunda canlı kalanların r-Q ve s-Q her iki allelide taşıdıklarını, yüksek imidacloprid dozunda canlı kalanların %95'inin sadece r-Q allelini taşıdıklarını belirtmişlerdir. Sonuçları önceki bulgularla birlikte, *B. tabaci*'deki imidacloprid direncinin ana mekanizması P450s'nin yüksek aktivitesini ve arazi popülasyonlarında imidacloprid ve muhtemelen diğer neonicotinoidlerin direncinde rol oynayan DNA tabanlı araştırmaların başlıca hedefi olan CYP6CM1 genini tanımlamışlardır.

Sethi vd (2008) çalışmalarında araziden farklı ürünlerden toplanmış beyazsinek popülasyonlarının imidacloprid, bifenthrin ve fenvalerate karşı direnç geliştirme kapasitesini 8 generasyon selekte ederek araştırmışlardır. Seleksiyon baskısı insektisitle muamele edilmiş yaprak diskleri üzerinde %60-80 ölüm veren dozlar seçilerek erginlere uygulanmıştır. 8. generasyon sonunda bu üç insektisit ile selekte edilmiş popülasyonlar 21.90, 7.12 ve 4.13 kat artış göstermiştir. İmidacloprid selekte popülasyon bifenthrin ve fenvalerate- selekte popülasyonları ile karşılaştırıldığında insektisit direncinin gerçekleşen kalıtımının çok yüksek olduğunu bildirmişlerdir. İmadaclopride direnç gelişimi için bifenthrin ve fenvalerate ile kıyaslandığında arazi popülasyonlarında riskin çok fazla olduğunu göstermektedir. İsektisit direncinin kalıtımının etki şeklinin birden fazla resesif gen tarafından kontrol edildiğini bulmuşlardır.

Byrne vd (2010) imidacloprid ve dinotefuranın yaprak ve toprak uygulamalarının yeni enfekteli poinsettia bitkilerindeki beyazsinek *B. tabaci* B biyotipinin popülasyon oluşturmalarını önlemedeki göreceli etkisini araştırmışlardır. Yaprakların üstündeki ve içindeki pestisit seviyelerini 10 hafta boyunca ELISA ve LC/MS ile bu böceğe karşı neonicotinoid aktivitesinin dinamiklerini daha iyi anlamak için ve ergin ve nimf evrelerini öldürmeye yetecek insektisit konsantrasyonunu belirlemek üzere gözlemlenmiştir. Tüm uygulamaların ergin popülasyonunu kontrolde aynı derece etkili olduğu kanıtlarken, dolayısıyla kontak yaprak uygulamaları amacını başarmıştır, dinotefuranın toprak uygulamaları *Bemisia* popülasyonlarının çoklu-generasyon kontrolü sağlayan tek uygulamadır.

Karunker vd (2009) Bu çalışmada Q biyotipi CYP6CM1 enzim farklılığı ile imidaclopridin interaksyonunu analiz etmede moleküler docking ve dinamik simülasyonlarını kullanmışlardır. Aktif site enziminde en düşük enerji ile bağlanma modunun, kilit amino asitlerle ilişkili olduğu (Phe-130 ve Phe-226) ve varsayılan hidroksilleme sitesi (imidaclopridin imidazolidine ring sistemindeki karbon 5'e en düşük uzaklık) tahmin edilmiştir. CYP6CM1vQ heterolokusunun ekspresyonu, tahminlerinin kesinliğini doğruladığını ve enziminin imidaclopridin daha az toksik 5-hydroxy forma hidroksillemeyi katalize ettiğini kanıtladığını bildirmişlerdir ($K_{cat}=3.2\text{pmol/min/pmolP450}$, $K_m= 3.6\mu\text{M}$). Sonuç olarak verilerine göre zararlı böcek popülasyonlarında insektisitler metabolizm P450 inaktivasyonunu hedeflemiş ve inhibitör dizaynı için CYP6CM1vQ'ı ana hedef olarak belirlenmiştir.

Hameed vd (2010) çalışmalarında yaprak daldırma biyoassaylerini kullanarak Pakistan Pencap'ta üç farklı bölgeden (Bahawalpur, Faisalabad ve Multan) *B. tabaci*'nin endosulfan, imidacloprid, acetameprid ve diafenthiurone hassasiyetini belirlemişlerdir. Tüm *B. tabaci* popülasyonlarının bu pestisitlere hassas olduklarını gözlemlemişlerdir. Bu insektisitlerin kıyaslamalı direnç oranları LC_{50} seviyeleri 1.75-3.60 kat endosulfan için, 1.18- 2.09 kat imidacloprid için, 1.01- 4.29 kat acetameprid ve 1.06-2 kat diafenthiuron için belirlemişlerdir. Bu çalışmada Pakistan'da *B. tabaci*'nin endosulfan, imidacloprid, acetamiprid ve diafenthiurona karşı tolerans farklılıkları ilk kez ölçülmüştür. *B. tabaci* mücadelesinde geleneksel insektisitlerin kullanımının daha iyi sonuçlar sağlayacağını bildirmişlerdir.

2.3.3. Böcek gelişim düzenleyici (IGR)

Aynı zamanda üçüncü generasyon insektisit olarak isimlendirilen Böcek gelişim düzenleyiciler (IGR), böceklerin normal endokrin aktivitesi veya hormon sisteminin bozulmasına (karışık içine iten) yol açarak hedef böceğin gelişim, üreme veya metamorfozisini etkileyen pestisitlerdir. Sentetik kimyasal insektisitlere göre daha yavaş etki şekline sahiptirler. IGR'ler juvenile hormon benzeri ve kitin sentezi inhibitörlerini içermektedirler. Klasik insektisitlerden farklı olarak IGR'ler böcek sinir sistemini etkilememektedirler (Anonim 2014e).

Pyriproxyfen pyridine tabanlı arthropodanın türlerine karşı etkili bulunmuş pestisittir. Amerika'ya 1996 yılında pamuk bitkilerini beyazsinekten korumak için giriş yapmıştır. Aynı evcil hayvanlarda pirelere karşı kullanılmaktadır. Pyriproxyfen juvenile hormon analogudur ve larvanın ergin döneme geçmesine engel olur (Anonim 2014e).

Horowitz vd (2005) juvenil hormon benzeri pyriproxyfene karşı *B. tabaci* arazi popülasyonlarında 1996-2003 yılları arasındaki direnç takibini Ayalon vadisi (Merkez İsrail) ve Carmel Coast (Kuzeybatı İsrail)'daki pamuk tarlalarında çalışmışlardır. Her ne kadar çalışmaları sırasında 1996-1997 yılları arasında pyriproxyfen kullanımı buralarda durdurulsa da pyriproxyfene direnç belirli bir düzeye kadar gerilemiş fakat oldukça stabil kalmıştır ve hassasiyet tamamen eski haline gelmemiştir. *B. tabaci*'nin iki popülasyonu Ayalon Vadisi'nden toplanmış, pyriproxyfendeki hassasiyeti F1'de belirlemişler ve her bir biyotipten bir popülasyonu insektisit uygulaması olmadan kontrollü şartlarda devam ettirmişlerdir. Pyriproxyfene direncin uygulama olmayan popülasyonda 20 generasyon sonunda oldukça düştüğünü, bu düşüşün insektisit

kullanılmayan rejimlerde Q biyotipinin yerini B biyotipinin almasıyla aynı zamanda olduğunu belirtmişlerdir; B biyotipinin pyriproxyfene dirençli Q biyotipinden daha rekabetçi olduğu görüşünü bildirmişlerdir. Kontrollü şartlarda neonicotinoidle seleksiyonları pyriproxyfen dayanıklılığının devamı ile sonuçlanmıştır ki Q biyotipi dominanttır. Sonuç olarak pyriproxyfen veya neonicotinoid uygulamaları Q biyotipi için seçici olabilmekte çünkü uygulandığı yerlerde canlı kalabildiğini belirtmişlerdir.

Crowder vd (2006) çalışmalarında tatlı patates beyazsineği *B. tabaci*, B biyotipi (*B. argentifolii*) tarafından böcek gelişim düzenleyici (IGR) pyriproxyfene direnç gelişimini incelemek için bilgisayar simülasyonu kullanmışlardır. Arizona ve İsrail pamuk (*Gossypium* spp.) arazilerinde görülen birbirleriyle tutarlı trendlere göre, bu haplodiploid böcekte pyriproxyfene direncinin çok hızlı gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Diploid böceklerdeki modelleme sonuçları; toksin konsantrasyonundaki artış ile direnç gelişiminin hızlanması, dişilerde direncin hakimiyeti, direnç allellerinin ilk frekansı ve pyriproxyfen ile muamele edilmiş alanların oranı ile benzer olduğunu belirtmişlerdir. Dirençle alakalı fitness cost tarafından direncin ertelendiğini bildirmişler. Uygulama yapılmış alan ile uygulama yapılmamış alan arasındaki hareketin küçük etkiye sahip olduğunu, bunda muhtemelen uygulama yapılan alanlardaki uygulama yapılmamış pamuk yapraklarının doğal barınma yeri sağlamasından kaynaklandığını bildirmişlerdir. Pyriproxyfene hassasiyette hassas erkekler hassas dişilerden fazla olduğunda direnç gelişiminin daha hızlı olduğunu, diğer bir taraftan dirençli erkeklerin sayısı dirençli dişilerden fazla olduğu zaman direnç gelişiminin daha yavaş olduğunu belirtmişlerdir. Sonuç olarak üreticilerin pyriproxyfeni düşük dozlarda uygulayarak kullanımını uzatabileceklerini ve hassas popülasyonların yaşamasını arttırabileceklerini önermişlerdir.

Wilson vd (2007) Çalışmalarında pyriproxyfen uygulamasından sonra bileşiğin etkisinde zamanla değişim olup olmadığını belirlemek üzere denemeler yapmışlardır. Pyriproxyfen uygulamasının 13 generasyon durdurulması sonrasında dirençte 8 kat azalma tespit etmişlerdir. Direncin geri gelmesinin yanında dönüş olan kolonide biyotik faktörlerin arttığını belirtmişlerdir. Nimf canlılığı, cinsiyet oranı, yumurtlama gücü, yumurta açılma oranı ve gelişme zamanları gibi deneysel değerlendirmeler birleştirildiğinde dirençli böceğin her bir generasyondaki sezonsal maliyetinin ortalama %25 olduğunu belirtmişlerdir. Biyoassaylerdeki gözlemlerden elde edilen verilere dayanılarak optimize edilen genetik bir simülasyon modeli, dirençli homozigot (RR) dişiler ve heterozigot (R) erkekler için tahmin edilen maliyetin generasyon başına %19 olduğunu ve geriye dönmenin üretilmiş oranları deneysel sonuçlarla benzerlik gösterdiğini belirtmişlerdir. Modele göre, pyriproxyfen uygulaması olmadan 5 yıl sonra (~55 generasyon) direnç allellerinin (R) frekansının hala yüksek (0.02) olarak kaldığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak deneysel ve modelleme sonuçlarına göre *B. tabaci*'de geriye direnç gelişiminin limitli olduğunu belirtmişlerdir.

Crowder vd (2008a) *B. tabaci* (B biyotip) dişi ve erkekleri üzerinde böcek gelişim düzenleyici pyriproxyfenin etkilerini laboratuvar biyoassayleri ile değerlendirmişlerdir. Böceklerin nimf yada yumurtalarına pyriproxyfen uygulamışlardır. Tüm testlerinde laboratuvar seleksiyon dirençli popülasyon için LC₅₀ değeri seleksiyon yapılmamış hassas popülasyona göre 620 kat fazladır. Böceklerin yumurtalarına yaptıkları uygulama sonucunda her iki popülasyonda da erkek ya da dişi

canlılığında fark yoktu. Nimflere yapılan uygulamaları sonucunda canlı kalan hassas erkek ve dişi arasında fark olmaz iken, dirençli erkekler dirençli dişilere göre yüksek ölüm oranı sergilemişlerdir. Direncin test edilen en düşük konsantrasyonda kısmen ya da tamamen, en yüksek konsantrasyonda ise tamamen resesif olduğunu belirtmişlerdir. Sonuç olarak eğer bu çalışmada kullanılan laboratuvar selekte popülasyonu ile arazi popülasyonu bireyleri benzer özellikte ise pyriproxyfene direnç gelişiminin çabuk olacağını bildirmişlerdir.

Crowder vd (2008b) pyriproxyfenin Arizona’da pamukta tatlı patates *B. tabaci* (B biyotipe)’ ne karşı integre zararlı mücadele (IPM) programının parçası olarak kullanılan önemli bir insektisit olduğunu belirtmişlerdir. Pyriproxyfen konsantrasyonunun, insektisit aksiyon eşiği, ürün çeşitliliği, dikim zamanı ve *B. tabaci*’de pyriproxyfene direnç gelişiminde pyriproxyfenin parçalanması etkisini belirlemek üzere simülasyon modeli kullanmışlardır. Modelde pyriproxyfen kullanımı sezonda bir uygulama limiti ile pamukta sınırlanmış. Diğer model parametreleri arazi ve laboratuvar denemelerindeki verilere dayandırılmıştır. Beyazsinek popülasyon yoğunluğu ve yıldaki insektisit uygulama sayısı direnç gelişimini arttırmaktadır. Düşük pyriproxyfen konsantrasyonunda direnç gelişimi yavaş olmaktadır. Pyriproxyfen için düşük aksiyon eşiği ve diğer insektisitler için yüksek aksiyon eşiğinde aynı zamanda yavaş direnç oluşumu gözlemlenmiştir. Her ne kadar, pyriproxyfen için düşük aksiyon eşiği yüksek pyriproxyfen konsantrasyonu ile yılda daha fazla insektisit uygulaması ile sonuçlanmaktadır. Pyriproxyfene direnç gelişimi yoğun pamuk alanlarında daha hızlı olurken, farklı ürün bölgelerinde daha yavaş olduğunu bildirmişlerdir. Bazı durumlarda; direnci geciktirme stratejileri IPM açısından etkili olmaktadır. Bununla beraber bazı direnci geciktirme stratejileri yüksek popülasyon yoğunluğu ile sonuçlanmaktadır. Sonuçları; üreticiler tarafından kontrol edilebilen çevresel ve operasyonel faktörlerin modifikasyonu pyriproxyfenin etkinliğini uzatacağını göstermektedir.

Dennehy vd (2010) Arizona’da 2004 yılında rutin direnç izleme sırasında beyazsinek *B. tabaci*’nin geniş çapta insektisitlere karşı yüksek seviyede dirence nadiren sahip olan bir popülasyonu keşfetmişlerdir. Dirençli böcekleri poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) üzerinde çoğaltmışlar ve laboratuvarında biyotip analizine tabi tutmuşlardır. Naphtol esterazların poliakrilamid jel elektroforezi ve mitokondriyal sitokrom oksidaz I geninin (780 bp) sekansı *B. tabaci* Q biyotipinin New World’da ilk tespitini onaylamaktadır. Bu U.S Q biyotip popülasyonu poinsettia’04 olarak isimlendirilmiş ve iki seçici böcek gelişim düzenleyici pyriproxyfen ve buprofezin ve fenprothrin ve acephate karışımına karşı yüksek dirençli olduğu belirtilmiştir. Aynı zamanda imidacloprid, acetamiprid ve thiamethoxam neonikotinoid insektisitlere B biyotipine göre düşük hassasiyete sahip olduğunu bildirmişlerdir. Arizona’da 2001 den 2005’e kadar pamuk (*Gossypium*), sebze ve kavun (*Cucumis melo*) tarlalarında toplanan 100 beyazsinekte Q biyotipini tespit edememişlerdir. Sonuç olarak birleşik devletlerin *B. tabaci* B biyotipinin 1980’lerdeki girişi ile ciddi etkilenmiş bölgeleri, Q biyotipinin kontrollü ortamlardan arazi sistemlerine geçişinde limitler olduğu fikrini vermektedir ve bu dirençli biyotip ile mücadelede alternatif formülasyonlar kullanılması gerektiğini önermektedirler.

Ma vd (2010) Çalışmalarında araziden toplanan dirençli popülasyonlarda direnç mekanizmasını ve dirençli beyazsineklerin mücadelesinde optimum stratejiyi belirlemişlerdir. Sinerjizm biyoassayleri laboratuvar selekte popülasyon QCO2’deki

direnç, piperonyl butoxide (PBO) ve diethyl maleate (DEM) ile kısmen durdurulabilirken, S, S, S-tributyl phosphorotrithioate (DEF) ile durdurulamadığını göstermiştir. Sinerjizm biyoassay sonuçları ile enzimatik assay sonuçlarına göre sitokrom P450 monooxygenaz (P450) ve glutathione S-transferases (GST) enzim aktivitelerinin yüksek olduğunu fakat hassas popülasyona göre pyriproxyfen- dirençli QCO2 popülasyonunda esterazlarda ciddi yükseklik olmadığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak beyazsinek pyriproxyfen direncinde P450 ve GST her iki enzim sisteminde rol oynadığını belirtmişlerdir.

Horowitz ve Ishaaya (2014) çalışmalarında İsrail'in birçok lokasyonunda *B.tabaci* biyotiplerinin geniş surveyi ve insektisitler üzerindeki etkilerini 2003'ten 2012'ye kadar pamuk tarlalarında ve diğer ürünlerde yürütmüşlerdir. Farklı alanlarda *B. tabaci*'nin iki biyotipi B ve Q'yu saptamışlardır ve biyotip dinamiklerindeki farklılıkları kaydetmişlerdir. Kuzey İsrail'de 2003'ten 2007'ye erken sezonda yüksek oranda B biyotipi sürekli olarak bulunmuştur. Ancak sezon sonunda %60 dan %100'e varan oranda Q biyotipinin belirli yükselişi ile birlikte böcek gelişim düzenleyici (IGR) pyriproxyfene yüksek direnç ve neonicotinoid insektisitlere daha az boyutta örneklenmiştir. İsrail'in merkez bölümündeki arazilerde Q biyotipi tüm sezon boyunca pyriproxyfene yüksek dirençle birlikte baskın bulunmuştur. 2009'dan beri biyotip oranlarında ciddi bir yer değiştirme gözlemlenmiştir: bir çok arazide B biyotipi %90 veya daha fazla oranda Q biyotipine dominant olmuştur. Aynı zamanda IGR pyriproxyfene dirençte oldukça azalma gözlemlenmiştir. *B. tabaci* biyotiplerinin değişim dinamiklerinin muhtemel sebepleri ve direnç yönetimindeki etkilerini tartışmışlardır. İsrail'de pyriproxyfene *B. tabaci*'deki güçlü direncin B biyotipine göre Q biyotipi ile alakalı olduğunu bildirmişlerdir. B biyotipi uygulama yapılmayan şartlarda Q biyotipine göre daha rekabetçidir. Sonuç olarak son yıllardaki pamuk tarlalarının dönüm miktarındaki azalış ile beraber insektisit kullanımındaki özellikle pyriproxyfendeki azalışın B biyotipinin çoğalması ile sonuçlandığını belirtmişlerdir.

2.3.4. Spiromesifen

Kontsedalov vd (2008) spiromesifen lipit metabolizma enzimi olan asetil-CoA-karboksilaz'ın inhibi edilmesi yoluyla beyazsinek ve akarlar karşı etki eden "spirocyclic tetronic asit" türevi yeni bir insektisidal/akarisidal bileşiktir. Bileşiğin arazi değerlendirmeleri için temel etki eşiği oluşturmak üzere spiromesifenin beyazsinek *B. tabaci* gelişme evreleri üzerindeki etkilerini laboratuvar koşullarında çalışmışlardır. Spiromesifen (5mg/L⁻¹) uygulamasından sonra ergin ölüm oranı % 40 ve her bir dişi için 0.5mg/L⁻¹ ile uygulamanın fekunditeyi %80 oranında azalttığını ve döllemenin hemen hemen sıfır olduğunu bildirmişlerdir. Yumurtalar için LC₅₀ 2.6 mg L⁻¹ ve birinci dönem için 0.5mgL⁻¹dir. Taramalı elektron mikroskopuna göre uygulamaya tabi tutulmuş dişilerin bıraktığı yumurtalar anormal chorion deliği ve dişilerin ovipozisyonu tamamlayamadığını göstermiştir. Işık ve florasen mikroskobu uygulamayı takiben küçük yumurtalar ve nimfler ile yumurtalarda daha küçük, anormal formda ve yanlış yerleşmiş bakteriomlar olduğunu göstermiştir. Her bir dişide sayılan ovarioolar 5mgL⁻¹ uygulamasında azalmıştır. Spiromesifen farklı kimyasal gruptaki insektisitlere çapraz direnç göstermemiştir ve bir yıl sonunda İsraildeki direnç taramalarının bu insektisite karşı direnç geliştirmedeğini göstermiştir. Çalışmalarının sonucunda spiromesifenin *B. tabaci* ergin öncesi evrelerine karşı eşsiz etki mekanizması ve güçlü etkisiyle birlikte

farklı kimyasal gruptaki insektisitlere çapraz direnç olmaması ile zararlıya karşı kullanılmasını tavsiye etmektedirler.

Prabhaker vd (2008) çalışmalarında tetronik asit türevi spiromesifene hassasiyeti üç imidacloprid-dirençli popülasyonda ve *B. tabaci* (= *B. argentifolii*)'nin Kaliforniya ve Arizona'dan 12 coğrafi olarak farklı doğal popülasyonunda laboratuvar biyoassayları ile belirlemişlerdir. Yeni çıkan birinci nimflere spiromesifenin farklı sıvı dozları uygulanmış ve hassasiyet baseline verilerini oluşturmak için toksisitesi değerlendirilmiştir. Popülasyonlar arasında spiromesifene hassasiyetteki varyasyon doğal popülasyonlardaki beyazsineklerde 29 kata kadar gözlemlenmiş; ancak test edilen dirençli ve hassas doğal popülasyonlar arasında sadece 30 kat fark gözlemlenmiştir. Genel olarak spiromesifen tüm coğrafik yayılımdakilerde birinci nimflere oldukça toksiktir, LC₅₀ değerleri 0.210 dan 6.08µg (AI)/ml'ye kadar değişmektedir. Varyasyonun derecesi üç dirençli popülasyon arasında çok düşüktür. Bu sonuçlar test edilen tüm popülasyonlar arasında spiromesifene hassasiyetin gözlemlenen farklılığı doğal varyasyonun yansıması olduğunu göstermektedir, muhtemelen her bir bölgede önceki insektisitlere maruz kalmadan kaynaklanmaktadır. Aynı zamanda spiromesifenin etkinliği üç arazi ve iki dirençli beyazsinek popülasyonunun tüm ergin öncesi dönemlerinde belirlenmiştir. Spiromesifen kaydedilen LC₅₀ değerlerine dayanarak dördüncü nimf ile kıyaslandığında beyazsineğin erken nimf dönemlerine karşı daha etkilidir. Spiromesifen *B. tabaci*'nin İspanya'dan neonikotinoidlere yüksek dirençli Q biyotipi popülasyonlarına karşı etkilidir. Bu çalışmanın sonuçları spiromesifenle daha yaygın kullanılan neonikotinoidler arasında çapraz direncin olmadığını kanıtlamaktadır. Araştırmacılar spiromesifenin diğer kimyasallarla rotasyon içinde beyazsinek için direnç yönetim programlarında ideal bir aday olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Ilias vd (2012) Çalışmalarında Yunanistan'dan insektisitlere farklı seviyelerdeki direnç sahip *T. urticae* ve *B. tabaci* popülasyonlarına karşı ketoenoller spiroidiclofen ve spiromesifenin etkisini aynı zamanda her iki zararlıyı sürdürülebilir kontrol için insektisit direnç yönetimindeki potansiyel rollerini değerlendirmişlerdir. Spiroidiclofene direnç *T. urticae* popülasyonlarında gözlemlenmemiştir. On popülasyondan dokuzu pirimiphos-methyl (23-kata kadar), pyridaben (39 kata kadar) ve fenazaquine (42 kata kadar) direnç gelişimi göstermiştir. Onlardan iki tanesi yüksek direnç oranı (RR) sergilemiştir, bifenthrin (RR=81,351) ve bir tanesi fenbutatin oxide (RR=146). Bu dokuz popülasyonda spiroidiclofene (RR<5) çapraz direnç yoktur. Gül serasından test edilen pestisitlerin çoğuna yüksek seviyede direnç (RR=8413, 1494,434 ve 74 sırasıyla bifenthrin, fenbutatin oxide, abamectin ve pirimiphos-methyl) sergileyen bir popülasyon spiroidiclofene (R=12) azalmış hassasiyet göstermektedir. *B. tabaci*'de on bir arazi popülasyonu arasındaki spiromesifene tepki varyasyonu çok düşüktür. Birçoğu imidacloprid ve alpha-cypermethrine yüksek seviyede direnç sergilemektedir. Spiromesifenin LC₅₀'si 4.5 den 14 mg/l arasında değişmektedir ve ilgili LC₉₅ değerleri önerilen arazi dozunun epey altındadır. Ketoenol direnç risk potansiyeli aynı zamanda her iki türün popülasyonlarına karşı laboratuvar şartlarında sürekli seleksiyon baskısı altında tutularak araştırılmıştır. Fakat LC₅₀ de herhangi bir artış tespit edilememiştir. Ketoenollerin Yunanistan'da her iki zararlı için diğer pestisitlerle rotasyonda etkili bir kimyasal araç olarak direnç yönetiminde kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

2.3.5. Direnç düzeyi belirleme çalışmaları

Rauch ve Nauen (2004) Çalışmalarında GST aktivitesi *B. tabaci* hassas ve dirençli popülasyonlarında yapay substratlar, 1-chloro-2 dinitrobenzen (CDNB) fotometrik mikrolaka biyoassaylere göre, monochlorbimane (MCB) florometrik mikrolaka biyoassaylerine göre belirlemişler ve Michaelis-Menten kinetiklerini karakterize etmişlerdir. Etharynic asidin inhibitor potansiyeli IC₅₀ değerleri 0.9 ve 5.8 µM ile substrat ve popülasyona bağlı olarak çok etkilidir. Dicumarol inhibitör etkisi 10 kat daha düşüktür. Glutathione-İlgili kromatografi iki farklı *B. tabaci* popülasyonunda SDS-PAGE’de tek bant görünen ve MALDI kütle spektrofotometrede 23.5 kDa molekül ağırlığı belirlenen GST enzimlerini saflaştırmışlardır. Saflaştırılmış enzimin N-terminusu Edman degradasyonu tarafından sekans edilmiştir. Enzimin Tamamına yakın cDNA’sı N-terminal amino acid sekansından çıkarılmış dejenere primerler kullanılarak RT-PCR tarafından izole etmişlerdir ve açık şekilde okunan 194 amino asit proteini içerdiğini bildirmişlerdir. Anlamlı amino asit sekansı ile diğer türlerin GST’sinin kıyaslanması sonucunda enzimin böcek sınıfı GSTs ile çok yakın ilişkisi olduğu sonucuna varmışlardır.

Kang vd (2006) çalışmalarında Shangjie, Minhou, County, Fujian, Çin’den (SJ) ticari criferous (*Brassica oleracea* var *italica* L.) sebze tarlalarından toplanan *B. tabaci*’de enzim inhibitörlerinin sinerjizm ve insektisit direnç mekanizmalarını dryfilm metodunu ve biyokimyasal analizleri kullanarak araştırmışlardır. *B. tabaci* insektisit hassas insektaryum popülasyonu ile arazi popülasyonunun karşılaştırılmasında direnç oranları methamidophos için 29.3, chlorpyrifos için 21.8, phoxim için 2.2, fenvelerate için 72.4, avermectin için 9.4 emamectin benzoate için 5.5, spinosad için 1.8 kat, fipronil için 11. 6 ve imidacloprid için 8 kat olarak gözlemlenmişlerdir. *B. tabaci*’nin arazi popülasyonlarının düşük asetilkolinesteraz aktivitesi gösterdiğini ancak yüksek asetilkolinesteraz hassasiyeti methamidophos ve dichlorvos olurken yüksek karbosilesteraz (CarE) aktivitesi gözlemlenmiştir. Piperonyl butoxide (PB) Triphenyl phosphate (TPP) ve diethyl maleate (DEM) *B. tabaci* insektaryum popülasyonunda dokuz insektisite karşı hassasiyette düşük etki göstermişlerdir. Diğer bir taraftan *B. tabaci*’nin arazi popülasyonunda dokuz insektisite karşı PB ile, methamidophos, chlorpyrifos, phoxim, fenvelerate ve imidacloprid TPP ile, methamidophos ve avermectine DEM ile yüksek sinerjizm oranları gözlemlenmişlerdir. PB tarafından AChE aktivitesinin yüksek inhibisyonu ve DEM tarafından GST aktivasyonunun inhibisyonunu insektaryum ve arazi popülasyonunda, CarE aktivitesinin PB, TPP ve DEM tarafından yüksek inhibisyonunu *in vivo* olarak arazi popülasyonunda gözlemlenmişlerdir. Sonuç olarak *B. tabaci*’de organofosfat direncinin kısmen AChE aktivitesiyle ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Oksidatif degradasyonun SJ’de bulunan *B. tabaci*’de insektisit direncinde ana mekanizma olduğuna inanmaktadırlar. Hidrolitik reaksiyonlar kısmen bazı açılardan dirençten sorumlu olabilir. Bu bulguları *B. tabaci*’de PB, TPP veya DEM için başka hedeflerinde olduğunu işaret ettiğini bildirmektedirler. Bu üç enzim inhibitörü tarafından insektisit toksisitesinde düzelme için mantıklı açıklama sağlayabilir. Özellikle PB’nin dokuz insektisitteki en yüksek sinerjizmi PB’nin *B. tabaci*’de AChE veya CarE aktivitesine çoklu etkisi ile açıklanabileceğini belirtmişlerdir.

Fernandez vd (2009) çalışmalarında güney batı İspanya'dan yedi *B. tabaci* Q biyotipi popülasyonunun nimflerinde, belirtilen insektisitlere direnç seviyelerini belirlemişlerdir. Altı popülasyonun referans İspanya Q biyotipi popülasyonu ($LC_{50} = 2.7, 8.7, 15.2, 19.9, 0.34, 20.9$ ve 1.1 mg/L^{-1} sırasıyla) ile kıyaslandığında düşükten orta dereceye azadirachtine (0.2 den 7 kata), buprofezine (11 den 59 kata), imidaclopride (1 den 15 kata), methomyle (3 den 55 kata), pyridabene (0.9 dan 9 kata), pyriproxyfene (0.7 den 15 kata) ve spiromesine (1 den 7 kata) direnç seviyesine sahip olduğunu belirtmişlerdir. Denemelerinde seradan toplanmış yoğun insektisit uygulamasına maruz kalmış bir popülasyon aynı deneme bileşiklerine yüksek seviyede direnç göstermiştir (31-, 1164-, 3-, 52-, 9-, 19 ve 3 kat sırasıyla). Pyridaben ve spiromesifen önerilen uygulama oranlarından ciddi şekilde düşük LC_{50} değeri ile tüm popülasyonların nimflerine karşı etkili olduğunu bulmuşlardır. Önceki raporlara karşı olarak güney-batı İspanya'nın yoğun tarım bölgelerindeki *B. tabaci* Q popülasyonuna karşı çok sayıda insektisitin yüksek oranda etkisi olduğunu tespit etmişlerdir. Bunun muhtemelen son zamanlarda IPM teknolojilerinin ve stratejilerinin sonucu olarak uygulamalardaki ciddi düşüşten kaynaklandığını belirtmişlerdir. Ancak direnç genlerinin bulunması ile eski seviyelerine dönebileceğini, yüksek insektisit seviyelerine maruz kalması ise direncin çabuk gelişimi ile sonuçlanabileceğini belirtmişlerdir.

Luo vd (2009) Çin'in birçok bölgesinde, 1990'dan beri doğal popülasyonlar istilacı ve global olarak yayılmış B biyotipi tarafından gölgede bırakılmıştır. Çok yakın zamanda Q biyotipi yerleşmiş, çoğalmış ve tüm ülkedeki tarımsal üretim sistemlerinde daha etkili tehdit olmuştur. Çalışmalarında biyotip rekabetinde ana rolü ve son yer değiştirmedeki insektisitlerin potansiyel rolünü belirlemek için Çin'in *B. tabaci* B ve Q biyotiplerinin insektisit direnç profillerini araştırmışlardır. Genel olarak kullanılan bileşikler piretroitler, neonikotinoidler, abamectin ve pyriproxyfeni kullanmışlardır. Piretroitler, abamectin ve pyriproxyfenden birçok popülasyon arasında her iki biyotipin benzer şekilde etkilendiğini bulmuşlardır. Ancak üç ticari neonikotinoide tepkileri zıttır. B biyotipi popülasyonları acetamiprid, imidacloprid ve thiamethoxama karşı hassas kalırken Q biyotipi bu insektisitlere 20-170 kat direnç sergilemiş olduğunu bulmuşlardır. Çin'de neonikotinoid insektisitlerin kullanımının karışık biyotip alanları içinde Q biyotipi için seleksiyon potansiyeli olduğunu, son girişte yerleşmesine ve egemen olmasında katkı sağladığını bildirmişlerdir.

Houndete vd (2010) çalışmalarında Batı Afrika'da Benin, Togo ve Burkina Faso'da pamuktan toplanmış arazi popülasyonlarındaki direnç durumunu yaprak daldırma methodu ile farklı kimyasal sınıftan sekiz insektisit ile test ederek belirlemişlerdir. Sonuçları bazı arazi popülasyonlarının piretroitler deltamethrin (direnç oranı RR 3-5) ve bifenthrin (RR4-36), organofosfatlar dimethoate (RR8-15) ve chlorpyrifos (RR5-7) ve neonikotinoidler acetamiprid (RR7-8) ve thiamethoxama (RR3-7) yüksek hassasiyet kaybı olduğunu göstermişlerdir. Aynı zamanda *B. tabaci* pymetrozine (RR3-18) ve endosulfana (RR14-30) dirençlidir. Sonuç olarak *B. tabaci*'nin piretrodlere ve OP'lara karşı direncin pamukta 30 yıldan fazla süredir sistematik olarak kullanımına bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Acetamipridin beyazsineği kontrolde yeni giriş yaptığını ve Maalesef Burkina Faso'dan *B. tabaci* popülasyonlarının zaten dirençli olduğunu, çünkü bu bileşikler arasında çapraz direncin herhangi bir yerde gözlemlenmemiş olduğunu, neonikotinoidlere direncin bölgede son

zamanlarda tespit edilen istilacı *B. tabaci* biyotipinin varlığına bağlı olabileceğini belirtmişlerdir.

Kontsedalov vd (2012) çalışmalarında direncin, salgın ile bağlantılı popülasyon dinamiklerindeki patternleri tanımlamak üzere 2008-2010 yılları arasında İsrail’de biyotip kompozisyonunu ve insektisit direncini gözlemlemişlerdir. Sonuçları B biyotipinin açık alandaki bitkilerde dominant olduğunu, Q biyotipinin ise sera ve nethouse gibi kontrollü koşullarda kademeli olarak dominant olduğunu göstermiştir ve direnç salgınlarının birkaç insektisit uygulamasından sonra gelişmeye başladığını bildirmişlerdir. Önceki yıllarda Q biyotipi popülasyonları İsrail’in birçok bölgesinde yaygın olarak tespit edilirken, 2010 yılı süresince toplanan popülasyonlar arasında B biyotipinin dominant olduğunu gözlemlemişler, *B. tabaci* popülasyonlarının bir yıldan diğer yıla değişkenlik gösterdiğini belirtmişlerdir. *B. tabaci* biyotiplerinin değişim dinamiklerinin nedenlerini ve direnç durumlarını tartışmışlardır.

Yuan vd (2012) çalışmalarında Doğu Çin’den *B. tabaci* Q biyotipinin beş arazi popülasyonunun altı insektiside direnç düzeylerini belirlemişlerdir ve sinaptik asetilkolinesteraz ace1 mutasyon (F331W) frekanslarını ve para-tip voltage gated sodyum kanal mutasyonlarını (L9251 ve T929) polimeraz zincir reaksiyon tabanlı görüntüleme teknikleri ile tespit etmişlerdir. Referans popülasyon ile arazi popülasyonları kıyaslandığında iki neonicotinoide düşükten yükseğe direnç sergilediğini (8.75- 40 kat imidacloprid ve 7.48-46.40 kat nitenpyram) belirtmişlerdir. Bu popülasyonlarda dichlorvos (1.37-2.83 kat) ve cypermethrine (2.61-8.69 kat) düşük direnç gözlemlemişlerdir. Bütün popülasyonların carbosulfan ve abamectine hassas olduğunu bildirmişlerdir. ace 1 genindeki F331W mutasyonunun tüm popülasyonlarda mevcut olduğunu, sodyum kanal genindeki L9251 ve T929V mutasyonlarının frekansının sırasıyla %39.6-70 ve %63-86.7 arasında olduğunu bulmuşlardır. İnsektisit direnç durumu bilgisini ve direnç alleli frekansını doğu Çin *B. tabaci* Q biyotipi insektisit direnç yönetimi için temel veri olarak sunmuşlardır.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Beyazsinek Popölasyonları

Çalışmada Antalya'nın farklı ilçelerinden ve Aydın-Koçarlı ilçesinden toplanan *B. tabaci* popölasyonları kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Popölasyonlar iklim odalarında 26 ± 1 °C sıcaklık, % 60 ± 10 oransal nem, 2400 lüks ışık yoğunluğu ve 16:8 (A:K) saatlik ışıklanma periyodunda herhangi bir insektisit uygulaması olmadan çoğaltılmıştır. Popölasyonların biyotipleri belirlenmiş ve farklı insektisit gruplarına karşı direnç ve enzim biyoassaylerinde kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Beyazsinek örnekleri toplanan yerler

Popölasyon adı	Konukçu	Örnek alınma tarihi	Koordinatlar	Koordinatlar
Gazipaşa	Hıyar	06.11.2010	36°17'46" K	32°17' 00" ' D
Kampüs	Domates	01.12.2010		*
Serik	Patlıcan	06.11.2010	36° 54' 52" K	31°03' 34" D
Payallar (alanya)	D.hıyar	06.11.2010	36°36' 02" K	32°11' 18" D
Yurtpınar	Patlıcan	03.11.2010	37°01' 48" K	30° 51' 51" D
Kumluca	Patlıcan	15.11.2010	36° 19' 55" K	30°18' 54" D
Demre	Domates	15.11.2010	36° 14' 06" K	29° 59' 26" D
Aydın/koçarlı	Karpuz	15.06.2011		*

* Veri alınmadı

3.2. Biyotiplerin Belirlenmesi

Denemeye başlamadan önce *B. tabaci* popölasyonlarının biyotipleri mtCOI bölgesinin sekans bilgilerine göre belirlenmiştir ve aşağıdaki prosedürler izlenmiştir.

3.2.1. PCR Reaksiyonları

3.2.1.1 DNA İzolasyonu

DNA izolasyonunda tek dişi birey kullanılmış ve her bir popölasyondan ortalama 15 dişi bireyin ayrı ayrı DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA izolasyonunda EZNA SQ Tissue DNA kiti kullanılmış ve üretici firmanın önerdiği protokol bazı aşamalarda daha uzun süre bekletililerek takip edilmiştir.

Uygulanan protokol aşağıda verilmiştir

- ❖ Ergin dişi beyazsinek 150µl Wtl bufferda pestil yardımı ile ezilmiştir.
- ❖ Ezildikten sonra 65 °C'de 3 saat inkübasyona bırakılmıştır.
- ❖ 3 saat inkübasyon sonunda 1.5µl RNase eklenerek 15 dk 37 °C'de bekletilmiştir.
- ❖ 15 dk sonunda oda sıcaklığında 5 dk bekletildikten sonra üzerine 50µl PCP buffer eklenerek 1 dk vorteks edilmiştir.

- ❖ Vorteks edildikten sonra -20 °C’de 30 dk bekletilmiştir. 30 dk sonunda 10000-14000 g de 4 dk santrifüj edilmiştir.
- ❖ Santrifüj edildikten sonra supernatant kısım yeni 1.5µl tüplere aktarılmıştır ve üzerine 150µl isopropanol eklenerek -20 °C’de gece boyunca bekletilmiştir.
- ❖ -20 °C’den alındıktan sonra 10000-14000 g de 4 dk santrifuj edilerek süpernatant dökülmüştür.
- ❖ Üzerine 150ul %70’lik ethanol eklenerek hafifçe çalkalanmış ve 10000-14000 g de 4 dk santrifuj edilmiştir.
- ❖ Ethanol dikkatlice dökülerek kurumaya bırakılmıştır.
- ❖ 35µl TE buffer eklenerek +4 °C’de gece boyunca bekletilmiştir.

3.2.1.2. Thermo-Cycler Reaksiyonları

Biyotiplerin belirlenmesi amacıyla izolasyonu yapılan DNA’ların mtCOI bölgesi Frohlich vd (1999) tarafından belirlenen Çizelge 3.2 deki primerler kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz I gen bölgesine spesifik primer dizilimleri

Primer Adı	Primer dizilim
Primer Forward (C1-J-2195)	5’ TTGATTTTTTGGTCATCCAGAAGT 3’
Primer Reverse (TL2-N-3014)	5’ TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA 3’

Çizelge 3.3 de belirtilen toplam 12.5µl hacimde hazırlanan master miks ile popülasyonlardan elde edilen DNA’ların mtCOI bölgeleri çoğaltılmıştır.

Çizelge 3.3. Master-miks bileşenleri

Kimyasal	Kullanılan Miktar (µl)
MgCl ₂ 50mM	1
10X Buffer	1.2
Taq DNA polimeraz 0.4u/ µL	0.08
DNTP mix 100mM	0.4
Primer A 10 pM	0.2
Primer B 10 pM	0.2
DNA template	0.5
H ₂ O distile	8.42
Toplam	12.5

Thermal cyclerda çizelge 3.4 de verilen şartlarda hazırlanan master-mix ile DNA’lar çoğaltılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri 0.5 X’lik ethidium bromid ile boyanmış agaroz jele (%1) yüklenerek içinde 0.5 X’lik TAE buffer bulunan elektroforez tankında yürütülmüş ve ultraviole ışık altında görüntülenmiştir.

Çizelge 3.4. Thermal-Cycler protokolü

Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
96°C initial denaturation (ön ayrılma)	4 dk	1
96°C denaturation (ayrılma)	45 sn	
48°C annealing (bağlanma)	45 sn	35
72°C extension (uzama)	45 sn	
72°C final extension (Son uzama)	4 dk	1

3.2.1.3. DNA sekansı

Thermal cyclerda reaksiyonu sonucunda elde edilen PCR ürünlerinin sekansı Beckman 8000 CEQ genetik analiz cihazında gerçekleştirilmiştir. Saflaştırma yapılan ürünlerin mtCOI bölgesinin sekans analizleri yapılmıştır. Sekans analizleri her bir popülasyondan en az 10 birey olacak şekilde yapılmıştır. Sekans forward ve revers olmak üzere iki yönlü olarak yapılmıştır. Forward ve revers primerlerle analizi yapılmış her bir popülasyona ait birer örneğin dizilemeleri referans örnek olarak Mega4 programı kullanılarak Clustal analizine tabi tutulmuştur.

Sekans analizinde Beckman Quickstart kit kullanılmıştır. Saflaştırılmış PCR ürünleri üretici firmanın protokolü modifiye edilerek sekans reaksiyon kitinde yer alan mix ve mtCOI spesifik primerlerden 3.2 pMol kullanılacak şekilde reaksiyonuna sokulmuştur (Çizelge 3.5). Toplam 20 µl hacimde 8 µl mix kullanılması önerilirken çalışmada uygulanan protokolde 4 µl kullanılmıştır.

Çizelge 3.5. Sekans master miks

Quickstart Mix	4 µl
Primer	2 µl
DNA (PCR ürünü)	3 µl
H ₂ O	11 µl
Toplam	20 µl

Çizelge 3.6 da verilen Thermal Cycler şartlarında sekans reaksiyonu yapılmıştır. Reaksiyon sonucunda çıkan ürünler son bir ethanol yıkamasına (pericipitation) tabi tutulmuştur.

Çizelge 3.6. Sekans analizi için Thermal- Cycler protokolü

Sıcaklık	Süre (sn)	Döngü sayısı
96 °C	20	
50 °C	20	30
60 °C	45	

Sekans reaksiyonu sonucunda Thermal-Cyclerda sekans analizi için elde edilen ürünler için üretici firma protokolünde yer alan ethanol pericipitation (Çöktürme) aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir.

- Herbir örneğe 5µl stop solusyonu eklendi (2µl 100mM Na₂-EDTA Ph8.0, 2µl 3M Sodium Asetat Ph5.2, 1µl 20 mg/mL glikojen)
- Üzerine 60µl %95'lik soğuk ethanol eklendi, 15 dk 14,000 rpm 4°C de santrifuj edildi ve süpernatant (Sıvı kısım) dikkatlice uzaklaştırıldı.
- Daha sonra pelet üzerine %70 lik soğuk ethanol eklenip 5 dk 14,000 rpm 4°C de santrifuj edildi ve supernatant uzaklaştırıldı. Bu aşama iki kez tekrarlandı ve pelet kurumaya bırakıldı.
- Örnekler kuruduktan sonra üzerlerine 35µl Sample loading solution(SLS) eklenerek çözündürülmüştür.
- Örnekler çözündürüldükten sonra 96 kuyucuklu plakalara aktarıldı ve üzerlerine 1 µl mineral yağ eklenerek analiz için cihaza yerleştirilerek sekans analizleri yapılmıştır.

3.3. İnsektisit Biyoassayleri

3.3.1. Cypermethrin LC₅₀ değerlerinin belirlenmesi

B ve Q biyotiplerinin ana popülasyonlarının ve seleksiyon popülasyonlarının cypermethrine karşı LC₅₀ seviyeleri Elbert ve Nauen (1996)'nin belirttiği şekilde ve modifiye edilerek yaprak daldırma metoduyla belirlenmiştir. 0 ile 100 arasında ölüm oranı veren 0.1g/lt⁻¹ Triton X-100 içeren insektisit konsantrasyonları hazırlanmıştır. Pamuk yaprakları insektisit dozlarına 5 sn süreyle daldırılmıştır. Yaprak diskleri filtre kâğıtları üzerinde kuruyuncaya kadar bekletilmiştir. Kuruyan yaprak diskleri içinde %1.5 lik agar (100 ml saf su/1.5 g agar) bulunan petri kaplarına yaprak üst yüzeyi agarla temas edecek şekilde yerleştirilmiştir (Şekil 3.1a). Beyazsinekler test alanı içine kültürden silkelenerek (en az 15 birey) konulmuş ve hava alması için üstü tül ile örtüldükten sonra kapatılmış ve ters çevrilmiştir (Şekil 3.1b). Beyazsinek ölüm oranı 48 saat sonunda belirlenmiştir. Fırçayla dokunulduğunda hareket edemeyen ve hareket sinyali görülmeyen bireyler ölü sayılmıştır.

3.3.2. Cypermethrin Seleksiyon methodu

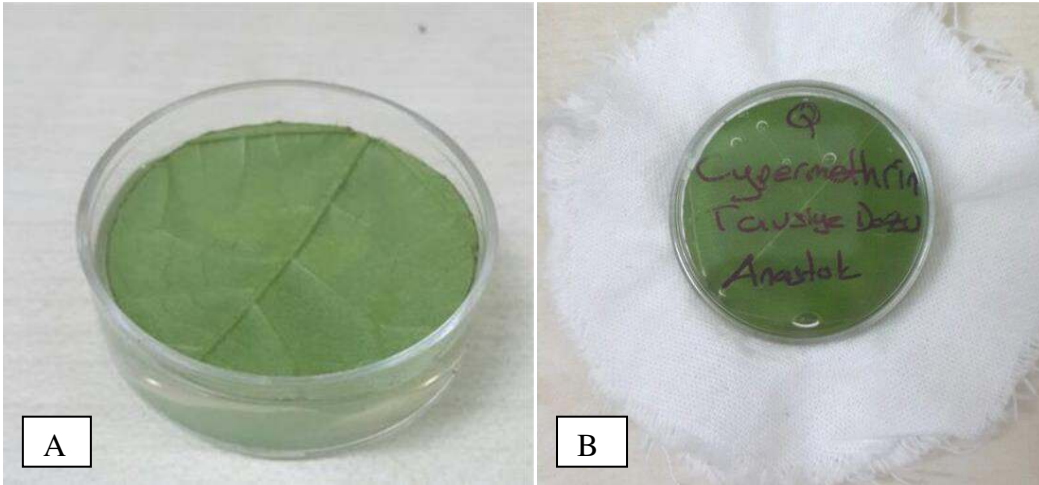
Seleksiyon bölüm 3.3.1 de belirtilen yaprak daldırma yöntemi ile yapılmıştır. Canlı kalan bireyler bir sonraki seleksiyon için çoğaltılmak üzere yeni kafeslere konulmuştur. Cypermethrin ile her iki biyotip beş kez seleksiyona tabi tutulmuştur ve seleksiyon dozları Çizelge 3.7'de belirtilmiştir.

3.3.3. Imidacloprid LC₅₀ değerlerinin belirlenmesi

B ve Q biyotiplerinin ana popülasyonlarının ve seleksiyon popülasyonlarının imidaclopride karşı LC₅₀ seviyeleri Elbert ve Nauen (1996)'e göre bölüm 3.3.1 de belirtilen şekilde yapılmıştır. Beyazsinekler test alanı içine kültürden silkelenerek (en az 15 birey) konulmuş ve hava alması için üstü tül ile örtüldükten sonra kapatılmıştır. Beyazsinek ölüm oranı 72 saat sonunda belirlenmiştir. Fırçayla dokunulduğunda hareket edemeyen ve hareket sinyali görülmeyen bireyler ölü sayılmıştır.

3.3.4. Imidacloprid seleksiyon metodu

Seleksiyon Bölüm 3.3.1 de belirtilen yaprak daldırma yöntemi ile yapılmıştır. Canlı kalan bireyler bir sonraki seleksiyon için çoğaltılmak üzere yeni kafeslere konulmuştur. Seleksiyon dozları Çizelge 3.7.'de belirtilmiştir.



Şekil 3.1. Cypermethrin ve imidacloprid etken maddeleri için test alanı A: beyazsinekler kültürden silkelenmeden önce B: beyazsinekler kültürden silkelendikten sonra)

3.3.5. Pyriproxyfen LC₅₀ değerlerinin belirlenmesi

B ve Q biyotiplerinin ana popülasyonlarının ve seleksiyon popülasyonlarının priproxyfene karşı LC₅₀ seviyeleri Li vd (2003)'e göre modifiye edilerek yaprak daldırma biyoassayleri ile belirlenmiştir. En az 5 birey olacak şekilde popülasyondan karışık olarak beyazsinek erginleri alınarak “Clip Cage” olarak adlandırılan küçük kafeslere konulmuştur. Kafesler pamuk yapraklarına toka yardımı ile tutturularak beyazsineklerin 24 saat boyunca yumurtlamaları sağlanmıştır (Şekil 3.2.). Erginler 24 saat sonunda uzaklaştırılarak toplam yumurta sayısı not edilmiştir. Beyazsinek yumurtası bulunan bu yapraklar farklı dilusyonda hazırlanmış Triton-X içeren 100ml lik hacimdeki ilaçlara ve suya (kontrol) 10 saniye süre ile daldırılmıştır. Uygulama yapıldıktan 14 gün sonra pupa ve gelişim göstermiş nimfler sayılarak toplam yumurta sayısından çıkarılmıştır. Sayım zamanında gelişim göstermeyip 1. dönem nimf olarak kalanlar etkilenmiş olarak kabul edilmiş ve ölü sayılmışlardır. Toplam yumurta sayısından canlı kabul edilenler çıkarılarak ölü sayısı belirlenmiştir.

3.3.6. Pyriproxyfen seleksiyon metodu

Seleksiyon uygulamaları belirlenen LC₅₀ düzeyi baz alınarak Bölüm 3.3.3.1'deki protokol takip edilmiştir. Seleksiyona tabi tutulan yumurtalardan canlı kalan bireyler bir sonraki seleksiyon uygulaması için farklı popülasyon olmak üzere çoğaltılmıştır. Pyriproxyfen ile her iki biyotip yedi kez seleksiyona tabi tutulmuştur ve seleksiyon dozları çizelge 3.7'de belirtilmiştir.

3.3.7. Spiromesifen LC₅₀ değerlerinin belirlenmesi

Spiromesifen *B. tabaci* B ve Q biyotiplerinin 1. dönem nimflerine uygulanmıştır (Kontsedalov vd 2008). LC₅₀ düzeylerinin belirlenmesinde aşağıda belirtilen yaprak daldırma metodu kullanılmıştır. En az 5 birey olacak şekilde popülasyondan karışık olarak beyazsinek erginleri alınarak "Clip Cage" olarak adlandırılan küçük kafeslere konulmuştur. Kafesler pamuk yapraklarına toka yardımı ile tutturularak beyazsineklerin 24 saat boyunca yumurtlamaları sağlanmıştır (Şekil 3.2). Erginler 24 saat sonunda uzaklaştırılarak beyazsinek yumurtası bulunan bu yapraklar 16:8 (A:K) ve 26 °C' de bekletilmiştir. Yapraklarda bulunan beyazsinek yumurtaları 6. günde açılmışlar ve 1. dönem nimf bulunan yapraklar farklı dilusyonda hazırlanmış Triton-X içeren 100 ml lik hacimdeki ilaçlara ve suya (Kontrol) 10 saniye süre ile daldırılmıştır. Uygulama yapıldıktan 8 gün sonra pupa ve gelişim göstermiş nimfler canlı olarak sayılmış, kurumuş haldeki nimfler ve gelişim göstermeyip 1. dönem nimf olarak kalanlar etkilenmiş olarak kabul edilmiş ve ölü sayılmışlardır.

3.3.8. Spiromesifen seleksiyon metodu

Seleksiyon uygulamaları belirlenen LC₅₀ düzeyi baz alınarak Bölüm 3.3.4.1'deki protokol takip edilmiştir. Seleksiyona tabi tutulan nimflerden canlı kalan bireyler bir sonraki seleksiyon uygulaması için farklı popülasyon olmak üzere çoğaltılmıştır. Spiromesifen ile her iki biyotip beş kez seleksiyona tabi tutulmuştur ve seleksiyon dozları Çizelge 3.7'de belirtilmiştir.



Şekil 3.2. Clip-cage kafes ve yumurta bırakan ergin beyazsinekler

Çizelge 3.7. İnsektisit seleksiyon dozları

İnsektisit	Tavsiye Dozu (EM) mg/lt	1.Seleksiyon dozu (EM)mg /lt (SD)	2. SD	3. SD	4. SD	5. SD	6. SD	7. SD	8. SD
Cypermethrin (B)	7.5	75	150	225	225	300	-	-	-
Cypermethrin (Q)	7.5	7.5	37.5	75	150	225	-	-	-
Imidacloprid (B)	35	17.5	52.5						
Imidacloprid (Q)	35	7	3.5						
Pyriproxyfen (B)	10	0.1	0.5	1	1	2	2	2	-
Pyriproxyfen (Q)	10	0.03	0.03	0.03	0.03	0.1	0.2	0.2	-
Spiromesifen (B)	14.4	0.144	0.29	0.29	0.72	0.72	1.44	2.88	2.88
Spiromesifen (Q)	14.4	0.144	0.29	0.29	0.72	0.72	1.44	2.88	2.88

3.4. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Seleksiyon yapılan herbir popülasyondan alınan dişi beyazsinek erginleri enzim aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Popülasyonlardan alınan beyazsinek erginleri enzim aktivitelerinde kullanılmak üzere -80°C’de muhafaza edilmişlerdir. Aktiviteler μ Quant™ Microplate Spectrophotometer BİOTEK MQX200 mikro plaka okuyucu kullanılarak belirlenmiştir. Tüm enzim aktivitesi hazırlıkları +4°C’de yapılmıştır. Enzim aktivitesi belirlemede kullanılacak olan substratlar ölçümler yapılmadan hemen önce hazırlanmış ve 2-3 saat içerisinde kullanılmıştır.

3.4.1. Enzim kaynağının hazırlanması

Esteraz (EST), Glutathion-S-Transferaz (GST), Asetilkolinesteraz (AChE), Sitokrom P450 monooksijenaz (P450) aktivitelerinin ve protein miktarlarının belirlenmesinde 30 dişi beyazsinek ergini +4°C bekletilmiş 300 μ l % 0.1 (w/v) Triton X- 100 içeren 0.1 M Ph:7.6 NaPHO₄ (fosfat bufferda) ezilmiştir. 10000g +4°C’de 5 dakika santrifüj yapılarak katı kısım çöktürülmüştür ve üste kalan sıvı kısım enzim kaynağı olarak kullanılmıştır.

3.4.2. Protein miktarının belirlenmesi

Protein miktarı Bradford (1976)’e göre belirlenmiştir. 5 μ l enzim kaynağı kullanılmıştır. Standart olarak Bovine serum albumin (BSA) kullanılmıştır. BSA standartı stok solüsyon olarak 10mg/ml hazırlanmış ve farklı konsantrasyonlarda seyreltilmiştir. Seyreltilmiş herbir standarttan 5 μ l kullanılmıştır. Enzim kaynağı üzerine ve BSA standartları üzerine 245 μ l Bradford solusyonu yüklenmiş ve 595 nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır. Ölçüm sonuçlarına göre standart eğri oluşturulmuş ve standart eğrilerden elde edilen $Y = A \times x + B$ verilerine göre enzim kaynaklarının protein miktarları hesaplanmıştır.

3.4.3. Esteraz aktivitesinin belirlenmesi

EST enzim aktivitesi 1-naftil asetat (α -NA) substratı kullanılarak Stumph ve Nauen (2002)'in belirttiği protokole göre bazı değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. 5 μ l enzim kaynağı (0.5 beyazsinek eşiti) 96 well plate'in kuyucuğuna yüklenmiş üzerine 20 μ l Triton X- 100 içeren 0.1 M Ph:7.6 fosfat buffer eklenmiştir. Enzim kaynağının üzerine tekrar 25 μ l 0.2 M Ph: 6.0 fosfat buffer eklenmiştir. Herbir kuyucukta bulunan enzim kaynağı üzerine 25 ml fosfat bufferda (0.2 M Ph:6.0) çözündürülmüş 15 mg Fast Blue RR tuzu ve 250 μ l 100mM α -NA substrat karışımından 200 μ l eklenmiştir. Buffer ve substrat karışımı enzim olmadan blank olarak kuyucuklara aynı hacimde yüklenmiştir. Son hacim 250 μ l olacak şekilde 450nm dalga boyunda 10 dksüresince absorbans değerlerinin ölçümü yapılmıştır. Sonuçlar nmol naphtol/ dk / mg protein olarak verilmiştir. Linear naphtol standartı 0.5 ila 10 nmol arasındaki 1-Naphtol konsantrasyonları yüklenerek oluşturulmuştur.

3.4.4. Asetilkolinesteraz aktivitesinin belirlenmesi

AChE aktivitesi Alon vd (2008) e göre belirlenmiştir. 40 μ l enzim kaynağı üzerine 40 μ l Triton X- 100 içeren 0.1 M Ph:7.6 fosfat buffer eklenmiştir. Enzim kaynağı üzerine 100 μ l 1.5 mM DTNB eklendikten sonra 100 μ l 5 mM ATchI eklenerek 20 dakika boyunca 405 nm dalga boyunda absorbans değerlerinin ölçümü yapılmıştır. DTNB ve AtchI enzim kaynağı olmadan kuyucuklara blank olarak yüklenmiş ve Sonuçlar AD/ dk/ mg protein olarak verilmiştir.

3.4.5. Glutathion S-Transferaz enzim aktivitesinin ölçülmesi

GST enzim aktivitesi Hemingway'e göre CDNB ve reduced glutathione (GSH) substrat olarak kullanılarak belirlenmiştir. 10 μ l enzim kaynağı üzerine 200 μ l substrat solusyonu (10mM 2.5 ml 0.1 M Ph:6.5 fosfat buffer da hazırlanmış GSH içinde 125 μ l 60mM CDNB) eklenerek 340 nm dalga boyunda 5 dakika süresince absorbans değerleri ölçülmüştür. CDNB ve GSH enzim kaynağı olmadan kuyucuklara blank olarak son hacim aynı olacak şekilde yüklenmiştir. Herbir dakikadaki absorbans değişimi 2,4-dinitrophenyl glutathione'nun $\epsilon_{340} = 9.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ değeri kullanılarak nmol konjuge CDNB / dk/mg proteine çevrilmiştir (Habig vd 1974).

3.4.6. Sitokrom P450 monooksigenaz enzim aktivitesinin ölçülmesi

P450 aktivitesi P-nitroanisol (PNOD) substrat olarak kullanılması ile Hansen ve Hodgson (1971) e göre enzim kaynağı miktarında değişiklik yapılarak belirlenmiştir. 100 μ l 2mM PNOD solüsyonu (0.1M NaPHO₄ pH: 7.6) üzerine 30 μ l enzim kaynağı yüklenmiştir. 2 dakika 27°C'de inkübasyondan sonra 10 μ l 0.1 M Ph:7.6'da hazırlanmış NADPH eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. Absorbans değerleri 405 nm dalga boyunda 10 dakika süresince ölçülmüştür. Blank olarak enzim kaynağı olmadan PNOD ve NADPH kuyucuklara yüklenmiştir. Sonuçlar AD/ dk/ mg protein olarak verilmiştir.

3.4.7. Verilerin istatistiksel analizi

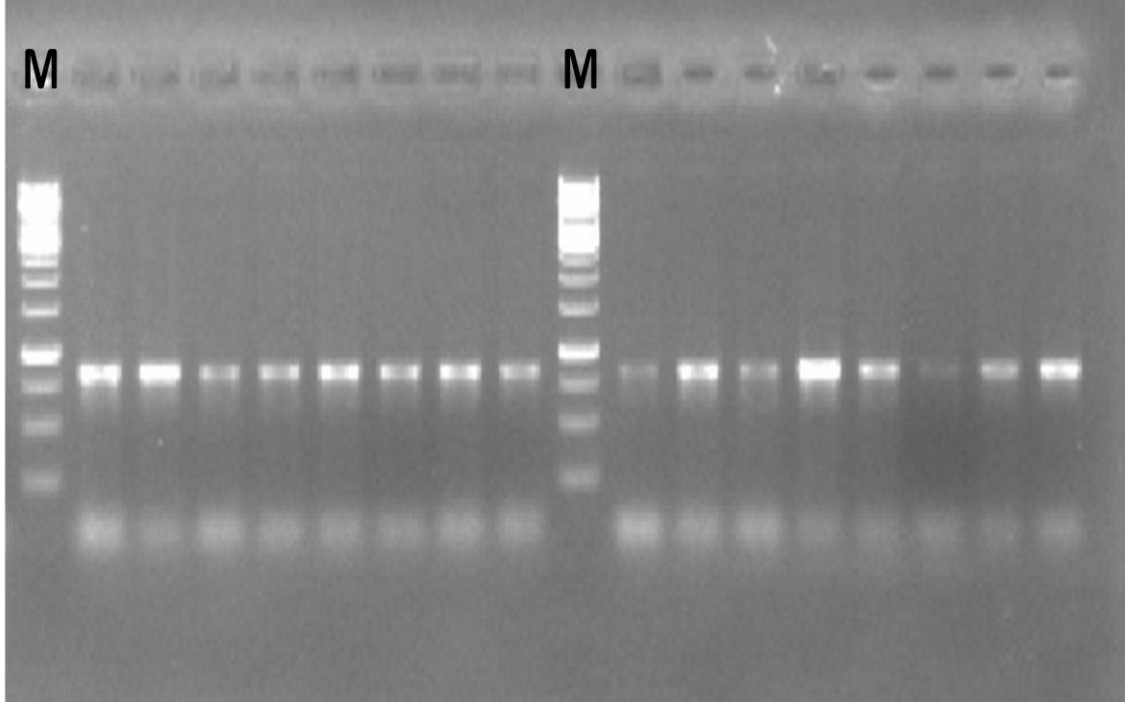
İnsektisit biyoassaylerinde elde edilen verilerin analizi POLO-PC programı kullanılarak yapılmıştır ve probit analizine tabi tutularak lethal konsantrasyon değerleri belirlenmiştir (Leora Software 2008)

Biyotiplerin enzim aktivitelerinin karşılaştırılmasında SPSS 17. paket programı kullanılmıştır (Anonim 2008). Veriler normal dağılış göstermediği ve örnek sayılarının onun altında olduğu için aktivitelerin karşılaştırılmasında non-parametrik testlerden “Mann-Whitney U ” testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

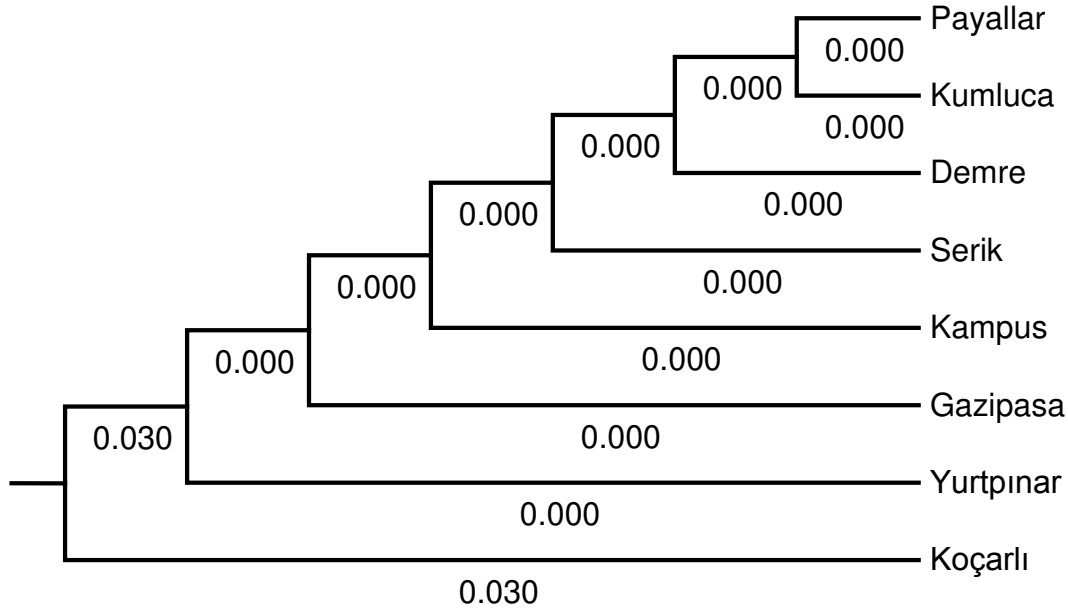
4.1. Biyotiplerin Belirlenmesi

Antalya popülasyonlarının DNA izolasyonu sonucunda thermal-cyclerda spesifik primerlerle mtCOI bölgesi çoğaltılmıştır. Reaksiyon sonucunda yaklaşık 800bp' lik PCR ürünleri elde edilmiştir (Şekil 4.1).



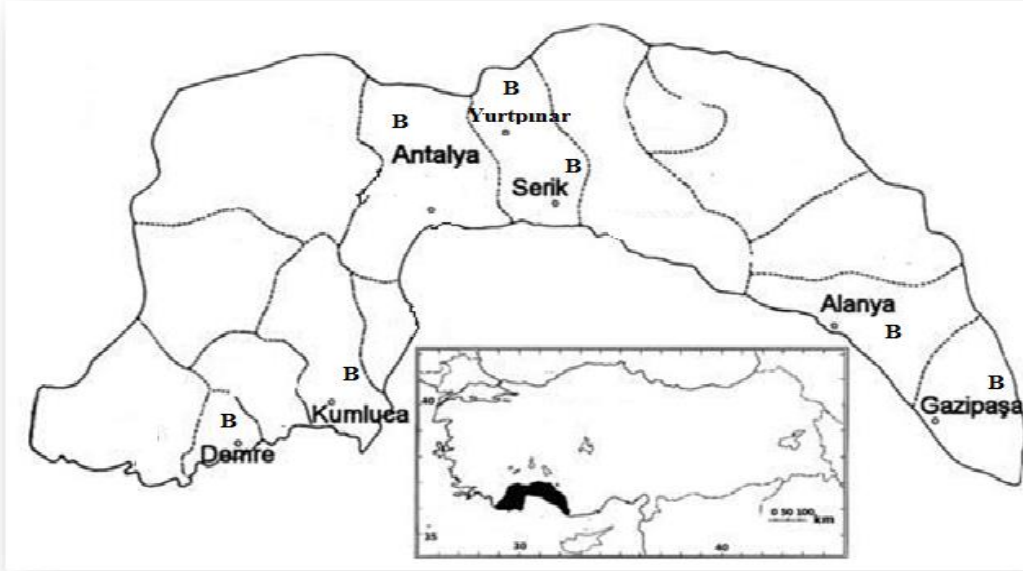
Şekil 4.1. Serik popülasyonuna ait PCR ürünleri (M: 1kb marker)

Forward ve revers primerlerle sekans analizi yapılmış her bir popülasyona ait birer örneğin dizilemeleri referans örnek olarak clustal analizine tabi tutulmuş ve Ek 1 de gösterilmiştir. Elde edilen 800bp lik PCR ürününün 770bp'lik dizileme kısmı filogenetik analizde kullanılmıştır. Biyotiplerin belirlenmesinde referans olarak Göçmen vd (yayınlanmamış proje) verileri kullanılmıştır. Şekil 4.2'da *B. tabaci* Antalya popülasyonları ile Koçarlı popülasyonunun UPGMA filogenetik ağacı oluşturulmuştur. Analiz sonucunda 729 nükleotit sabit 42 adet nükleotit varyasyon göstermiştir. Analizde kullanılan 770 bp'lik kısmın 760 nükleotitlik kısmı bilgi verici, 9 nükleotit kısmı değişken veri olarak bulunmuştur.



Şekil 4.2. Antalya (B biyotipi) ve Koçarlı (Q biyotipi) popülasyonlarının UPGMA filogenetik analizi

Antalya ilinden toplanan beyazsinek popülasyonlarının her biri B biyotipi olarak belirlenmiştir (Şekil 4.3). Koçarlı'dan toplanan beyazsinek popülasyonu Q biyotipi olarak belirlenmiştir (Ek 1).



Şekil 4.3. Antalya popülasyonlarının biyotip dağılımı

4.2. İnsektisit biyoassayleri

4.2.1. Cypermethrin insektisit biyoassayleri

Cypermethrine karşı *B. tabaci* B ve Q biyotiplerinin LC₅₀ düzeyleri yaprak daldırma biyoassayleri ile belirlenmiştir (Çizelge 4.1). B biyotipinin stok kültür popülasyonu cypermethrine karşı Q biyotipinin stok kültür popülasyonuna göre yaklaşık 154 kat daha fazla LC₅₀ düzeyine sahiptir. Yapılan beş seleksiyon sonunda B biyotipinin LC₅₀ değerinde stok kültüre göre 1.35 kat ile sınırlı bir artış gözlemlenmiştir. Seleksiyon sonunda Q biyotipinin hesaplanan LC₅₀ değerinde stok kültüre göre yaklaşık 213 kat artış gözlemlenmiştir. İnsektisit uygulaması olmadan devam ettirilen Q biyotipinin stok kültürün popülasyonunda direnç kaybı gözlemlenmezken, B biyotipinin stok kültür popülasyonunda 0.93 kat direnç kaybı gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.1. *Bemisia tabaci* B ve Q biyotiplerinin cypermethrin ile biyoassay sonuçları (DK: direnç gelişim oranı, N: biyoassaylerde kullanılan beyazsinek sayısı)

Popülasyon (Biyotip)	LC ₅₀ (EM) mg/lt (%95 Güven aralığı)	Probit fit line			Eğim	N	DK
		X ²	df	P			
B biyotipi stok kültür	567.2 (334.7- 8696.4)	12.8	13	0.9	2.11±0.75	569	1
B biyotipi seleksiyon	769.87 (559.7- 1484.8)	61.2	34	1.8	1.80±0.25	1131	1.35
B stok kültür son	530.8 (285.8 - 3447.8)	67.8	26	2.6	1.09±0.18	967	0.93
Q biyotipi stok kültür	3.66 (1.0- 15.1)	67.5	13	5.1	0.50±0.04	632	1
Q biyotipi seleksiyon	782.2 (561.6 - 1708.7)	128.4	41	3.1	2.39±0.28	1545	213
Q stok kültür son	8.6 (3.1 - 18.2)	22.2	13	1.7	1.02±0.09	422	2.34

4.2.2. Imidacloprid insektisit biyoassayleri

İmidaclopride karşı *B. tabaci* B ve Q biyotiplerinin LC₅₀ düzeyleri yaprak daldırma biyoassayleri ile belirlenmiştir. Seleksiyona tabi tutulan B ve Q biyotiplerinde direnç gelişimi gözlemlenmemiştir. İnsektisit uygulaması olmadan devam ettirilen Q biyotipinin stok kültür popülasyonunda 0.16 kat, B biyotipinin stok kültür popülasyonunda 0.06 kat direnç kaybı gözlemlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. *Bemisia tabaci* B ve Q biyotiplerinin imidacloprid ile biyoassay sonuçları (DK: direnç gelişim oranı, N: biyoassaylerde kullanılan beyazsinek sayısı)

Popülasyon (Biyotip)	LC ₅₀ (EM) mg/lt (%95 Güven aralığı)	Probit fit line			Eğim	N	DK
		X ²	df	P			
B biyotipi stok kültür	19.5 (11.5- 32.2)	105.1	24	4.3	1.19±0.06	1054	1
B stok kültür son	1.1 (0.7-1.6)	25.3	14	1.8	2.22±0.28	329	0.06
Q biyotipi stok kültür	0.6 (0.3-1.1)	47.1	21	2.2	0.68±0.04	1216	1
Q stok kültür son	0.1 (0.06- 0.16)	35.9	16	2.2	1.34±0.1	613	0.16

4.2.3. Pyriproxyfen insektisit biyoassayleri

Pyriproxyfen *B. tabaci* B ve Q biyotiplerinin yumurtalarına uygulanmıştır. B biyotipi stok kültür popülasyonunun LC₅₀ değeri 0.167 (e.m. mg/lt), Q biyotipi ana popülasyonunun LC₅₀ değeri ise 0.032 (e.m. mg/lt) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Pyriproxyfen ile yedi seleksiyon sonunda B biyotipinin direnç düzeyinde LC₅₀ değerine göre yaklaşık 4 kat artış gözlenirken bu oran Q biyotipinin direnç düzeyinde yaklaşık 15.3 kat artış olarak gözlemlenmiştir. İnsektisit uygulaması olmadan devam ettirilen Q biyotipinin stok kültür popülasyonunda 0.04 kat, B biyotipinde 0.43 kat direnç kaybı gözlemlenmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. *Bemisia tabaci* B ve Q biyotiplerinin pyriproxyfen ile biyoassay sonuçları (DK: direnç gelişim oranı, N: biyoassaylerde kullanılan beyazsinek sayısı)

Popülasyon (Biyotip)	LC ₅₀ (EM) mg/lt (%95 Güven aralığı)	Probit fit line			Eğim	N	DK
		X ²	df	P			
B biyotipi stok kültür	0.16 (0.1-0.3)	46.6	11	4.2	1.24±0.08	1864	1
B biyotipi seleksiyon	0.65 (0.5-0.8)	563.8	53	10.6	1.29±0.04	5768	4
B stok kültür son	0.07 (0.02 – 0.14)	291.0	16	18.2	1.03±0.05	1908	0.43
Q biyotipi stok kültür	0.03 (0.02- 0.05)	33.8	6	5.6	2.01±0.15	784	1
Q biyotipi seleksiyon	0.46 (0.38- 0.57)	623.9	48	12.9	1.45±0.04	8901	15.3
Q stok kültür son	0.02(0.09- 0.050)	416.7	13	32.0	1.20±0.06	2634	0.04

4.2.4. Spiromesifen insektisit biyoassayleri

Spiromesifen yaprak daldırma yöntemi ile beyazsinek 1. nimf dönemine uygulanmıştır. Spiromesifen ile B ve Q biyotipleri 8 kez seleksiyona tabi tutulmuşlardır. Sekiz seleksiyon sonucunda B biyotipinin LC₅₀ değerine göre ana popülasyon ile kıyaslandığında 3. 5 kat direnç gelişimi gözlemlenmiştir. Q biyotipinde LC₅₀ değerine göre ana popülasyona ile kıyaslandığında direnç gelişimi 2 kat olarak gözlemlenmiştir. İnsektisit uygulaması olmadan devam ettirilen Q biyotipinin stok kültür popülasyonunda 0.5 kat, B biyotipinde 0.2 kat direnç kaybı gözlemlenmiştir . (Çizelge 4.4).

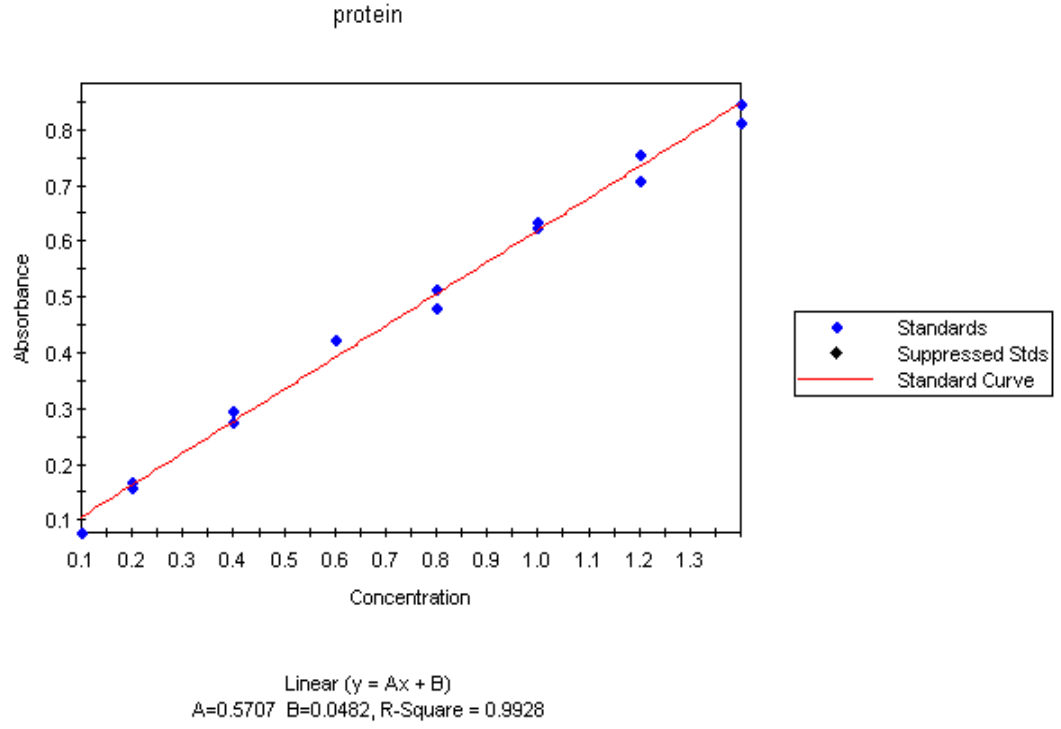
Çizelge 4.4. *Bemisia tabaci* B ve Q biyotiplerinin spiromesifen ile biyoassay sonuçları (DK: direnç gelişim oranı, N: biyoassaylerde kullanılan beyazsinek sayısı)

Popülasyon (Biyotip)	LC ₅₀ (EM) mg/lt (%95 Güven aralığı)	Probit fit line			Eğim	N	DK
		X ²	df	P			
B stok kültür	0.4 (0.1- 0.8)	20.06	7	2.8	2.11±0.28	476	1
B biyotipi seleksiyon	1.4 (1.1- 1.8)	250.7	27	9.2	1.89±0.10	3651	3.5
B stok kültür son	0.08 (0.04 – 0.13)	642.7	35	18.3	0.91±0.03	3973	0.2
Q stok kültür	0.4 (0.3- 0.54)	11.2	8	1.4	2.47±0.22	712	1
Q biyotipi seleksiyon	0.8 (0.7- 1.0)	488.5	71	6.8	1.38±0.04	7171	2
Q stok kültür son	0.2 (0.16 – 0.26)	80.5	20	4.0	1.40±0.06	3040	0.5

4.3. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

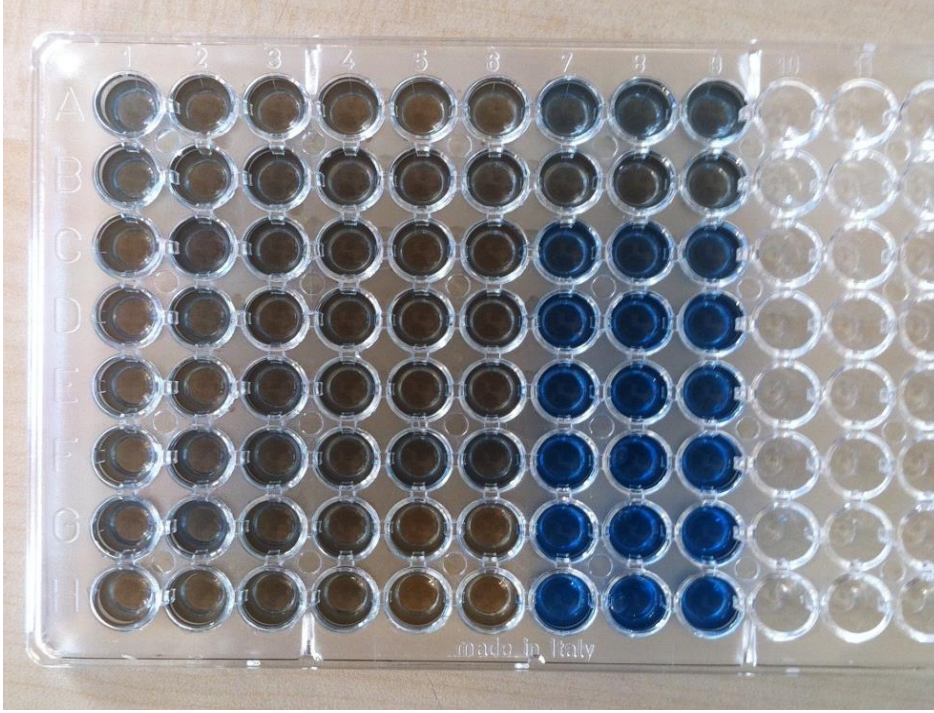
4.3.1. Protein miktarlarının belirlenmesi

Herbir popölasyonun protein miktarları Şekil 4.4 te BSA standart proteinden elde edilen standart eğri verilerine göre hesaplanmıştır.



Şekil 4.4. Protein standart eğrisi (Suppressed stds: Yok sayılan standart)

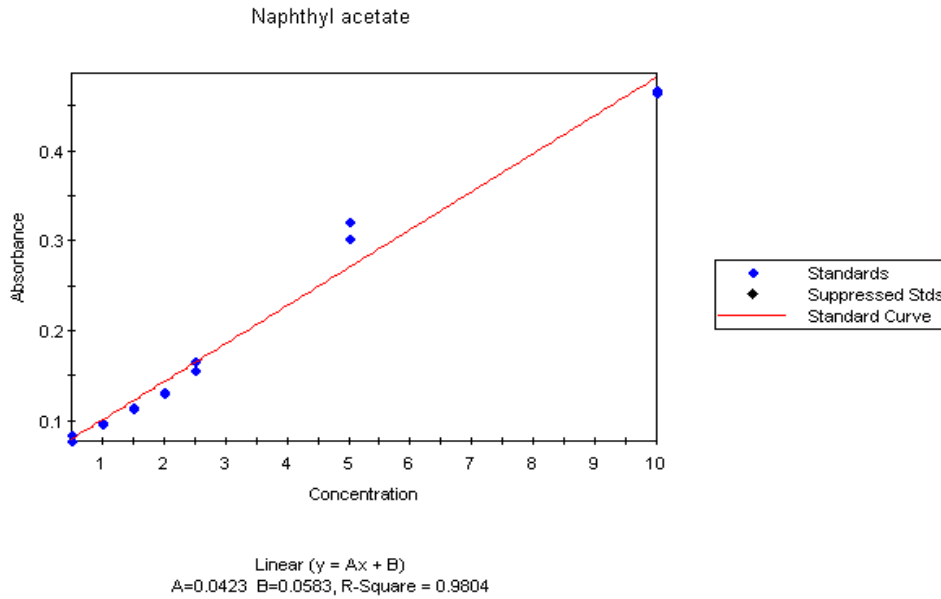
Protein miktarlarının belirlenmesi için enzim kaynakları ve BSA standartları üzerine eklenen Bradford solüsyonu ile reaksiyon sonucunda meydana gelen maviye doğru renk değişimi görülmektedir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Protein miktarı belirlenirken bradford solusyonu ile reaksiyon sonucu oluşan mavi renk

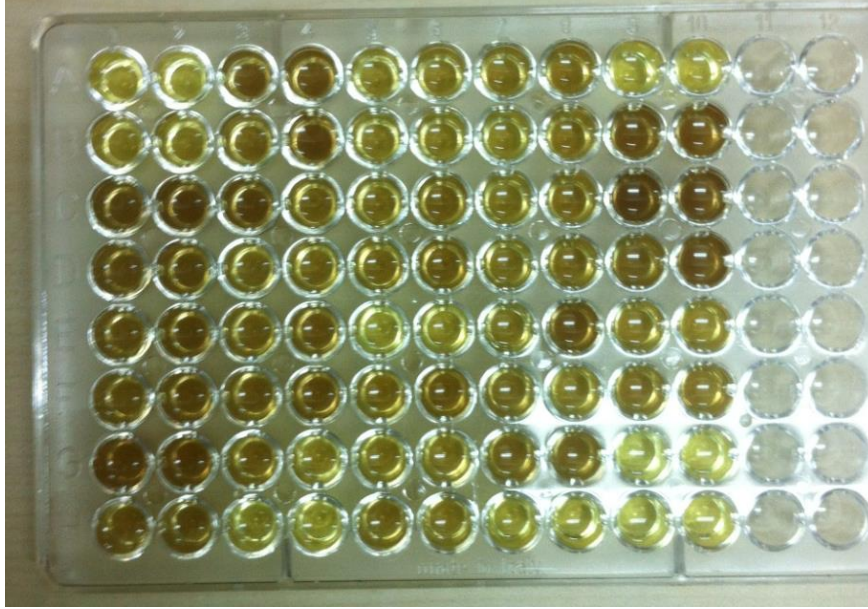
4.3.2. Esteraz enzim aktivitelerinin Belirlenmesi

Cypermethrin, spiromesifen, imidacloprid ve pyriproxyfen ile seleksiyon sonucunda EST aktivitesi α -NA substratı reaksiyonu sonucundaki absorbans değerleri ölçülerek 1-Naphtol standart eğrisine göre belirlenmiştir (Şekil 4.6).



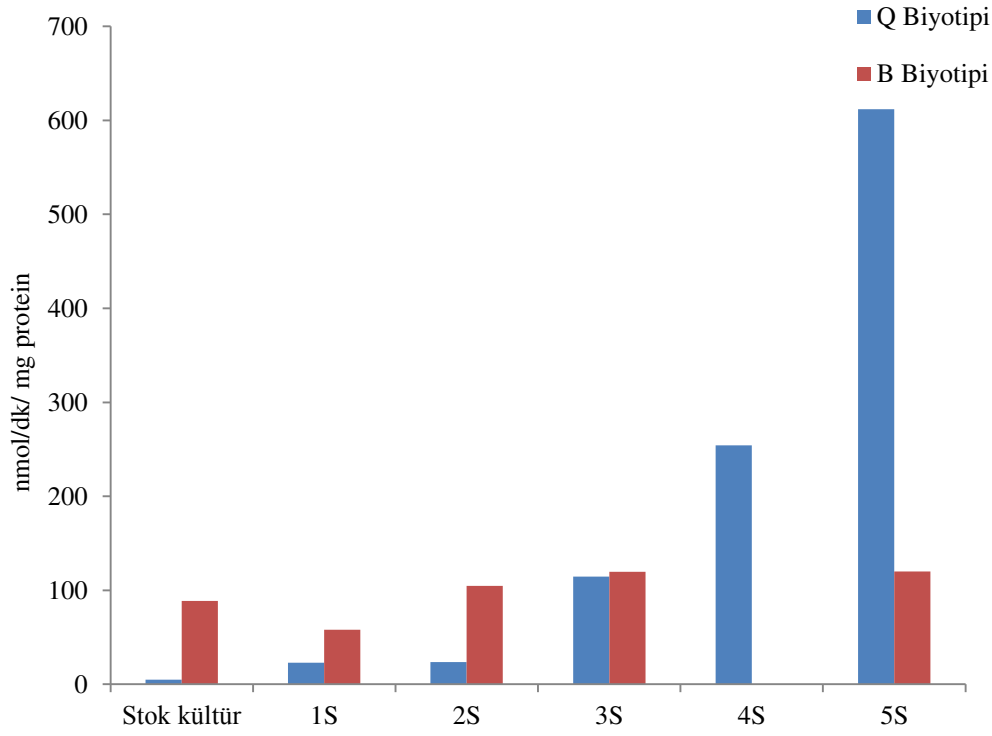
Şekil 4.6. Esteraz aktivitesi için 1-Naphtol standart eğrisi (Suppressed stds: yok sayılan standart)

EST aktivitesi reaksiyonunda aktivite arttıkça makro plakada sarıdan koyu sarı renge doğru değişim gözlemlenmiştir. Aktivitenin az olduğu makro plaka kuyucuklarında renk sarı olarak kalırken aktivite ile orantılı olarak renk değişimi görsel olarakta gözlemlenebilmektedir (Şekil 4.7)



Şekil 4.7. Esteraz Aktivitesi sonucunda oluşan renk değişimi

Cypermethrin ile beş seleksiyon sonunda EST aktivitesi 611.74 nmole/dk/ mg protein olarak belirlenmiştir. Q biyotipinin stok kültür popülasyonu 4.76 nmole/dk/ mg protein olarak belirlenirken stok kültür popülasyonunun son hali ise 14.59 nmole/dk/ mg protein olarak belirlenmiştir. Q biyotipinde seleksiyon sonunda yaklaşık 128 kat fazla EST enzim aktivitesi gözlemlenmiştir. Stok kültür popülasyonunun kendi içindeki değişim yaklaşık 3 katlık artış olarak gözlemlenmiştir. B biyotipinin stok kültür popülasyonunda 88.63 nmole/dk/ mg protein EST aktivitesi gözlemlenirken beş seleksiyon sonundaki aktivite 119.96 nmole/dk/ mg protein olarak gözlemlenmiştir. B biyotipinin stok kültür popülasyonunun son EST aktivitesi ise 85.17 olarak gözlemlenerek azda olsa bir düşüş gerçekleşmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotipi cypermethrin ile seleksiyonundaki esteraz enzim aktivitesi değişimi

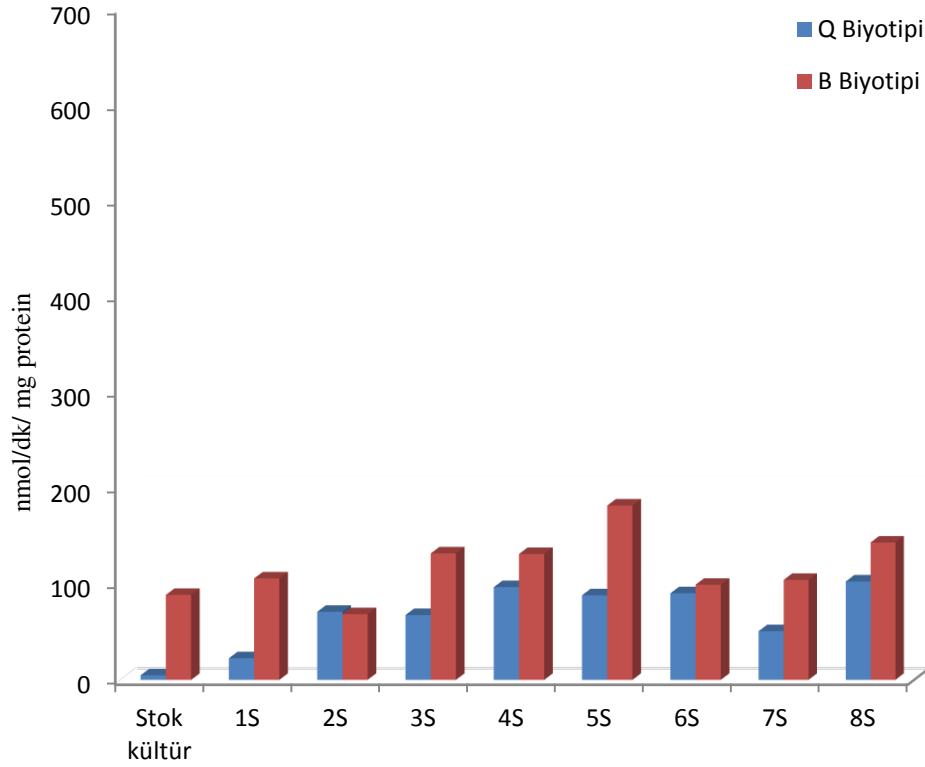
Cypermethrin seleksiyonu sonundaki EST aktivitesindeki değişim Q biyotipinde istatistiki olarak önemli iken B biyotipindeki EST aktivitesi değişimi istatistiki olarak önemsizdir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotiplerinin cypermethrin ile seleksiyonundaki esteraz aktivitesi (nmol/dk/mg protein)

	Q		B
Stok kültür	4.76 ± 2.23 ^{b*}	Stok kültür	88.63 ± 31.12 ^a
Seleksiyon	611.74 ± 131.04 ^a	Seleksiyon	119.96 ± 17.84 ^a

* Aynı sütundaki farklı harf ile gösterilen ortalamalar önemli bulunmuştur (P<0.05).

Spiromesifen ile sekiz seleksiyon sonunda EST aktivitesi Q biyotipinde 102.58 olarak belirlenmiştir. B biyotipinde ise 143.59 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.9). Q biyotipi EST aktivitesinde yaklaşık olarak 21.5 katlık, B biyotipi EST aktivitesinde yaklaşık 1.61 kat artış gözlemlenmiştir.



Şekil 4.9. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotipi spiromesifen ile seleksiyonundaki esteraz enzim aktivitesi değişimi

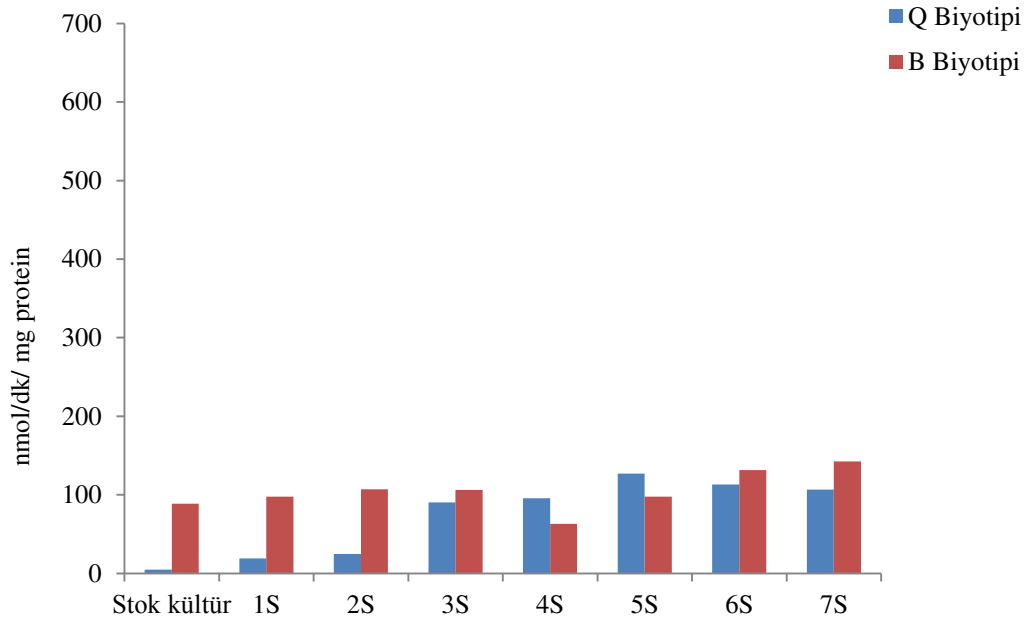
Spiromesifen seleksiyonu sonundaki EST aktivitesindeki değişim Q biyotipinde istatistiki olarak önemli iken B biyotipinde EST aktivitesi değişimi istatistiki olarak önemsizdir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotiplerinin spiromesifen ile seleksiyonundaki esteraz aktivitesi (nmol/dk/mg protein)

	Q		B
Stok kültür	4.76 ± 2.23 ^{b*}	Stok kültür	88.63 ± 31.12 ^a
Seleksiyon	102.58 ± 22.05 ^a	Seleksiyon	143.59 ± 34.32 ^a

* Aynı sütundaki farklı harf ile gösterilen ortalamalar önemli bulunmuştur (P<0.05).

Pyriproxyfen ile yedi seleksiyon sonunda EST aktivitesi Q biyotipinde 106.87, B biyotipinde ise 142.3 olarak belirlenmiştir. Q biyotipindeki artış yaklaşık 22 kat olurken B biyotipindeki artış 1.60 kat olmuştur (Şekil 4.10.).



Şekil 4.10. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotipi pyriproxyfen ile seleksiyonundaki esteraz enzim aktivitesi değişimi

Pyriproxyfen seleksiyonu sonundaki EST aktivitesindeki değişim Q biyotipinde istatistiki olarak önemli, B biyotipindeki EST aktivitesi değişimi istatistiki olarak önemsizdir (Çizelge 4.7).

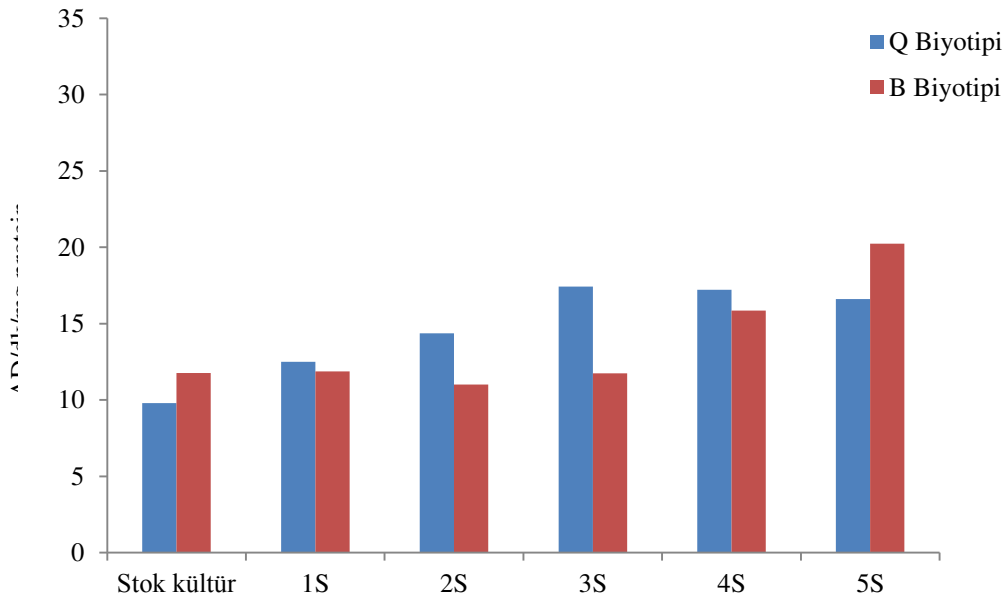
Çizelge 4.7. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotiplerinin pyriproxyfen ile seleksiyonundaki esteraz aktivitesi (nmol/dk/mg protein)

	Q		B
Stok kültür	4.76 ± 2.23 ^{b*}	Stok kültür	88.63 ± 31.12 ^a
Seleksiyon	106.87 ± 30.06 ^a	Seleksiyon	142.36 ± 30.51 ^a

* Aynı sütundaki farklı harf ile gösterilen ortalamalar önemli bulunmuştur (P<0.05).

4.3.3. Asetilkolinesteraz aktivitesinin belirlenmesi

Cypermethrin, spiromesifen, imidacloprid ve pyriproxyfen ile seleksiyon yapılan popülasyonların AChE aktivitesi belirlenmiştir. Q biyotipinin anastok popülasyonunun AChE aktivitesi 9.79 olarak belirlenmiştir. B biyotipinin anastok popülasyonunun AChE aktivitesi 11.77 AD/ dk/ mg protein olarak belirlenmiştir. Cypermethrin ile beş seleksiyon sonundaki AChE aktivitesi Q biyotipinde 16.61 AD/dk/ mg protein olarak belirlenirken 1.69 kat artış gözlemlenmiştir. B biyotipinde 20.24 olarak AD/ dk/ mg protein olarak belirlenmiştir, AChE aktivitesindeki artış ise 1.71 kat olmuştur (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotipi cypermethrin ile seleksiyonundaki asetilkolinesteraz enzim aktivitesi değişimi

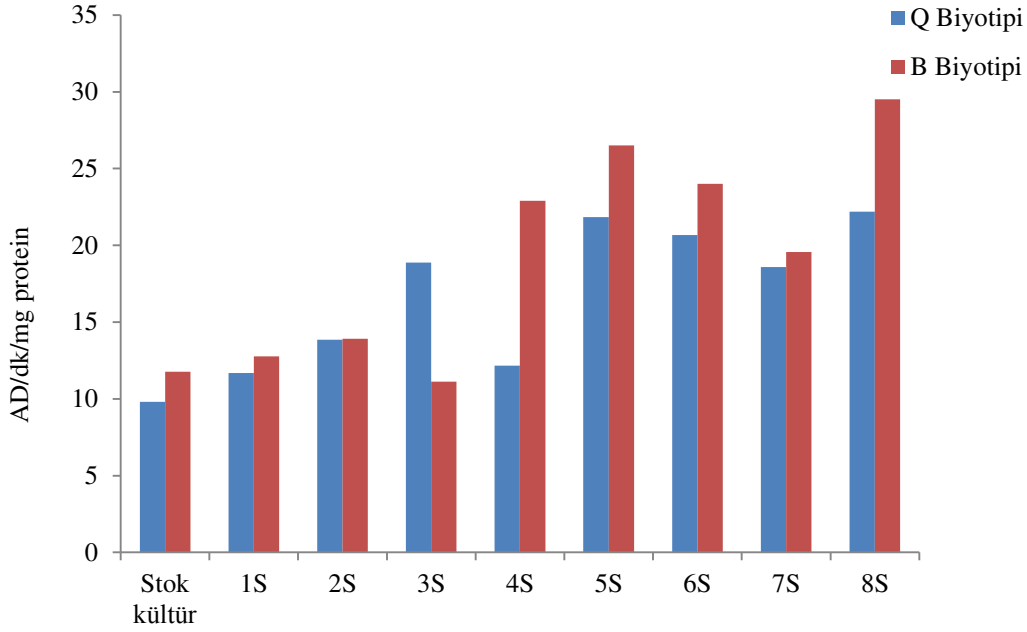
Cypermethrin seleksiyonu sonundaki AChE enzim aktivitesindeki değişim Q ve B biyotiplerinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotiplerinin cypermethrin ile seleksiyonundaki asetilkolinesteraz aktivitesi (AD/dk/mg protein)

	Q		B
Stok kültür	9.79 ± 0.44 ^{b*}	Stok kültür	11.77 ± 0.52 ^b
Seleksiyon	16.61 ± 0.83 ^a	Seleksiyon	20.24 ± 0.68 ^a

* Aynı sütundaki farklı harf ile gösterilen ortalamalar önemli bulunmuştur (P<0.01).

Spiromesifen ile seleksiyon sonucunda AChE aktivitesi sekiz seleksiyon sonunda Q biyotipinde 22.19, B biyotipinde ise 29.51 olarak belirlenmiştir. Q biyotipindeki artış yaklaşık 2.26 kat, B biyotipindeki artış yaklaşık 2.50 kat olmuştur (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotipi spiromesifen ile seleksiyonundaki asetilkolinesteraz enzim aktivitesi değişimi

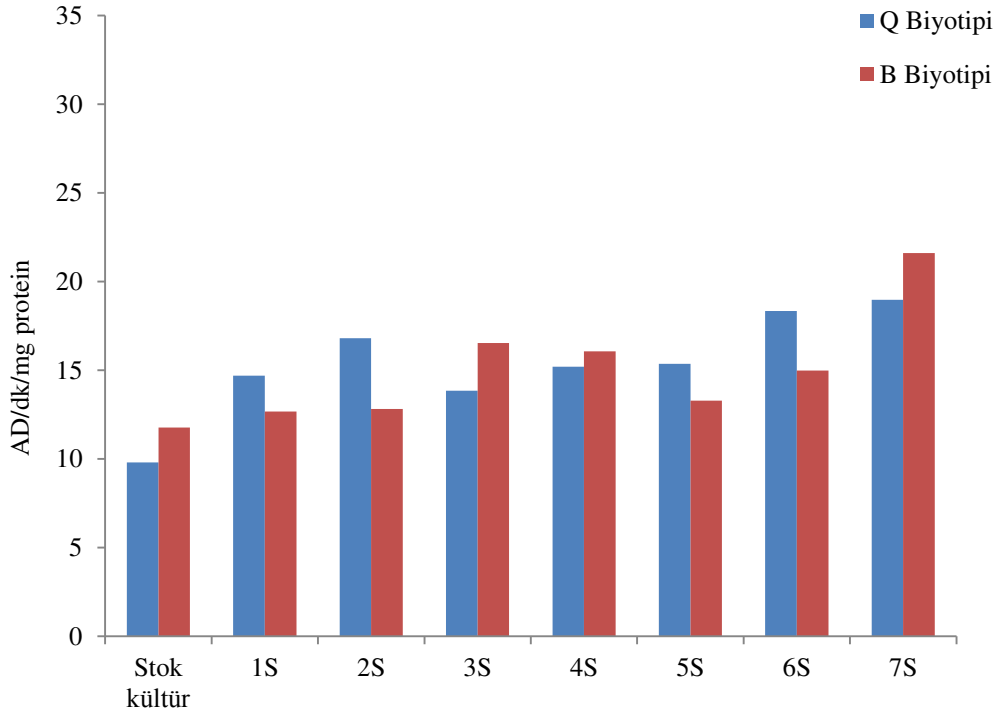
Spiromesifen seleksiyonu sonundaki AChE enzim aktivitesindeki değişim Q ve B biyotiplerinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotiplerinin spiromesifen ile seleksiyonundaki asetilkolinesteraz aktivitesi (AD/dk/mg protein)

	Q		B
Stok kültür	9.79 ± 0.44 ^{b*}	Stok kültür	11.77 ± 0.52 ^b
Seleksiyon	22.19 ± 0.66 ^a	Seleksiyon	29.51 ± 1.83 ^a

* Aynı sütundaki farklı harf ile gösterilen ortalamalar önemli bulunmuştur (P<0.01).

Pyriproxyfen ile yedi seleksiyon sonunda AChE aktivitesi Q biyotipinde 18.97, B biyotipinde ise 21.61 olarak belirlenmiştir. B biyotipindeki artış 1.83 kat olurken Q biyotipindeki artış 1.93 kat olarak gözlemlenmiştir (Şekil 4.13.).



Şekil 4.13. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotipinin pyriproxyfen ile seleksiyonundaki asetilkolinesteraz enzim aktivitesi değişimi

Pyriproxyfen seleksiyonu sonundaki AChE enzim aktivitesindeki değişim Q ve B biyotiplerinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.10).

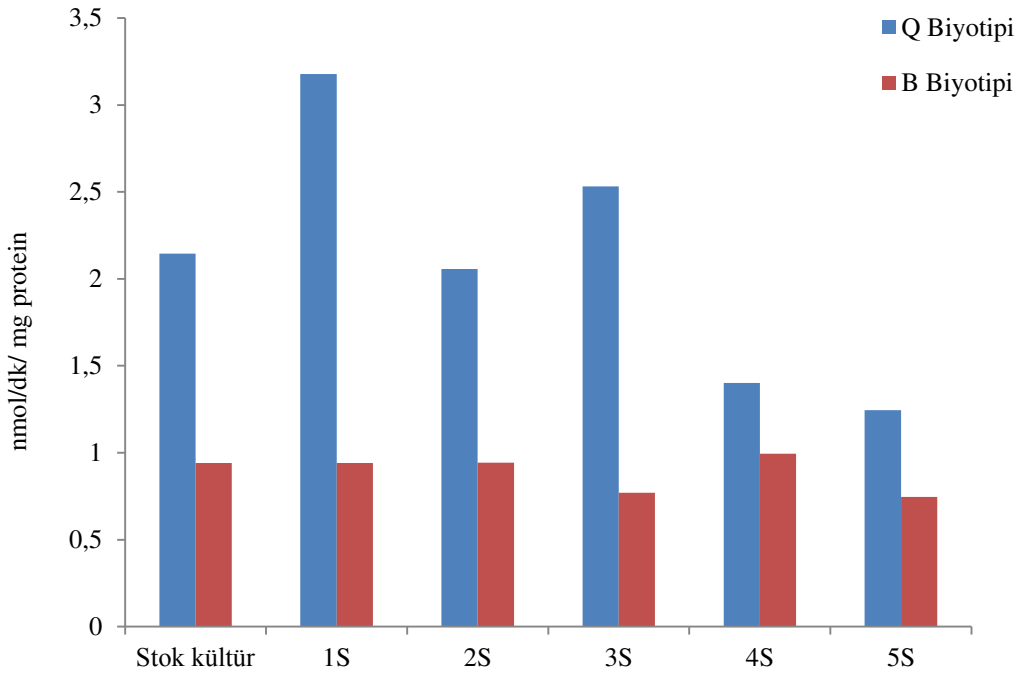
Çizelge 4.10. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotiplerinin pyriproxyfen ile seleksiyonundaki asetilkolinesteraz aktivitesi (AD/dk/mg protein)

Q		B	
Stok kültür	9.79 ± 0.44 ^{b*}	Stok kültür	11.77 ± 0.52 ^b
Seleksiyon	18.97 ± 0.76 ^a	Seleksiyon	21.61 ± 0.96 ^a

* Aynı sütundaki farklı harf ile gösterilen ortalamalar önemli bulunmuştur (P<0.01).

4.3.4. Glutathion S-Transferaz enzim aktivitesinin ölçülmesi

Cypermethrin, spiromesifen, imidacloprid ve pyriproxyfen ile seleksiyon yapılan popülasyonların GST aktivitesi de belirlenmiştir. Q biyotipinin anastok popülasyonunun GST aktivitesi 2.14 nmol/dk/mg protein olarak belirlenmiştir. B biyotipinin anastok popülasyonunun GST aktivitesi 0.94 nmol/dk/mg proteine olarak belirlenmiştir. Cypermethrin ile beş seleksiyon sonundaki GST aktivitesi Q biyotipinde 1.24 nmol/ dk/ mg protein olarak belirlenirken 1.72 kat değişim gözlemlenmiştir. B biyotipinde 0.74 olarak nmol/dk/mg protein olarak belirlenmiştir. GST aktivitesindeki değişim ise 1.27 kat olmuştur (Şekil 4.14.).



Şekil 4.14. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotipi cypermethrin ile seleksiyonundaki Glutathion S-Transferaz enzim aktivitesi değişimi

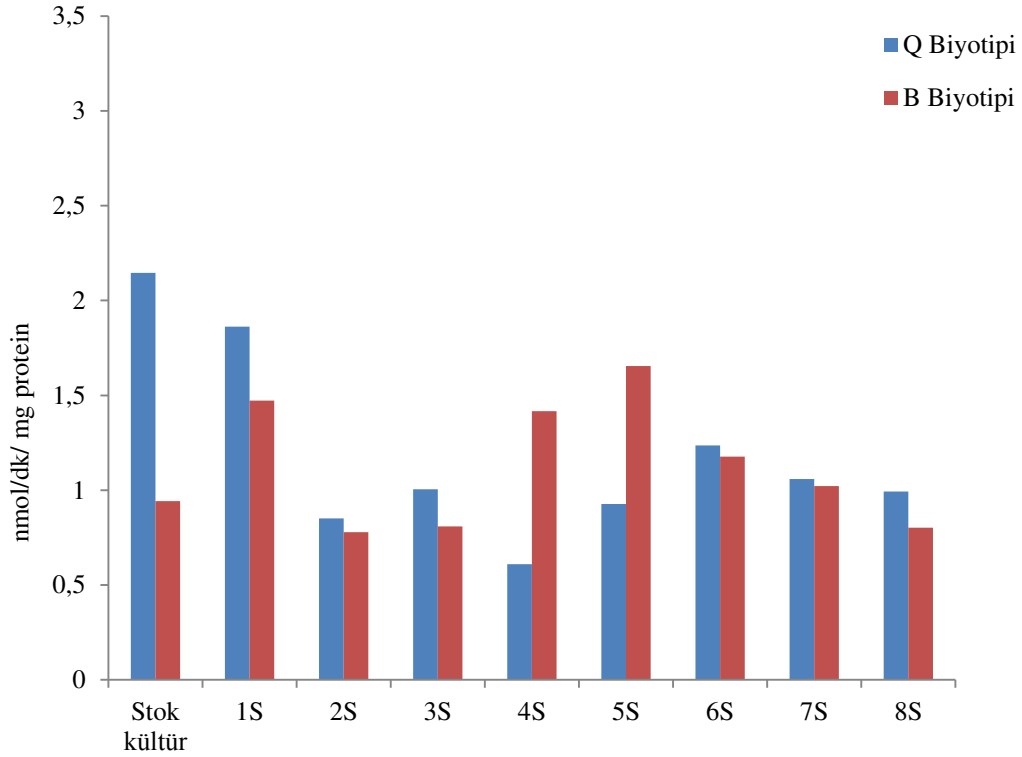
Cypermethrin seleksiyonu sonundaki GST enzim aktivitesindeki değişim Q biyotipinde ve B biyotipindeki istatistiki olarak önemlidir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotiplerinin cypermethrin ile seleksiyonundaki Glutathion S-Transferaz enzim aktivitesi (nmol/dk/mg protein)

	Q		B
Stok kültür	2.14 ± 0.13 ^{a*}	Stok kültür	0.94 ± 0.05 ^{a**}
Seleksiyon	1.24 ± 0.16 ^b	Seleksiyon	0.74 ± 0.04 ^b

*Aynı sütundaki farklı harf ile gösterilen ortalamalar önemli bulunmuştur (*P<0.01,**P< 0.05).

Spiromesifen ile seleksiyon sonucunda GST aktivitesi sekiz seleksiyon sonunda Q biyotipinde 0.99 nmol/dk/mg protein, B biyotipinde ise 0.80 nmol/dk/mg protein olarak belirlenmiştir. Q biyotipinde yaklaşık 2.16 kat değişim gözlemlenmiştir, B biyotipindeki değişim yaklaşık 1.17 kat olmuştur (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotipi spiromesifen ile seleksiyonundaki Glutathion S-Transferaz enzim aktivitesi değişimi

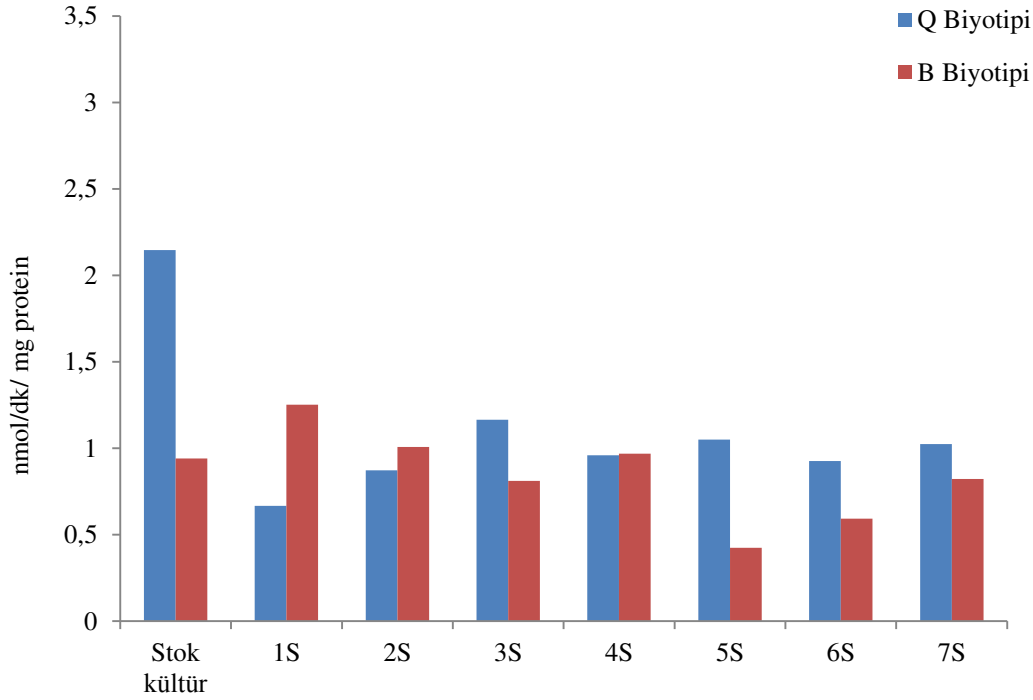
Spiromesifen seleksiyonu sonundaki GST enzim aktivitesindeki değişim Q biyotipinde istatistiki olarak önemli iken B biyotipindeki GST enzim aktivitesi değişimi istatistiki olarak önemsizdir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotiplerinin spiromesifen ile seleksiyonundaki Glutathion S-Transferaz enzim aktivitesi (nmol/dk/mg protein)

	Q		B
Stok kültür	2.14 ± 0.13 ^{a*}	Stok kültür	0.94 ± 0.05 ^a
Seleksiyon	0.99 ± 0.02 ^b	Seleksiyon	0.80 ± 0.01 ^a

*Aynı sütundaki farklı harf ile gösterilen ortalamalar önemli bulunmuştur (P<0.01).

Pyriproxyfen ile seleksiyon sonunda GST aktivitesi Q biyotipinde 1.02 nmol/dk/mg protein, B biyotipinde ise 0.82 nmol/dk/mg protein olarak belirlenmiştir. Q biyotipinde seleksiyon sonunda enzim aktivitesinde 2.09 kat değişim gözlemlenirken, B biyotipindeki değişim 1.14 kat olarak gözlemlenmiştir. (Şekil 4.16.).



Şekil 4.16. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotipi pyriproxyfen ile seleksiyonundaki Glutathion S-Transferaz enzim aktivitesi değişimi

Pyriproxyfen seleksiyonu sonundaki GST enzim aktivitesindeki değişim Q biyotipinde istatistiki olarak önemli iken B biyotipindeki GST enzim aktivitesi değişimi istatistiki olarak önemsizdir (Çizelge 4.13).

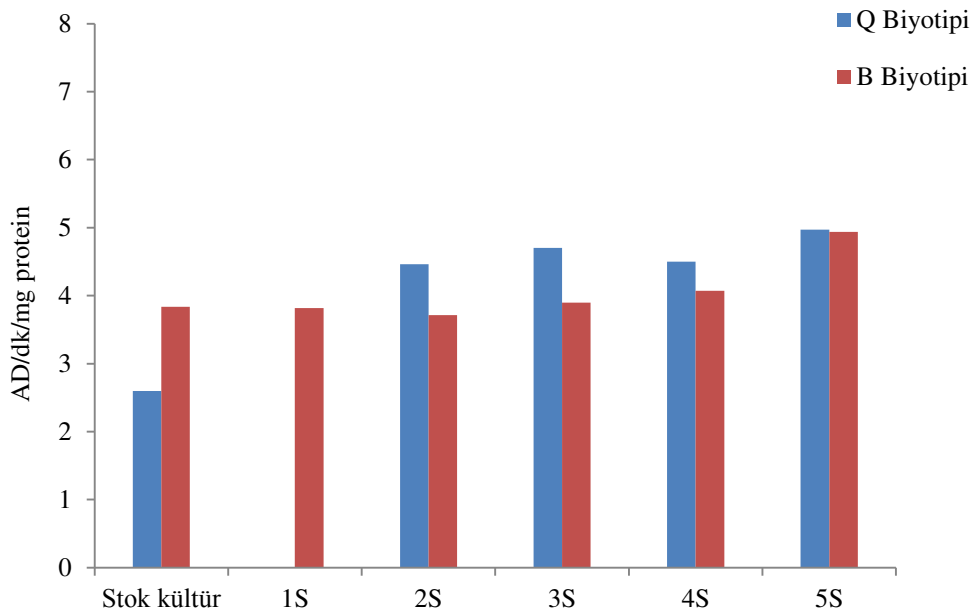
Çizelge 4.13. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotiplerinin pyriproxyfen ile seleksiyonundaki Glutathion S-Transferaz enzim aktivitesi

Q		B	
Stok kültür	2.14 ± 0.13 ^{a*}	Stok kültür	0.94 ± 0.05 ^a
Seleksiyon	1.02 ± 0.11 ^b	Seleksiyon	0.82 ± 0.01 ^a

*Aynı sütundaki farklı harf ile gösterilen ortalamalar önemli bulunmuştur (P<0.01).

4.3.5. Sitokrom P450 monooksijenaz enzim aktivitesinin ölçülmesi

Cypermethrin, spiromesifen, imidacloprid ve pyriproxyfen ile seleksiyon yapılan popülasyonların monooksijenaz P450 PNOD aktivitesi belirlenmiştir. Q biyotipinin anastok popülasyonunun PNOD aktivitesi 2.59 AD/dk/mg protein olarak belirlenmiştir. B biyotipinin anastok popülasyonunun PNOD aktivitesi 3.83 AD/dk/mg protein olarak belirlenmiştir. Cypermethrin ile seleksiyon sonucunda Q biyotipinin PNOD aktivitesi 4.97 AD/dk/mg protein olarak belirlenmiştir. B biyotipinin PNOD aktivitesi 4.94 AD/dk/mg protein olarak belirlenmiştir. Q biyotipinde 1.91 kat artış gözlemlenirken B biyotipinde 1.28 kat artış gözlemlenmiştir. (Şekil 4.17) .



Şekil 4.17. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotipi pyriproxyfen ile seleksiyonundaki monooksijenaz enzim aktivitesi değişimi

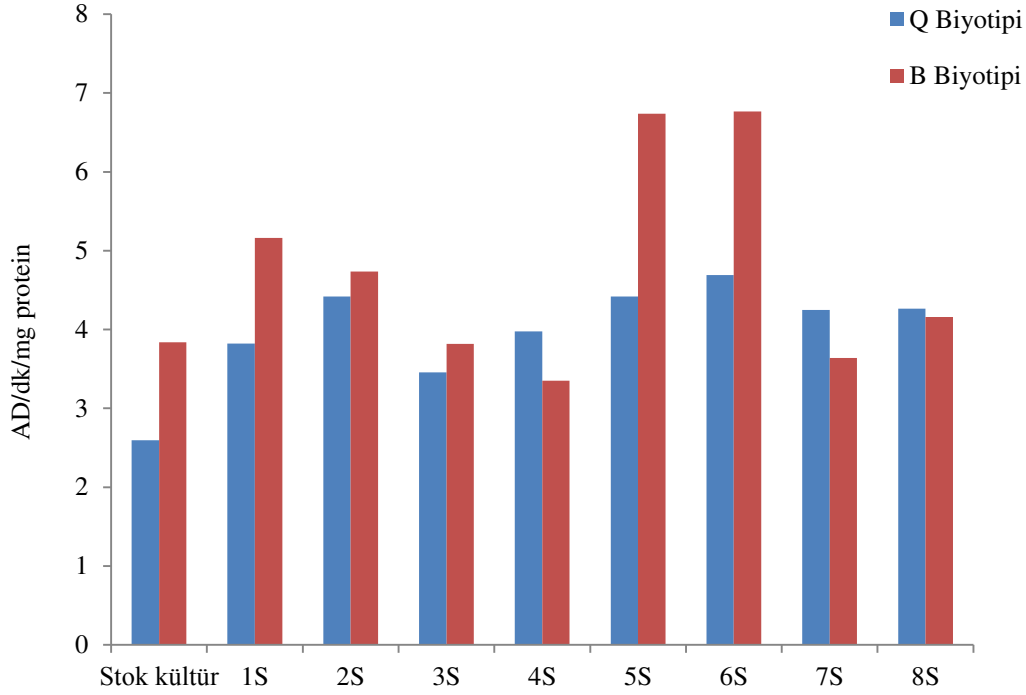
Cypermethrin seleksiyonu sonundaki P450 enzim aktivitesindeki değişim Q biyotipinde istatistiki olarak önemli iken, B biyotipindeki P450 enzim aktivitesi değişimi istatistiki olarak önemli değildir (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14 *Bemisia tabaci* Q ve B biyotiplerinin cypermethrin ile seleksiyonundaki monooksijenaz enzim aktivitesi (AD/dk/mg protein)

	Q		B
Stok kültür	2.59 ± 0.07 ^b	Stok kültür	3.83±0.14 ^a
Seleksiyon	4.97 ± 0.11 ^a	Seleksiyon	4.94±0.51 ^a

* Aynı sütundaki farklı harf ile gösterilen ortalamalar önemli bulunmuştur (P<0.01).

Spiromesifen ile seleksiyon sonucunda PNOD aktivitesi sekiz seleksiyon sonunda Q biyotipinde 4.26 AD/dk/mg protein olarak belirlenmiştir. B biyotipinde ise 4.15 AD/dk/mg protein olarak belirlenmiştir. Q biyotipindeki artış yaklaşık 1.77 kat, B biyotipindeki artış yaklaşık 1.08 kat olmuştur (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotipi spiromesifen etkili maddesi ile seleksiyonundaki monooksijenaz enzim aktivitesi değişimi

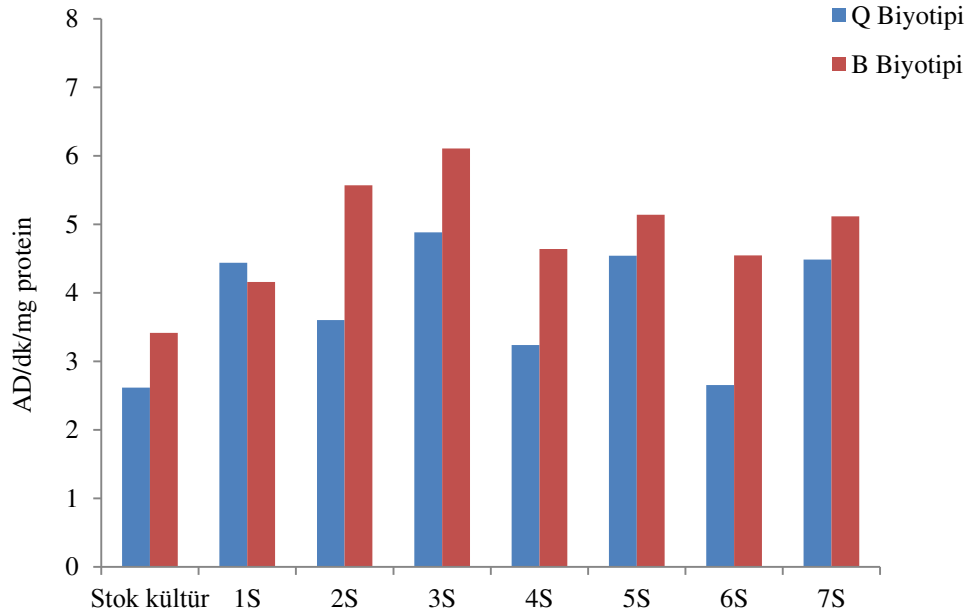
Spiromesifen seleksiyonu sonundaki P450 enzim aktivitesindeki değişim Q biyotipinde istatistiki olarak önemli iken, B biyotipindeki P450 enzim aktivitesi değişimi istatistiki olarak önemli değildir (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotiplerinin spiromesifen ile seleksiyonundaki monooksijenaz enzim aktivitesi (AD/dk/mg protein)

	Q		B
Stok kültür	2.59 ± 0.07 ^b	Stok kültür	3.83±0.14 ^a
Seleksiyon	4.26 ± 0.14 ^a	Seleksiyon	4.15±0.08 ^a

* Aynı sütundaki farklı harf ile gösterilen ortalamalar önemli bulunmuştur (P<0.01).

Pyriproxyfen ile seleksiyon sonunda PNOD aktivitesi Q biyotipinde 4.48 AD/dk/mg protein olarak belirlenmiştir. B biyotipinde ise 5.11 AD/dk/mg protein olarak belirlenmiştir B biyotipindeki artış 1.33 kat olurken Q biyotipindeki ise artış yaklaşık 1.72 kat olmuştur (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotipi pyriproxyfen ile seleksiyonundaki monooksigenaz enzim aktivitesi değişimi

Pyriproxyfen seleksiyonu sonundaki P450 enzim aktivitesindeki değişim B ve Q biyotiplerinde istatistiki olarak önemlidir (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. *Bemisia tabaci* Q ve B biyotiplerinin pyriproxyfen ile seleksiyonundaki monooksigenaz enzim aktivitesi (AD/dk/mg protein)

	Q		B
Stok kültür	2.59 ± 0.07 ^b	Stok kültür	3.83±0.14 ^b
Seleksiyon	4.48 ± 0.03 ^a	Seleksiyon	5.11±0.03 ^a

* Aynı sütundaki farklı harf ile gösterilen ortalamalar önemli bulunmuştur (P<0.01).

5. TARTIŞMA

Biyotip kavramı *B. tabaci*'de 1950'lerde morfolojik olarak ayıramayan popülasyonların farklı biyolojik özellik göstermesinden sonra ileri sürülmüştür (Brown vd 1995, Perring 2001). Bu farklılık coğrafi olarak izole popülasyonlarda farklı konukçularda beslenme veya üreme kabiliyetleri ile virüs taşıma özellikleri olarak ortaya çıkmaktadır (De La Rua vd 2006). Aynı zamanda insektisitlere farklı seviyede hassasiyet ve direncin biyotiplerin biyolojik farklılıklarından kaynaklandığı ileri sürülmektedir (Horowitz vd 2005). Bu popülasyonlar genellikle spesifik fitotoksik reaksiyonların varlığı, esteraz marker karakterleri ve birçok DNA parmak izi tekniği ile tanımlanmaktadır ve farklı biyotip olarak isimlendirilmektedir (De La Rua vd 2006). Bu genetik farklılığın seviyesi 33 farklı biyotipin tanımlanması ilede görülmektedir (Xu vd 2010). B biyotipi en çok bilinen biyotip durumuna gelmiştir. Q biyotipinin İber yarımadası ile sınırlı olduğu düşünülürken son zamanlarda Akdeniz havzasında geniş yayılım gösterdiği bildirilmektedir (Hsieh vd 2007). Dinsdale vd (2010) analizleri sonucunda *B. tabaci* popülasyonlarını 24 genetik grup altında gruplandırmışlardır. Q biyotipinin "Akdeniz" grubunda yer aldığını, B biyotipinin "Orta Doğu-Asya minör 1 grubunda yer aldığını belirtmişlerdir.

Antalya popülasyonları ve Aydın Koçarlı popülasyonunun mtCOI bölgesinin sekans analizi sonucunda Antalya popülasyonları B biyotipi, Aydın Koçarlı popülasyonu Q biyotipi olarak bulunmuştur. İkten vd (2007) çalışmalarında Antalya Kumluca ve Demre popülasyonlarını Q biyotipi olarak tespit etmişlerdir. Ancak bulgularımıza göre B biyotipi bu iki bölgede zamanla Q biyotipinin yerini alarak hakim biyotip olmuştur. Benzer şekilde Kumluca'da B biyotipi Erdoğan vd (2011) tarafından tespit edilmiştir. Khasdan vd (2005) İsrail'de B ve Q biyotip yayılışının muhtemelen konukçuya bağlı olmadığını aksine yayılımı büyük ölçüde coğrafi konuma bağlamaktadırlar. Örneğin Ayalon Vadisi popülasyonlarının çoğunluğu Q biyotipi olarak isimlendirilirken batı Negev'den örnekler B biyotipi olarak tanımlanmıştır. Carmel Coast bölgesinde 2000-2002 seneleri boyunca pamuk tarlalarından alınan örneklerin Q biyotipi olarak tespit edildiğini ancak 2003 senesinin pamuk sezonunun ortalarında (Temmuz) B biyotipini hakim biyotip olarak tespit etmişlerdir. Benzer trendin 2004 yılındada gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Q biyotipinin yerini B biyotipinin alması bizim bulgularımıza benzer şekildedir. B biyotipinin görünmesinin sebebinin açık olmadığını, muhtemelen *B. tabaci* popülasyonlarının sezonsal göçüyle ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. İnsektisitlere karşı B ve Q biyotiplerinde farklı direnç seviyelerinin olması İsrail'de veya herhangi bir yerde B ve Q biyotiplerinin yayılımını ve dinamiklerini etkilediğini belirtmişlerdir. Sonuçlarının pamukta insektisit uygulamasının olmadığı alanlarda Q biyotipinin yerini B biyotipinin aldığını, insektisit uygulaması olmayan yetiştiricilikte B biyotipinin Q biyotipine kıyasla daha rekabetçi olduğunu belirtmişlerdir. Organik yetiştiricilik yapılan alanlardan ve çevresinden toplanan örneklerin B biyotipi çıkması Q biyotipinin insektisitlere B biyotipinden yüksek toleransa sahip olduğu ve B biyotipinin uygulama yapılmayan alanlarda rekabetçi olduğu varsayımlarını desteklediğini belirtmişlerdir. Horowitz ve Ishaaya (2014) pamuk yetiştiriciliği yapılan dört farklı bölgede 2003-2012 yılları arasında erken ve geç sezon olarak B ve Q biyotiplerinin değişimini izlemişlerdir. Genel olarak 2008 yılına kadar Q biyotipinin geç sezonda tüm bölgelerde hakim olduğunu belirtmişlerdir. Ayalon Vadisinde 2007 yılına kadar Q biyotipinin hakim olduğunu, 2005-2007 yılları

arasında erken sezonda %20 oranında B biyotipi örneklenirken geç sezonda bu oranın %5'lerin altına düştüğünü belirtmişlerdir. 2009 yılından itibaren ise B biyotipinin tüm pamuk alanlarında erken ve geç sezonda hakim tür olduğunu bildirmişlerdir. Bunun sebebinin insektisit uygulamasının azalması ile B biyotipinin insektisit uygulaması olmayan alanlardaki rekabetçiliği olduğu, ya da B biyotipinde bazı insektisitlere karşı direncinde artış olmasından kaynaklandığı ve biyotip değişiminin bir diğer nedeninin de simbiyontları tarafından enfeksiyonundan kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Kontsedalov vd (2012) İsrail'de biyotip değişim durumunu 2008-2010 yılları arasında gözlemlemiştir. B biyotipinin açık alanda yetiştirilen ürünlerde, Q biyotipinin ise sera şartlarında yetiştirilen ürünlerde hakim biyotip olduğunu belirtmişlerdir. 2010 yılına kadar Q biyotipinin İsrail'de bir çok bölgede hakim biyotip olduğunu ancak B biyotipinin Q biyotipinin yerini alarak hakim biyotip olduğunu bildirmişlerdir.

Genel olarak B biyotipinin Q biyotipinin yerine hakim biyotip olması çalışmamızdaki bulgular ile benzerlik göstermektedir. Araştırmacıların belirttiği şekilde B biyotipinin yetiştiricilik sezonunun erken dönemlerinde görülmesi Kumluca ve Demre popülasyonlarının Çizelge 3.1'de belirtilen örnekleme tarihi iki bölge içinde yetiştiricilikte erken dönem olması ve erken yetiştiricilik sezonunda B biyotipinin bulunması ile paralellik göstermektedir. Pascual ve Callejas (2004) tek veya karışık kültürlerde B biyotipi ile kıyaslandığında Q biyotipi dişilerinin ve ergin öncesi dönemlerinin yüksek ölüm oranı ve düşük yumurtlama gücüne sahip olduğunu belirtmişlerdir. Aynı zamanda laboratuvar şartlarında domates bitkisi üzerinde Q biyotipi ile kıyaslandığında B biyotipinin yüksek üreme kapasitesi ve düşük gelişim süresine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bu iki bölgedeki değişimde Pascual ve Callejas (2004)'ün bulgularında dikkate alındığında bir önceki sezon sonunda seraların sökülmesinden sonra Q biyotipinin popülasyonunun azaldığı (hatta benzer döngülerde yok olabileceği) aksine B biyotipinin popülasyon yoğunluğunu sera dışında da kısa sürede arttırabilme kabiliyeti sayesinde B biyotipinin hakim biyotip olabileceği düşünülmektedir. Aynı şekilde erken sezonda B biyotipi Q biyotipine göre hızlı çoğalma kabiliyeti ile sera içindede hakim tür durumuna geçtiği düşünülmektedir. İkten vd (2007)'nin bu iki bölgedeki örnekleme tarihleri yetiştiricilik sezonunun sonu olan temmuz ayına denk gelmiştir. Bu veride göz önüne alındığında eğer Q biyotipi iki bölgede geçen zaman içerisinde tamamen yok olmadı ise Khasdan vd (2005), Kontsedalov vd (2012), Horowitz ve Ishaaya (2014)'ün bildirdiği şekilde insektisit direncine bağlı olarak yetiştiricilik sezonu sonunda tekrar ortaya çıkması ve hakim biyotip olması muhtemeldir. Bu ilçelerde ve Antalya'nın diğer ilçelerinde üretim sezonu başında ve üretim sezonu sonunda ayrı ayrı örnekleme yapılarak biyotip değişiminin izlenmesi bu konu hakkında daha fazla bilgi sahibi olunmasına katkı sağlayacaktır.

Biyotiplerin cypermethrin ile seleksiyonları sonunda LC_{50} seviyeleri karşılaştırıldığında Q biyotipinde cypermethrine karşı 213 kat direnç gelişimi gözlemlenirken, B biyotipinde bu oran yaklaşık 1.35 kat ile sınırlı kalmıştır. Q biyotipinde çok düşük LC_{50} seviyesinden beş seleksiyon gibi kısa sürede B biyotipinin seleksiyon sonunda sahip olduğu LC_{50} seviyesinin üstünde LC_{50} seviyesine sahip olduğu gözlemlenmiştir. İnsektisit uygulaması olmadan devam ettirilen Q biyotipinin stok kültür popülasyonunda direnç kaybı gözlemlenmez iken, B biyotipinde 0.93 kat direnç kaybı gözlemlenmiştir. Direnç seviyeleri ve EST aktiviteleri karşılaştırıldığında insektisit biyoassay sonuçları ile EST aktivite sonuçları örtüşmektedir. B biyotipinde

EST aktivitesindeki artış düşük oranda gerçekleşirken, aksine Q biyotipinde EST aktivitesi artışı 128 kat olmuştur. Q biyotipinin seleksiyon öncesi sahip olduğu düşük EST aktivitesine benzer bulguları, Göçmen vd (Yayınlanmamış proje) çalışmalarında Q biyotipinin B biyotipine göre çok düşük EST aktivitesine sahip olduğunu belirtmiştir. P450 monooksijenaz PNOD aktivitesinde Q biyotipinde 1.91 kat artış B biyotipinde 1.28 kat olmuştur. Her iki biyotipte P450 aktivitesinde artış olurken bu artış Q biyotipinde istatistiki olarak önemli iken, B biyotipinde istatistiki olarak önemsiz çıkmıştır. AChE aktivitesi Q biyotipinde 1.76 kat artarken, B biyotipindeki artış ise 1.71 kat olmuştur. Her iki biyotipteki artış istatistiki olarak önemlidir. GST aktivitesinde ise her iki biyotipte seleksiyon sonunda azalış olmuştur. Roditakis vd (2006) çalışmalarında pyretroid dirençli popülasyonda sitokrom P450 aktivitesinin ve EST aktivitesinin hassas popülasyonla kıyaslandığında oldukça yüksek olduğunu ancak GST aktivitesinin farklı olmadığını belirtmişlerdir. α -NA substratı ile EST aktivitesindeki artış 2.5 kat, P450 aktivitesinde 8.5 kat artış tespit etmişlerdir. Çalışmalarındaki GST verileri incelendiğinde dirençli popülasyonda azalma olması bizim bulgularımızla paralellik göstermektedir. Cypermethrin ile seleksiyon sonunda her iki biyotipte EST, AChE ve PNOD aktivitelerinde artış olmuştur. Bu veriler ışığında pyretroid direncinde ana direnç mekanizmasının EST aktivitesi olduğu, AChE ve P450 aktivitelerinde verilerimize göre düşük oranda etkili olduğu düşünülmektedir. Çalışmamız sonucunda B biyotipinin cypermethrine belirli bir seviyeye kadar direnç geliştirebilme kabiliyetine sahip olduğu, Q biyotipinin cypermethrine B biyotipine göre daha kısa sürede ve daha fazla direnç geliştirebilme kabiliyetine sahip olduğu belirlenmiştir.

Spiromesifen ile sekiz seleksiyon sonunda LC_{50} değerleri kıyaslandığında B biyotipinde 3.65 kat, Q biyotipinde 2.13 kat artış gözlemlenmiştir. İnsektisit uygulaması olmadan devam ettirilen Q biyotipinin stok kültür popülasyonunda 0.5 kat, B biyotipinde 0.2 kat direnç kaybı gözlemlenmiştir. Kontsedalov vd (2008) spiromesifenin ergin beyazsineklerde %40 ölüm oranı gösterirken 1. nimf dönemlerine daha fazla etkili olduğu bildirilmiş ve İsrail’de arazide bir yıl kullanımı sonunda direnç gelişimi gözlemlenmediğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda seleksiyonlar sonucunda her iki biyotipin de LC_{50} seviyelerinde artış olmuştur fakat bu seviyeler spiromesifenin tavsiye dozunun altında kalmıştır. Ilias vd (2012) çalışmalarında, *B. tabaci*’yi spiromesifen etkili maddesi ile dört kez seleksiyona tabi tutmuşlar ve herhangi bir direnç artışı olmadığını bildirmişlerdir. Enzim denemeleri sonucunda her iki biyotipte EST, AChE ve P450 aktivitesinde artış gözlemlenmiştir. GST aktivitesinde azalış olmuştur. Q biyotipinde EST aktivitesi yaklaşık 21 kat, AChE aktivitesi yaklaşık 2.26 kat, P450 aktivitesi yaklaşık 1.77 kat artmıştır. Artışlar Q biyotipinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur. B biyotipinde EST aktivitesi yaklaşık 1.61 kat, AChE aktivitesi yaklaşık 2.50 kat, P450 aktivitesi yaklaşık 1.08 kat artmıştır. B biyotipinde AChE aktivitesinin artışı istatistiki olarak önemli iken, EST ve P450 aktivitesindeki artışlar istatistiki olarak önemsiz çıkmıştır. B biyotipinde biyoassayler sonucunda Q biyotipine göre daha fazla direnç geliştirirken enzim aktivitelerinde ki artışın önemsiz çıkması B biyotipinin sahip olduğu direnç seviyesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. B biyotipindeki seleksiyon öncesi ve sonrasında belirlenen EST aktivitesi seviyesi bu sonucu desteklemektedir. Her iki biyotipteki enzim aktivitelerinin artışı göz önüne alındığında spiromesifen direncinde EST aktivitesinin ana direnç mekanizması olduğunu, AChE ve P450 aktivitelerinde verilerimize göre düşük oranda direnç mekanizmasında etkili olduğu düşünülmektedir.

Pyriproxyfen ile yedi seleksiyon sonunda B biyotipinin direnç düzeyinde LC₅₀ değerine göre yaklaşık 3.9 kat artış gözlenirken bu oran Q biyotipinin direnç düzeyinde yaklaşık 14.65 kat artış olarak gözlemlenmiştir. Horowitz vd (2005) çalışmalarında pyriproxyfen direnci görülen alanlarda Q biyotipini tespit ettiklerini, Pyriproxyfen direncinin Q biyotipi ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada insektisit uygulaması olmadan devam ettirilen Q biyotipinin stok kültür popülasyonunda 0.04 kat, B biyotipinde 0.43 kat direnç kaybı gözlemlenmiştir. EST aktivitesindeki artış Q biyotipinde 22 kat, B biyotipinde 1.60 kat olarak belirlenmiştir. AChE Aktivitesi Q biyotipinde 1.93 kat, B biyotipinde 1.92 kat olarak belirlenmiştir ve artışlar her iki biyotipte de istatistikî olarak önemli çıkmıştır. P450 aktivitesi Q biyotipinde 1.72 kat olarak belirlenirken aktivitedeki artış istatistiki olarak önemlidir. B biyotipinde P450 aktivitesi 1.33 kat artış gösterirken bu artış istatistiki olarak önemli çıkmıştır. GST aktivitesi azalış olarak gözlemlenmiştir. Ma vd (2010) çalışmalarında pyriproxyfen direnç mekanizmasında P450 ve GST aktivitelerinin yüksek çıkarak rol aldığını ancak EST aktivitesinin yüksek çıkmadığını belirtmişlerdir. Çalışmamızdan elde edilen verilere göre P450 aktiviteinde her iki biyotipte artış gözlemlenmiştir ancak Ma vd (2010) farklı olarak EST sonuçlarımızda ve AChE aktivitesinde artış olmuştur. Her iki biyotipteki enzim aktivitelerinin seviyeleri ve artışı göz önüne alındığında pyriproxyfen direncinde EST aktivitesinin ana direnç mekanizması olduğunu, AChE ve P450 aktivitelerinde verilerimize göre düşük oranda direnç mekanizmasında etkili olduğu düşünülmektedir. Çalışmamız sonucunda B biyotipinin pyriproxyfen belirli bir seviyeye kadar direnç geliştirebilme kabiliyetine sahip olduğu, Q biyotipinin pyriproxyfene B biyotipine göre daha kısa sürede ve daha fazla direnç geliştirebilme kabiliyetine sahip olduğu belirlenmiştir.

Çalışmada cypermethrin ile seleksiyon sonunda dirençli popülasyonda GST aktivitesinde düşüş gözlemlenmiştir. Benzer şekilde Pyriproxyfen ve spiromesifen ile seleksiyon sonunda dirençli popülasyonlarda GST aktivitesinde düşüş tespit edilmiştir. Benzer şekilde Roditakis vd (2006), Feng vd (2010), Rauch ve Nauen (2004), dirençli popülasyonların GST aktivitesinin hassas popülasyona göre düşük çıktığını belirtmişlerdir. Rauch ve Nauen (2003) GST aktivitesinin iki hassas popülasyonda en yüksek olduğunu diğer imidacloprid dirençli popülasyonların bunlara göre daha düşük aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. GST aktivitesinin dirençli popülasyonda hassas popülasyona göre düşük çıkmasının nedeni direnç ile GST aktivitesi arasında ters orantı olabileceği ya da aktivite belirleme yönteminde dirençli popülasyonun enzim kaynağının substratlardan birini inhibe etmesiyle absorbans değerinin düşük çıkmasıdır. GST aktivitesi farklı substratlar kullanılarak kıyaslanabilir.

Imidacloprid karşı çalışmada her iki biyotipe laboratuvar şartlarında direnç geliştirilememiştir. Seleksiyon uygulaması sonucunda canlı kalan bireyler bir sonraki seleksiyon uygulamasında kullanılmak üzere popülasyon oluşturmaları için beklenen sürede direnç kaybına uğradığı gözlemlenmiştir. Bu popülasyonlar bir sonraki seleksiyon için insektisit uygulandığında her defasında %100 ölüm gerçekleşmiştir. Rauch ve Nauen (2003) araziden topladıkları beyazsinek popülasyonlarının imidaclopride direnç seviyelerini belirlemişlerdir ve İsrail B biyotipi popülasyonunda 6 ay sonra tekrar direnç seviyesini tekrar belirlediklerinde azalma olduğunu gözlemlenmişlerdir. Nauen vd (2002) çalışmalarında İspanya'dan topladıkları ve ESP 98 olarak isimlendirdikleri popülasyonun 10 ay sonunda neonicotinoidlere direncini

kaybettiğini ve Q biyotipi olarak topladıkları ESP 98 popülasyonunun 10 ay sonunda tamamen B biyotipi olarak değiştiğini belirtmişlerdir. Muhtemelen bizim çalışmamızda da popülasyon oluşturmaları için beklenen sürede benzer şekilde direnç kaybına uğramaktadırlar.

6. SONUÇ

Çalışmada Antalya'nın farklı ilçelerinden ve Aydın-Koçarlı ilçesinden toplanan *B. tabaci* popülasyonları kullanılmıştır. Moleküler çalışmalar sonucunda mtCOI gen bölgesinin sekans verilerine göre Antalya ilçelerinin B biyotipi, Aydın-Koçarlı ilçesinin Q biyotipi olduğu belirlenmiştir. Popülasyonların biyotipleri belirlendikten sonra, cypermethrin, imidacloprid, Pyriproxyfen ve Spiromesifene karşı direnç potansiyelleri ve EST, AChE, P450 ve GST enzim aktiviteleri belirlenmiştir.

İnsektisit biyoassaylerinde yaprak daldırma yöntemi kullanılarak biyotiplerin farklı insektisitlere karşı LC₅₀ düzeyleri belirlenmiştir ve biyotipler aynı yöntemlerle seleksiyona tabi tutulmuştur. Biyoassayler sonucunda cypermethrin, pyriproxyfen ve imidaclopride karşı B biyotipinin LC₅₀ düzeylerinin, Q biyotipine göre ciddi oranda yüksek olduğu belirlenmiştir. Seleksiyonlar sonucunda B biyotipinde imidacloprid hariç tüm etkili maddelere karşı düşük oranda direnç artışı gözlemlenmiştir. Q biyotipinde ise özellikle Cypermethrin etkili maddesine karşı ciddi oranda artış gözlemlenmiştir. Pyriproxyfene karşı Q biyotipinde seleksiyon sonunda B biyotipi ile kıyaslandığında artış oranı yüksek olarak gözlemlenmiştir. Spiromesifene karşı artış B biyotipine göre düşük olmuştur. İmidaclopride karşı B ve Q popülasyonunda ise direnç kazanımı yerine direnç kaybı gözlemlenmiştir. Bu da imidaclopridin hasat süresine uyularak belirli aralıklarla beyazsineklerin mücadelesinde direnç yönetimi açısından kullanılabileceği fikrini uyandırmıştır.

Enzim aktiviteleri sonucunda cypermethrin ile seleksiyonunda Q biyotipinde EST aktivitesinin artışı en fazla olurken AChE ve P450 aktivitelerinin artışı belirli oranda olmuştur ve artışlar istatistiki olarak önemli bulunmuştur. B biyotipinde ise her üç enzim aktivitesinde artış olurken AChE aktivitesi dışındaki artışlar istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Pyretroid direncinde ana direnç mekanizmasının EST aktivitesi olduğu, AChE ve P450 aktivitelerinin verilerimize göre düşük oranda etkili olduğu düşünülmektedir. Spiromesifen ile seleksiyonda EST, AChE ve P450 aktivitelerinde artış gözlemlenmiştir. EST aktivitesindeki artış Q biyotipinde B biyotipi ile kıyaslandığında daha fazla olmuştur. Q biyotipindeki enzim aktiviteleri artışları istatistiki olarak önemli bulunmuştur. B biyotipinde AChE aktivitesi artışı istatistiki olarak önemli bulunurken diğer enzim aktivitelerinin artışları istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Spiromesifen direncinde EST aktivitesinin ana direnç mekanizması olduğunu, AChE ve P450 aktivitelerinin verilerimize göre düşük oranda direnç mekanizmasında etkili olduğu düşünülmektedir. Pyriproxyfen ile seleksiyon sonunda her iki biyotipte EST, AChE ve P450 aktivitelerinde artış gözlemlenmiştir. Q biyotipinde en fazla artış EST aktivitesinde olmuştur. B biyotipinde sadece AChE enzim aktivitesindeki artış istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Pyriproxyfen direncinde ana direnç mekanizmasının EST aktivitesi olduğu, AChE ve P450 aktivitelerinin verilerimize göre düşük oranda etkili olduğu düşünülmektedir.

Her iki biyotipte de cypermethrin, spiromesifen ve pyriproxyfen etkili maddelerine karşı EST, AChE ve P450 aktivitelerinde artış gözlemlenmiştir. B biyotipinin başlangıç ve seleksiyon sonundaki EST aktivite değerleri ile Q biyotipinin üç insektisit ile seleksiyon sonundaki EST aktivite verilerine göre bu üç etkili maddeye dirençte EST aktivitesinin daha çok etkili olduğu, AChE ve P450 aktivitelerinin

etkilerinin kısıtlı olduğu, aynı zamanda verilerimize göre EST aktivitesinin Q biyotipi ile ilişkili olduğu düşünölmektedir. Sonuçlar incelendiğinde B biyotipi sınırlı direnç geliştirme kabiliyetine sahip iken Q biyotipinin kısa sürede daha fazla direnç geliştirebildiğini bunun sebebinin de Q biyotipindeki yüksek EST aktivitesi olduğu kanaatine ulaşmaktayız.

Direnç problemi zararlıyla mücadelede sorun oluşturmakta ve ciddi ürün kayıplarına neden olmasının yanında, kalıntı sorunu ortaya çıkmaktadır. Zararlıyla mücadelede integre mücadeleye önem verilmesi, bu zararlıya karşı direnç yönetim programlarının uygulamaya konulması kaçınılmaz olmaktadır. Spiromesifen ve pyriproxyfen etkili maddelerinin kombinasyon içinde ve hedef biyolojik döneme uygun dozda ve uygun aralıklarla kullanılarak zararlıyla etkili mücadele yapılabilir.

Örnek alınan yerlerde üretim sezonu başında ve üretim sezonu sonunda ayrı ayrı örnekleme yapılarak biyotip değişiminin izlenmesi ve popölasyonların direnç düzeylerinin takip edilmesi direnç-biyotip değişimi hakkında daha fazla bilgi sahibi olunmasına katkı sağlayacaktır. Aynı zamanda biyotiplerin sera şartlarındaki sıcaklık ve nem gibi parametrelerde biyolojik özelliklerinin belirlenmeside biyotip değişimindeki faktörlerin belirlenmesine katkı sağlayacağını düşünölmektedir. *B. tabaci* B ve Q dirençli popölasyonlarının insektisitlere çapraz dirençleri ve dirençte rol oynayan genler ile bu genlerin biyotipler arasındaki farkı bu çalışmanın sonraki basamağı olarak düşünölebilir.

7. KAYNAKLAR

- ABDULLAHI, I., WINTER, S., ATIRI, G.I. and THOTTAPPILLY, G. 2003. Molecular characterization of whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) populations infesting cassava. *Bull. Entomol. Res.*, 93: 97–106.
- AHMAD, M. 2007. Insecticide Resistance Mechanisms and Their Management in *Helicoverpa Armigera* (Hübner) A Review *J. Agric. Res*, 45(4).
- ALON, M., BENTING, J., LUEKE, B., PONGE, T., ALON, F. and MORIN, S. 2006. Multiple origins of pyrethroid 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.
- ANONİM 2008. SPSS Statistics for Windows, Release 17.0, SPSS Inc.
- ANONİM 2014a. EPPO. EPPO data sheets on quarantine pests *Bemisia tabaci*. Erişim tarihi: 15.11.2014
- ANONİM 2014b <http://www.beyondpesticides.org> Erişim tarihi: 16.10.2014
- ANONİM 2014c <http://en.wikipedia.org/wiki/Pyrethroid> Erişim tarihi 17.11.2014
- ANONİM 2014d <http://en.wikipedia.org/wiki/Neonicotinoid> Erişim tarihi 17.11.2014
- ANONİM 2014e [http://www.beyondpesticide.org/infoservices/peticefactsheets / toxic / insectgrowthregulator](http://www.beyondpesticide.org/infoservices/peticefactsheets/toxic/insectgrowthregulator) erişim tarihi 17.11.2014
- ANONİM 1957. World Health Expert Committee on Insecticides. *The 17th Report, WHO Technical Report Series*, No. 125.
- ANTHONY, N.M., BROWN, J.K., FEYEREISEN, R. and FFRENCH-CONSTANT, R.H. 1998. Diagnosis and characterization of insecticide-insensitive acetylcholinesterase in three populations of the sweetpotato whitefly. *Bemisia tabaci. Pestic. sci.* 52: 39-46.
- BEDFORD, I.D., BRIDDON, R.W., BROWN, J.K., ROSELL, R.C. and MARKHAM, P.G. 1994. Geminivirus transmission and biological characterisation of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographic regions. *Ann. Appl. Biol.* 125: 311–325.

- BEITIA, F., MAYO, I., ROBLES-CHILLIDA, E.M., GUIRAO, P. and CENIS, J.L. 1997. Current status of *Bemisia tabaci* (Gennadius) in Spain: The presence of biotypes of this species. *Bull. OILB/SROP*, 20: 99–107.
- BETHKE, A.J., BYRNE, J.F., HODGESS, G., McKENZIE, L.C. and SHATTERS JR, G.R. 2009. First record of the Q biotype of the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, in Guatemala. *Phytoparasitica*, 37: 61-64.
- BRADFORD, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. *Analytical Biochemistry*, 72 : 248-254.
- BRETSCHNEIDER, T., BENET-BUCHHOL, J., FISCHER, R. and NAUEN, R. 2003. Spirodiclofen and spiromesifen – novel acaricidal and insecticidal tetrionic acid derivatives with a new mode of action. *Chimia*, 57:697–701 .
- BOYKIN, L.M., SHATTERS JR, R.G., ROSELL, R.C., McKENZIE C.L., BAGNALL, R.A., DE BARRO, P. and FROHLICH D.R. 2007. Global relationships of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) revealed using Bayesian analysis of mitochondrial COI DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44:1306–1319.
- 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.
- BROWN, J.K., PERRING, T.M., COOPER, A.D., BEDFORD, I.D. and MARKHAM P.G. 2000. Genetic analysis of *Bemisia* (Hemiptera: Aleyrodidae) populations by Isoelectric Focusing Electrophoresis. *Biochem. Genet.*, 38: 13–25.
- BYRNE, F.J., CASTLE, S., PRABHAKER, N. and TOSCANO, N.C. 2003. Biochemical study of resistance to imidacloprid in B biotype *Bemisia tabaci* from Guatemala. *Pest Management Science*, 59: 347-352.
- BYRNE F.J., OETTING, R.D., BETHKE, J.A., GREEN C. and CHAMBERLIN, JOE. 2010. Understanding the dynamics of neonicotinoid activity in the management of *Bemisia tabaci* whiteflies on poinsettias. *Crop Protection*, 29: 260–266.
- CALVERT, L.A., CUERVO, M., ARROYAVE, J.A., CONSTANTINO, L.M., BELLOTTI, A. and FROHLICH, D.R. 2001. Morphological and mitochondrial DNA marker analyses of whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae) colonizing cassava and beans in Colombia. *Annals of the Entomological Society of America*, 94(4): 512-519.
- CHU, D., GAO, C.S., DE BARRO, P., WAN, F.H. and ZHANG Y.J. 2011. Investigation of the genetic diversity of an invasive whitefly (*Bemisia tabaci*) in China using both mitochondrial and nuclear DNA markers *Bulletin of Entomological Research*, 101: 467–475.

- COSTA, H.S. and BROWN, J.K. 1991. Variation in biological characteristics and in esterase patterns among populations of *Bemisia tabaci* Genn. and the association of one population with silverleaf symptom development. *Entomol. Exp. Appl.*, 61: 211–219.
- COSTA H.S., BROWN JK, SIVASUPRAMANIAM S, BİRD J. 1993. Regional distribution, insecticide resistance, and reciprocal crosses between the A and B biotypes of *Bemisia tabaci*. *Insect Sci. Appl.*, 14: 255–266.
- CROWDER W.D., CARRIERE, Y., TABASHNIK, E.B., ELLSWORTH, P.C. and DENNEHY, T. J. 2006. Modeling evolution of resistance to pyriproxyfen by the sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology*, 99(4): 1396-1406.
- CROWDER D.W., ELLSWORTH, P.C., TABASHNIK, B.E. and CARRIERE Y. 2008a. Effects of operational and environmental factors on evolution of resistance to pyriproxyfen in the sweetpotato whitefly (Hemiptera: Aleyrodidae). *Environmental Entomology*, 37(6): 1514-1524.
- CROWDER, D.W., ELLERS-KIRK, C., YAFUSO, M.C., DENNEHY, T. J., DEGAIN, B.A., HARPOLD, V.S., TABASHNIK, B.E. and CARRIERE, Y. 2008b. Inheritance of resistance to pyriproxyfen in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) males and females (B Biotype). *Journal of Economic Entomology*, 101(3): 927-932.
- DAĞLI, F., GÖÇMEN, H., İKTEN, C., YÜKSELBABA, U. ve TOPAKÇI, N. 2007. *Bemisia tabaci* (Genn.) Akdeniz ve Ege bölgesi Popülasyonlarının Bazı İnsektisitlere Duyarlılığı Üzerinde Araştırmalar. *Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi 27-29 Ağustos 2007*, sf: 58 Isparta.
- DE BARRO, P. J. and DRIVE F. 1997. Use of RAPD PCR to distinguish the B biotype from other biotypes of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Australian Journal of Entomology*, 36: 149-152.
- DE BARRO, P.J., DRIVER, F., TRUEMAN, J.W.H. and CURRAN, J. 2000. Phylogenetic relationships of world populations of *Bemisia tabaci* (Gennadius) using ribosomal ITS1. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 16: 29–36.
- DE BARRO, P.J. 2012. The *Bemisia tabaci* species complex: Questions to guide future Research *Journal of Integrative Agriculture*, 11(2): 187-196.
- DE LA RUA, P., SIMON, B., CIFUENTES, D., MARTINEZ-MORA, C. and CENIS, J.L. 2006. New insights into the mitochondrial phylogeny of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in the Mediterranean basin. *Journal of Z.S.*, 44(1): 25-33.

- DENHOLM, I., CAHILL, M., BYRNE, F.J. and DEVONSHIRE, A.L. 1996. Progress with documenting and combating insecticide resistance in *Bemisia*. In: Gerling, D., Mayer, R.T. (Eds.), *Bemisia: 1995 Taxonomy, Biology, Damage, Control and Management*. *Intercept*, pp: 577–603 Andover.
- DENNEHY, T.J., DEGAIN, B.A., HARPOLD V.S., ZABORAC, M., MORIN, S., FABRICK, J.A., NICHOLS, L.R., BROWN, J.K., BYRNE, F.J. and LI X. 2010. Extraordinary resistance to insecticides reveals exotic q biotype of *Bemisia tabaci* in the New World. *Journal of Economic Entomology*, 103(6): 2174-2186.
- DEVINE, G.J., EL KADY, H., GORMAN, K., HOROWITZ, A.R., CENIS, J. and DENHOLM, I. 2004. Biotypes of *Bemisia tabaci* and their relevance to the evolution and management of insecticide resistance. In: *Proceedings. Cotton World Congress III, March 2003*, pp 1195–1201, Capetown, South Africa.
- DINSDALE A.B., COOK, L. RIGINOS, C., BUCKLEY, Y.M. and DE BARRO, P. 2010. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase I to identify species level genetic boundaries. *Annals of the Entomological Society of America*, 103: 196-208.
- DONG, C., FANG-HAO, W., BAO-YUN, X. QING-JUN W. and YOU-JUN, Z. 2008. Comparative analysis of population genetic structure in *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes B and Q based on ISSR marker. *Agricultural Sciences in China*, 7(11):1348-1354.
- ELBERT, A. and NAUEN R. 2000. Resistance of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides in southern Spain with special reference to neonicotinoids. *Pest Manage. Sci.*, 56: 60–64.
- ERDOĞAN, C., VELİOĞLU, A.S., GÜRKAN, M.O., MOORES, G. and DENHOLM, I. 2011. Örtüaltından toplanan *Trialeurodes vaporariorum* (Westw.) ve *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) türlerinin poliakrilamid jel elektroforez yöntemiyle belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni*, 51(4): 373-385.
- ESTERHUIZEN, L.L., MABASA, K.G., VAN HEERDEN, S.W., CZOSNEK, H., BROWN, J.K., VAN HEERDEN, H. and REY, M.E. C. 2013. Genetic of members of the *Bemisia tabaci* cryptic species complex from South Africa reveals native and introduced haplotypes. *Journal of Applied Entomology*, 137: 122–135.
- FENG, Y., WU, Q., WANG, S., CHANG, X., XIE, W., XU, B. and ZHANG, Y. 2010. Cross-resistance study and biochemical mechanisms of thiamethoxam resistance in B-biotype *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Management Science*, 66: 313-318.

- FERNANDEZ, E., GRAVALOS, C., HARO, P.J., CIFUENTES, D. and BIELZA P. 2009. Insecticide resistance status of *Bemisia tabaci* Q-biotype in south-eastern Spain. *Pest Management Science*, 65: 885–891
- FROHLICH, D.R., TORREZ-JEREZ, 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.
- GRILLE, G., GAUTHIER, N., BUENAHORA, J., BASSO, C. and BONATO, O. 2011. First report of the Q biotype of *Bemisia tabaci* in Argentina and Uruguay *Phytoparasitica*, 39: 235-238.
- GUIRAO, P., BEITIA, F. and CENIS, J.L. 1997. Biotype determination in Spanish populations of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: aleyrodidae). *Bull. Entomol. Res.*, 87: 587–593.
- GUNNING, R.V., BYRNE, F.J., CONDE, B.D., CONNELLY, M.I., HERGSTROM, K. and DEVONSHIRE, A.L. 1995. First report of B-biotype *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Australia. *J. Aust. Entomol. Soc.*, 34: 116.
- HABIG, W.H., PABST, M.J. and JAKOBY, W.B. 1974. Glutathione S-transferases, the first step in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry*, 249: 71-75.
- HAMEED, A., AZIZ, A.M. and AHEER, M.G. 2010. Susceptibility of *Bemisia tabaci* Gen. (Homoptera: Aleyrodidae) to selected insecticides. *Pakistan Journal of Zoology*, 42(3): 295-300.
- HANSEN, L.G. and HODGSON, E. 1971. Biochemical characteristics of insect microsomes N-and O-demethylation. *Biochemical Pharmacology*, 20: 1569-1578.
- HEMINGWAY 1998. WHO/CDS/CPC/MAL/98.6
- HOROWITZ, A.R., GORMAN, K., ROSS, G. and DENHOLM, I., 2003. Inheritance of Pyriproxyfen Resistance in the Whitefly, *Bemisia tabaci* (Q Biotype). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 54: 177–186
- HOROWITZ, A.R., MENDELSON, Z., WEINTRAUB, P.G. and ISHAAYA, I. 1998. Comparative toxicity of foliar and systemic applications of acetamiprid and imidacloprid against the cotton whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Bull. Entomol. Res.*, 88: 437-442.
- 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. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 58: 216–225.

- HOROWITZ, A.R. and ISHAAYA I. 2014. Dynamics of biotypes B and Q of the whitefly *Bemisia tabaci* and its impact on insecticide resistance. *Pest Management Science*, 70: 1568–1572.
- HOUNDETE, T.A., KETOH, G.K., SA HEMA, O., BREVAULT, T., GLITHO, I.A. and MARTIN, T. 2010. Insecticide resistance in field populations of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in West Africa. *Pest Management Science*, 66(11) 1181-1185.
- HSIEH, C., WANG, C. and KO, C. 2006. Analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) species complex and distribution in eastern Asia based on mitochondrial DNA markers. *Annals of the Entomological Society of America*, 99 (5): 768-775.
- HSIEH C., WANG, C. and KO, C. 2007. Evidence from molecular markers and population genetic analyses suggests recent invasions of the western north pacific region by biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Environmental Entomology*, 36 (4): 952-961.
- ILIAS, A., RODITAKIS, E., GRISPOU, M., NAUEN, R. and VONTAS, J. 2012. Efficacy of ketoenols on insecticide resistant field populations of two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and sweet potato whitefly *Bemisia tabaci* from Greece. *Crop protection* 42: 305-311.
- İKTEN, C., GÖÇMEN, H., TOPAKÇI, N., DAĞLI, F. ve YÜKSELBABA, U. 2007. Pamuk Beyazsineği *Bemisia tabaci* (Genn.)’nin Türkiye Popülasyonlarının Mitokondrial Cytochrome Oxidase Subunit I (mtCOI)’e göre biyotiplerinin saptanması. *Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi 27-29 Ağustos 2007*, sf: 47, Isparta.
- KANG, C.Y., WU, G. and MIYATA, T. 2006. Synergism of enzyme inhibitors and mechanisms of insecticide resistance in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hom., Aleyrodidae). *Journal of Applied Entomology*, 130(6-7):377-385.
- KANG, S., KIM, Y.H., LEE, J.H., KIM, J.B., LIM, J.K. ve LEE, H.S. 2012. One-step identification of B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* based on intron variation of carboxylesterase 2. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 15: 383-388.
- 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.

- KARUNKER, I., MOROU, E., NIKOU, D., NAUEN, R., SERTCHOOK, R., STEVENSON, B.J., PAINE, M.J.I., MORIN, S. and VONTAS, J. (2009). Structural model and functional characterization of the *Bemisia tabaci* CYP6CM1vQ, a cytochrome P450 associated with high levels of imidacloprid resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 39: 697–706.
- KHASDAN, V., LEVIN, I., ROSNER, A., MORIN, S., KONTSEDALOV, S., MASLENIN, L. and HOROWITZ, A.R. 2005. DNA markers for identifying biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) and studying population dynamics. *Bulletin of Entomological Research*, 95: 605-613.
- KONTSEDALOV, S., GOTTLIEB, Y., ISHAAYA, I., NAUEN, R., HOROWITZ, R. and GHANIM, M. 2008. Toxicity of spiromesifen to the developmental stages of *Bemisia tabaci* biotype B. *Pest management science*, 65(1): 5-13.
- KONTSEDALOV, S., ABU-MOCH, F., LEBEDEV, G., CZOSNEK, H., HOROWITZ, A.R. and GHANIM, M. 2012. *Bemisia tabaci* Biotype Dynamics and Resistance to Insecticides in Israel During the Years 2008-2010 *Journal of Integrative Agriculture*, 11(2): 312-320.
- LEE W, PARK J, LEE G-S, LEE S, AKIMOTO S-I 2013 Taxonomic status of the *Bemisia tabaci* complex (Hemiptera: Aleyrodidae) and reassessment of the number of its constituent species. *PLoS ONE*, 8(5): e63817. doi:10.1371/journal.pone.0063817
- LEORA SOFTWARE 2008. Polo-Plus, (Probit analiz programı).
- LUO, C., JONES, C.M., DEVINE, G., ZHANG, F., DENHOLM, I. and GORMAN, K. 2009. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* biotype Q (Hemiptera: Aleyrodidae) from China. *Crop Protection*, 29(5): 429-434.
- MA, D., GORMAN C.K., DEVINE, C.G., LUOA, W. and DENHOLM, C.I. 2007. The biotype and insecticide-resistance status of whiteflies, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae), invading cropping systems in Xinjiang Uygur Autonomous Region, northwestern China. *Crop Protection*, 26: 612–617.
- MA, W., LI, X., DENNEHY, T.J., LEI, C., WANG, M., DEGAIN, B.A. and NICHOLS, R.L. 2010. Pyriproxyfen resistance of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) biotype B: metabolic mechanism *Journal of Economic Entomology*, 103(1):158-165.
- MAHADAV, A., KONTSEDALOV, S., CZOSNEK, H. and GHANIM M. 2009. Thermotolerance and gene expression following heat stress in the whitefly *Bemisia tabaci* B and Q biotypes. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 39: 668–676.

- 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 pyrethroid plus organophosphate mixture. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32: 1781–1791.
- 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, pp: 55–84 New York and London.
- NAUEN, R., EBBINGHAUS-KINTSCHER, U. and SCHMUCK, R. 2001. Toxicity and nicotinic acetylcholine receptor interaction of imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Pest Manag. Sci.*, 57:577–586.
- NAUEN, R., STUMPF, N. and ELBERT, A., 2002. Toxicological and mechanistic studies on neonicotinoid cross-resistance in Q-type *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Manage. Sci.*, 58: 868–875.
- NAUEN, R., SCHNORBACH, H.J. and ELBERT, A. 2005. The biological profile of spiromesifen (Oberon) – a new tetrone acid insecticide/acaricide. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 58:417–440 .
- OIU, B., CHEN, Y., LIU, L., PENG, W., LI, X., AHMED, M. Z., MATHUR, V., DU, Y. and REN, S. 2009. Identification of three major *Bemisia tabaci* biotypes in China based on morphological and DNA polymorphisms. *Progress in Natural Science*, 19:713-718.
- PALUMBO, J.C., HOROWITZ, A.R. and PRABHAKER N., 2001. Insecticidal control and resistance management for *Bemisia tabaci*. *Crop Prot.*, 20: 739–765.
- PASCUAL, S. and CALLEJAS, C. 2004. Intra- and interspecific competition between biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) from Spain. *Bulletin of Entomological Research*, 94: 369-375.
- PERRING, T. M. 2001. The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop protection* 20: 725-737.
- PRABHAKER, N., CASTLE, S.J., BUCKELEW, L. and TOSCANO, N.C. 2008. Baseline susceptibility of *Bemisia tabaci* B biotype (Hemiptera: Aleyrodidae) populations from California and Arizona to spiromesifen. *Journal of Economic Entomology* 101(1): 174-181.
- RABELLO R.A., QUEIROZ, R.P., SIMOES C.C.K., HIRAGI, O.C., LIMA, C.H.L., OLIVEIRA V.R.M. and MEHTA, A. 2008. Diversity analysis of *Bemisia tabaci* biotypes: RAPD, PCR-RFLP and sequencing of the ITS rDNA region. *Genetics and Molecular Biology*, 3(2): 585-590.

- RAUCH, N. and NAUEN, R. 2003. Identification of Biochemical Markers Linked to Neonicotinoid Cross Resistance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 54: 165-167.
- RAUCH, N. and NAUEN, R. 2004. Characterization and molecular cloning of a glutathione S-transferase from the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 34:321–329.
- RINKEVICH, D.F., DU, Y. and DONG, K. 2013. Diversity and convergence of sodium channel mutations involved in resistance to pyrethroids. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 106: 93-100.
- 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.
- RODITAKIS, E., GRISPOU, M., MOROU, E., KRISTOFFERSEN, J., RODITAKIS, N., NAUEN, R., VONTAS, J. and TSAGKARAKOU A. 2009. Current status of insecticide resistance in Q biotype *Bemisia tabaci* populations from Crete, *Pest Manag. Sci.*, 65: 313–322.
- SEAL, S., PATEL, V.M., COLLINS, C., COLVIN, J. and BAILEY, D. 2012. Next generation transcriptome sequencing and quantitative real-time pcr technologies for characterisation of the *Bemisia tabaci* asia 1 mtCOI phylogenetic clade. *Journal of Integrative Agriculture*, 11(2): 281-292.
- SETHI, A. BONS, M.S. and DILAWARI V.K. 2008. Realized heritability and genetic analysis os insecticide resistance in whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.). *Journal of Entomology*, 5(1) 1-9.
- SHADMANY, M., OMAR, D. and MUHAMAD, R. 2013. First report of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) biotype Q in Malaysia. *Florida Entomologist*, 96(1): 280-282
- SHATTERS JR, G.R., POWELL, A.C., BOYKIN, M.L., LIANSHENG, H. and McKENZIE L. C. 2009. Improved DNA barcoding method for *Bemisia tabaci* and related Aleyrodidae: development of universal and *Bemisia tabaci* biotype-specific mitochondrial cytochrome c oxidase I polymerase chain reaction primers *Journal of Economic Entomology*, 102(2): 750-758.
- SIMON, B., CENIS, L.J. and DE LA RUA, P. 2007. Distribution patterns of the Q and B biotypes of *Bemisia tabaci* in the Mediterranean basin based on microsatellite variation. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 124: 327–336.
- STUMPF, N. and NAUEN, R. 2002. Biochemical Markers Linked to Abamectin Resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 72: 111–121.

- TSAGKARAKOU, A., NIKOU, D., RODITAKIS, E., SHARVIT, M., MORIN, S. and VONTAS, J. 2009. Molecular diagnostics for detecting pyrethroid and organophosphate resistance mutations in the Q biotype of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 94:49–54.
- WILSON, M., MOSHITZKY, P., LAOR, E., GHANIM, M., HOROWITZ, A.R. and MORIN, S. 2007. Reversal of resistance to pyriproxyfen in the Q biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) *Pest Management Science*, 63:761–768.
- XIAO-JUN, G., QIONG, R., FAN, Z., CHEN, L., HONG-YU Z. and XI-WU G. 2012. Diversity and genetic differentiation of the whitefly *Bemisia tabaci* species complex in China based on mtCOI and cDNA-AFLP Analysis. *Journal of Integrative Agriculture*, 11(2): 206-214.
- XU, J., DE BARRO, P.J. and LIU, S.S. 2010. Reproductive incompatibility among genetic groups of *Bemisia tabaci* supports the proposition that the whitefly is a cryptic species complex. *Bulletin of Entomological Research*, 100: 359-366.
- YUAN, L., WANG, S., ZHOU, J., DU, Y., ZHANG, Y. and WANG, J. 2012. Status of insecticide resistance and associated mutations in the Q biotype of whitefly, *Bemisia tabaci*, from eastern china. *Crop protection*, 31:67-71.

8. EKLER

EK:1

	10	20	30	40	50
Gazipasa	TCTCATCTAA	TCAGCAGTGA	GGCTGGAAAA	TTAGAGGTAT	TTGGAAGGTT
Kampus	TCTCATCTAA	TCAGCAGTGA	GGCTGGAAAA	TTAGAGGTAT	TTGGAAGGTT
SERIK	TCTCATCTAA	TCAGCAGTGA	GGCTGGAAAA	TTAGAGGTAT	TTGGAAGGTT
Yurtpinar	TCTCATCTAA	TCAGCAGTGA	GGCTGGAAAA	TTAGAGGTAT	TTGGAAGGTT
Demre	TCTCATCTAA	TCAGCAGTGA	GGCTGGAAAA	TTAGAGGTAT	TTGGAAGGTT
Payallar	TCTCATCTAA	TCAGCAGTGA	GGCTGGAAAA	TTAGAGGTAT	TTGGAAGGTT
Kumluca	TCTCATCTAA	TCAGCAGTGA	GGCTGGAAAA	TTAGAGGTAT	TTGGAAGGTT
Kocarli	TCTCATTTAA	TTAGTAGCGA	GGCTGGAAAA	TTAGAGGTAT	TTGGAAGGTT
Clustal Co	*****	***	* ** ** **	*****	*****
	60	70	80	90	100
Gazipasa	GGGTATAATT	TATGCTATAT	TGACTATTGG	TATTCTAGGG	TTTATTGTTT
Kampus	GGGTATAATT	TATGCTATAT	TGACTATTGG	TATTCTAGGG	TTTATTGTTT
SERIK	GGGTATAATT	TATGCTATAT	TGACTATTGG	TATTCTAGGG	TTTATTGTTT
Yurtpinar	GGGTATAATT	TATGCTATAT	TGACTATTGG	TATTCTAGGG	TTTATTGTTT
Demre	GGGTATAATT	TATGCTATAT	TGACTATTGG	TATTCTAGGG	TTTATTGTTT
Payallar	GGGTATAATT	TATGCTATAT	TGACTATTGG	TATTCTAGGG	TTTATTGTTT
Kumluca	GGGTATAATT	TATGCTATAT	TGACTATTGG	TATTCTAGGG	TTTATTGTTT
Kocarli	GGGCATAATT	TATGCTATAT	TGACTATTGG	TATCTTAGGG	TTTATTGTTT
Clustal Co	***	*****	*****	***	*****
	110	120	130	140	150
Gazipasa	GAGGTCATCA	TATATTCACA	GTTGGAATAG	ATGTAGATAC	TCGAGCTTAT
Kampus	GAGGTCATCA	TATATTCACA	GTTGGAATAG	ATGTAGATAC	TCGAGCTTAT
SERIK	GAGGTCATCA	TATATTCACA	GTTGGAATAG	ATGTAGATAC	TCGAGCTTAT
Yurtpinar	GAGGTCATCA	TATATTCACA	GTTGGAATAG	ATGTAGATAC	TCGAGCTTAT
Demre	GAGGTCATCA	TATATTCACA	GTTGGAATAG	ATGTAGATAC	TCGAGCTTAT
Payallar	GAGGTCATCA	TATATTCACA	GTTGGAATAG	ATGTAGATAC	TCGAGCTTAT
Kumluca	GAGGTCATCA	TATATTCACA	GTTGGAATAG	ATGTAGATAC	TCGAGCTTAT
Kocarli	GAGGACATCA	TATATTTACA	GTTGGAATAG	ATGTAGATAC	TCGAGCTTAT
ClustalCo	****:	*****	*****	*****	*****
	160	170	180	190	200
Gazipasa	TTCACTTCAG	CCACTATAAT	TATTGCTGTT	CCCACAGGAA	TTAAAAATTTT
Kampus	TTCACTTCAG	CCACTATAAT	TATTGCTGTT	CCCACAGGAA	TTAAAAATTTT
SERIK	TTCACTTCAG	CCACTATAAT	TATTGCTGTT	CCCACAGGAA	TTAAAAATTTT
Yurtpinar	TTCACTTCAG	CCACTATAAT	TATTGCTGTT	CCCACAGGAA	TTAAAAATTTT
Demre	TTCACTTCAG	CCACTATAAT	TATTGCTGTT	CCCACAGGAA	TTAAAAATTTT
Payallar	TTCACTTCAG	CCACTATAAT	TATTGCTGTT	CCCACAGGAA	TTAAAAATTTT
Kumluca	TTCACTTCAG	CCACTATAAT	TATTGCTGTT	CCCACAGGAA	TTAAAAATTTT
Kocarli	TTCACTTCAG	CTACTATGAT	TATTGCCGTT	CCTACAGGAA	TTAAAAATTTT
Clustal Co	*****	* *****	*****	** *****	*****
	210	220	230	240	250
Gazipasa	TAGTTGGCTT	GCTACTTTGG	GTGGAATAAA	GTCTAATAAA	TTAAGGCCTC
Kampus	TAGTTGGCTT	GCTACTTTGG	GTGGAATAAA	GTCTAATAAA	TTAAGGCCTC
SERIK	TAGTTGGCTT	GCTACTTTGG	GTGGAATAAA	GTCTAATAAA	TTAAGGCCTC
Yurtpinar	TAGTTGGCTT	GCTACTTTGG	GTGGAATAAA	GTCTAATAAA	TTAAGGCCTC
Demre	TAGTTGGCTT	GCTACTTTGG	GTGGAATAAA	GTCTAATAAA	TTAAGGCCTC
Payallar	TAGTTGGCTT	GCTACTTTGG	GTGGAATAAA	GTCTAATAAA	TTAAGGCCTC
Kumluca	TAGTTGGCTT	GCTACTTTGG	GTGGAATAAA	GTCTAATAAA	TTAAGGCCTC
Kocarli	TAGTTGGCTT	GCTACTTTGG	GTGGAATAAA	GTCCAATAAA	TTCAAGCCCC
Clustal Co	*****	*****	*****	***	*****

	260	270	280	290	300
Gazipasa	TTGGCCTTTG	ATTTACAGGA	TTTTTATTTT	TATTTACTAT	AGGTGGGTTA
Kampus	TTGGCCTTTG	ATTTACAGGA	TTTTTATTTT	TATTTACTAT	AGGTGGGTTA
SERIK	TTGGCCTTTG	ATTTACAGGA	TTTTTATTTT	TATTTACTAT	AGGTGGGTTA
Yurtpinar	TTGGCCTTTG	ATTTACAGGA	TTTTTATTTT	TATTTACTAT	AGGTGGGTTA
Demre	TTGGCCTTTG	ATTTACAGGA	TTTTTATTTT	TATTTACTAT	AGGTGGGTTA
Payallar	TTGGCCTTTG	ATTTACAGGA	TTTTTATTTT	TATTTACTAT	AGGTGGGTTA
Kumluca	TTGGCCTTTG	ATTTACAGGA	TTTTTATTTT	TATTTACTAT	AGGTGGGTTA
Kocarli	TTGGCCTTTG	ATTTACAGGA	TTTTTATTTT	TATTTACTAT	AGGTGGGTTA
Clustal Co	*****	*****	*****	*****	*****
	310	320	330	340	350
Gazipasa	ACTGGAATTA	TTCTTGGTAA	TTCTTCTGTA	GATGTGTGTC	TGCATGACAC
Kampus	ACTGGAATTA	TTCTTGGTAA	TTCTTCTGTA	GATGTGTGTC	TGCATGACAC
SERIK	ACTGGAATTA	TTCTTGGTAA	TTCTTCTGTA	GATGTGTGTC	TGCATGACAC
Yurtpinar	ACTGGAATTA	TTCTTGGTAA	TTCTTCTGTA	GATGTGTGTC	TGCATGACAC
Demre	ACTGGAATTA	TTCTTGGTAA	TTCTTCTGTA	GATGTGTGTC	TGCATGACAC
Payallar	ACTGGAATTA	TTCTTGGTAA	TTCTTCTGTA	GATGTGTGTC	TGCATGACAC
Kumluca	ACTGGAATTA	TTCTTGGTAA	TTCTTCTGTA	GATGTGTGTC	TGCATGACAC
Kocarli	ACTGGAATTA	TTCTTGGTAA	CTCTTCTGTA	GATGTGTGTT	TGCATGACAC
Clustal Co	*****	*****	*****	*****	*****
	360	370	380	390	400
Gazipasa	TTATTTTGTT	GTTGCACATT	TTCATTATGT	TTTATCAATA	GGAATTATTT
Kampus	TTATTTTGTT	GTTGCACATT	TTCATTATGT	TTTATCAATA	GGAATTATTT
SERIK	TTATTTTGTT	GTTGCACATT	TTCATTATGT	TTTATCAATA	GGAATTATTT
Yurtpinar	TTATTTTGTT	GTTGCACATT	TTCATTATGT	TTTATCAATA	GGAATTATTT
Demre	TTATTTTGTT	GTTGCACATT	TTCATTATGT	TTTATCAATA	GGAATTATTT
Payallar	TTATTTTGTT	GTTGCACATT	TTCATTATGT	TTTATCAATA	GGAATTATTT
Kumluca	TTATTTTGTT	GTTGCACATT	TTCATTATGT	TTTATCAATA	GGAATTATTT
Kocarli	TTATTTTGTT	GTTGCGCATT	TTCATTATGT	CTTATCAATA	GGAATTATTT
Clustal Co	*****	*****	*****	*****	*****
	410	420	430	440	450
Gazipasa	TTGCTATTGT	AGGAGGAGTT	ATCTATTGAT	TTCCACTAAT	CTTAGGTTTA
Kampus	TTGCTATTGT	AGGAGGAGTT	ATCTATTGAT	TTCCACTAAT	CTTAGGTTTA
SERIK	TTGCTATTGT	AGGAGGAGTT	ATCTATTGAT	TTCCACTAAT	CTTAGGTTTA
Yurtpinar	TTGCTATTGT	AGGAGGAGTT	ATCTATTGAT	TTCCACTAAT	CTTAGGTTTA
Demre	TTGCTATTGT	AGGAGGAGTT	ATCTATTGAT	TTCCACTAAT	CTTAGGTTTA
Payallar	TTGCTATTGT	AGGAGGAGTT	ATCTATTGAT	TTCCACTAAT	CTTAGGTTTA
Kumluca	TTGCTATTGT	AGGAGGAGTT	ATCTATTGAT	TTCCACTAAT	CTTAGGTTTA
Kocarli	TTGCTATTGT	AGGAGGAGTT	ATTTATTGAT	TTCCATTAAT	CTTGGGCTTA
Clustal Co	*****	*****	** *****	*****	***.***
	460	470	480	490	500
Gazipasa	ACCTTAAATA	ATTATAGATT	GGTGTCTCAA	TTTTATATCA	TGTTTATTGG
Kampus	ACCTTAAATA	ATTATAGATT	GGTGTCTCAA	TTTTATATCA	TGTTTATTGG
SERIK	ACCTTAAATA	ATTATAGATT	GGTGTCTCAA	TTTTATATCA	TGTTTATTGG
Yurtpinar	ACCTTAAATA	ATTATAGATT	GGTGTCTCAA	TTTTATATCA	TGTTTATTGG
Demre	ACCTTAAATA	ATTATAGATT	GGTGTCTCAA	TTTTATATCA	TGTTTATTGG
Payallar	ACCTTAAATA	ATTATAGATT	GGTGTCTCAA	TTTTATATCA	TGTTTATTGG
Kumluca	ACCTTAAATA	ATTATAGATT	GGTGTCTCAA	TTTTATATCA	TGTTTATTGG
Kocarli	ACCTTAAATA	ATTATAGCTT	GGTGTCTCAA	TTTTATATCA	TGTTTATTGG
Clustal Co	*****	*****	*****	*****	*****

	510	520	530	540	550
Gazipasa	AGTAAATTTA	ACTTTTTTTC	CTCACCATT	TCTTGGTTTA	GGGGGAATGC
Kampus	AGTAAATTTA	ACTTTTTTTC	CTCACCATT	TCTTGGTTTA	GGGGGAATGC
SERIK	AGTAAATTTA	ACTTTTTTTC	CTCACCATT	TCTTGGTTTA	GGGGGAATGC
Yurtpinar	AGTAAATTTA	ACTTTTTTTC	CTCACCATT	TCTTGGTTTA	GGGGGAATGC
Demre	AGTAAATTTA	ACTTTTTTTC	CTCACCATT	TCTTGGTTTA	GGGGGAATGC
Payallar	AGTAAATTTA	ACTTTTTTTC	CTCACCATT	TCTTGGTTTA	GGGGGAATGC
Kumluca	AGTAAATTTA	ACTTTTTTTC	CTCACCATT	TCTTGGTTTA	GGGGGAATGC
Kocarli	AGTAAATTTA	ACTTTTTTTC	CTCAGCATT	TCTTGGTTTG	GGGGGAATGC
Clustal Co	*****	*****	**** *	*****	*****
	560	570	580	590	600
Gazipasa	CTCGTCGATA	TTCAGATTAT	GCTGATTGCT	ATCTAGTATG	AAATAAAATT
Kampus	CTCGTCGATA	TTCAGATTAT	GCTGATTGCT	ATCTAGTATG	AAATAAAATT
SERIK	CTCGTCGATA	TTCAGATTAT	GCTGATTGCT	ATCTAGTATG	AAATAAAATT
Yurtpinar	CTCGTCGATA	TTCAGATTAT	GCTGATTGCT	ATCTAGTATG	AAATAAAATT
Demre	CTCGTCGATA	TTCAGATTAT	GCTGATTGCT	ATCTAGTATG	AAATAAAATT
Payallar	CTCGTCGATA	TTCAGATTAT	GCTGATTGCT	ATCTAGTATG	AAATAAAATT
Kumluca	CTCGTCGATA	TTCAGATTAT	GCTGATTGCT	ATCTAGTATG	AAATAAAATT
Kocarli	CTCGCCGATA	TTCAGATTAT	GCTGATTGTT	ATCTAGTATG	GAACAAAATT
Clustal Co	**** *	*****	***** *	*****	. ** *****
	610	620	630	640	650
Gazipasa	TCTTCTGCGG	GAAGGATTCT	GAGTATTATT	TCTGTTATTT	ATTTTTTATT
Kampus	TCTTCTGCGG	GAAGGATTCT	GAGTATTATT	TCTGTTATTT	ATTTTTTATT
SERIK	TCTTCTGCGG	GAAGGATTCT	GAGTATTATT	TCTGTTATTT	ATTTTTTATT
Yurtpinar	TCTTCTGCGG	GAAGGATTCT	GAGTATTATT	TCTGTTATTT	ATTTTTTATT
Demre	TCTTCTGCGG	GAAGGATTCT	GAGTATTATT	TCTGTTATTT	ATTTTTTATT
Payallar	TCTTCTGCGG	GAAGGATTCT	GAGTATTATT	TCTGTTATTT	ATTTTTTATT
Kumluca	TCTTCTGCGG	GAAGGATTCT	GAGTATTATT	TCTGTTATTT	ATTTTTTATT
Kocarli	TCTTCTGCGG	GAAGGATTTT	GAGTATTATT	TCTGTTATTT	ATTTTTTATT
Clustal Co	*****	***** *	*****	*****	*****
	660	670	680	690	700
Gazipasa	TATTGTTTTA	GAATCCTTTC	TTCTTCTGCG	GTTAGTAAGA	TTTAAGCTTG
Kampus	TATTGTTTTA	GAATCCTTTC	TTCTTCTGCG	GTTAGTAAGA	TTTAAGCTTG
SERIK	TATTGTTTTA	GAATCCTTTC	TTCTTCTGCG	GTTAGTAAGA	TTTAAGCTTG
Yurtpinar	TATTGTTTTA	GAATCCTTTC	TTCTTCTGCG	GTTAGTAAGA	TTTAAGCTTG
Demre	TATTGTTTTA	GAATCCTTTC	TTCTTCTGCG	GTTAGTAAGA	TTTAAGCTTG
Payallar	TATTGTTTTA	GAATCCTTTC	TTCTTCTGCG	GTTAGTAAGA	TTTAAGCTTG
Kumluca	TATTGTTTTA	GAATCCTTTC	TTCTTCTGCG	GTTAGTAAGA	TTTAAGCTTG
Kocarli	TATTGTTTTA	GAATCCTTTC	TTCTTTTGCG	TTTAGTAAGA	TTTAAGCTTG
Clustal Co	*****	***** *	***** *	*****	*****
	710	720	730	740	750
Gazipasa	GTGTAAGTAG	GCATCTAGAA	TGAAAGATTA	ATAAACCAGC	TCTTAATCAC
Kampus	GTGTAAGTAG	GCATCTAGAA	TGAAAGATTA	ATAAACCAGC	TCTTAATCAC
SERIK	GTGTAAGTAG	GCATCTAGAA	TGAAAGATTA	ATAAACCAGC	TCTTAATCAC
Yurtpinar	GTGTAAGTAG	GCATCTAGAA	TGAAAGATTA	ATAAACCAGC	TCTTAATCAC
Demre	GTGTAAGTAG	GCATCTAGAA	TGAAAGATTA	ATAAACCAGC	TCTTAATCAC
Payallar	GTGTAAGTAG	GCATCTAGAA	TGAAAGATTA	ATAAACCAGC	TCTTAATCAC
Kumluca	GTGTAAGTAG	GCATCTAGAA	TGAAAGATTA	ATAAACCAGC	TCTTAATCAC
Kocarli	GTGTAAGCAG	ACATCTAGAA	TGAAAAATTA	ATAAACCAGC	CCTTAATCAC
Clustal Co	***** *	.*****	**.*.*	*****	*****

	760	770
Gazipasa	AGTTTTAAAG	AGTTGTGTTT T
Kampus	AGTTTTAAAG	AGTTGTGTTT T
SERIK	AGTTTTAAAG	AGTTGTGTTT T
Yurtpinar	AGTTTTAAAG	AGTTGTGTTT T
Demre	AGTTTTAAAG	AGTTGTGTTT T
Payallar	AGTTTTAAAG	AGTTGTGTTT T
Kumluca	AGTTTTAAAG	AGTTGTGTTT T
Kocarli	AGTTTTAAAG	AGTTGTGTTT T
Clustal Co	*****	***** *

ÖZGEÇMİŞ



1979 yılında Kayseri’de doğdu. İlk ve orta eğitimini Kayseri’de tamamladı. Lise eğitimini ise Antalya’da tamamladı. 1998 yılında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünü kazanarak eğitime burada devam etti ve 2002 yılında mezun oldu. 2003 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalında yüksek lisansa başladı. 2005 yılında yüksek lisans eğitimini tamamlamış ve 2006 yılında doktora eğitimine başlamıştır. 2005 yılında araştırma görevlisi kadrosuna atandı ve halen aynı kurumda araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.