

Örtüaltından toplanan *Trialeurodes vaporariorum* (Westw.) ve *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera:Aleyrodidae) türlerinin poliakrilamid jel elektroforez yöntemiyle belirlenmesi¹

Cem ERDOĞAN² A. Sibel VELİOĞLU² M. Oktay GÜRKAN³
Graham D. MOORES⁴ Ian DENHOLM⁴

SUMMARY

Determination of *Trialeurodes vaporariorum* (Westw.) and *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera:Aleyrodidae) species collected from greenhouses by using polyacrylamide gel electrophoresis

The whiteflies are one of the major pests of field and greenhouse crops throughout the world. They cause damage both directly by feeding and indirectly through the excretion of honeydew and as a vector of plant virus diseases. Regular monitoring of whiteflies, by using polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE), can indicate movement/migration between geographical areas, indicate both inter and intra-strain variation/polymorphism, evaluate potential contamination between laboratory strains and also disclose esterase profiles for individual insects. Electrophoresis is one of the main technique for separating proteins and nucleic acids for a variety of purposes in most of the laboratories today. Densities of the esterase bands obtained from the PAGE have an important role in the possible determination of the insecticide resistance levels in some pests. At the same time, esterase banding patterns on electrophoretic gels have been used to provide an extremely reliable method for determining biotypes in especially whiteflies. There are many different biotypes in *Bemisia tabaci*. Both *B. tabaci* biotypes and *Trialeurodes vaporariorum*, which is a different species, are easily identified from each other with this method. In this study, 18 different whitefly populations collected from Aegean and Mediterranean Regions of Turkey were analyzed with PAGE. The standard populations from England were also used as well as the collected populations. According to the obtained results, the 11 populations were determined as *T. vaporariorum*, while 7 were *B. tabaci*. The typical B-biotype band (E_{0.14}) is found in all *B. tabaci* populations.

Key words: *Trialeurodes vaporariorum*, *Bemisia tabaci*, electrophoresis, esterase, biotype

¹ Bu çalışma Tübitak TOVAG 1050576 nolu projenin bir bölümüdür. Van'da 15-18 Temmuz 2009 tarihlerinde düzenlenen Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi'nde sözlü olarak sunulmuştur.

² Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü, Yenimahalle, ANKARA

³ Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

⁴ Rothamsted Research, Harpenden, İngiltere

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

Yazının Yayın Kuruluna Geliş Tarihi (Received): 30.05.2011

ÖZET

Beyaz sinekler tüm dünyada tarla ve sera ürünlerinin ana zararlılarından. Hem doğrudan bitkide beslenerek hem de dolaylı olarak balı madde salgılayarak ve bitki virüs hastalıklarını naklederek zarara neden olmaktadır. Poliakrilamid jel elektroforez (PAGE) yöntemi kullanılarak beyaz sineklerin düzenli olarak izlenmesiyle, coğrafik alanlar arasında hareket ve göçü, türler arası ve tür içi farklılıklar ve polimorfizmi, laboratuvarında yetiştirilen kültürler arasındaki potansiyel bulaşmaları ve bireysel olarak böceklerdeki esteraz profilleri ortaya konulabilmektedir. Elektroforez, günümüzde birçok laboratuvarında proteinlerin ve nükleik asitlerin farklı amaçlarla ayrılması için kullanılan ana tekniklerden biridir. PAGE ile elde edilen esteraz bantlarının yoğunlukları bazı zararlılarda, insektisitlere direnç düzeyinin belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Aynı zamanda jeldeki esteraz bant dizilişleri özellikle beyaz sineklerin biyotiplerinin belirlenmesinde de güvenilir bir yöntem olarak kullanılmaktadır. *Bemisia tabaci*'de pek çok farklı biyotip bulunmaktadır. Bu yöntemle hem *B. tabaci* biyotipleri hem de farklı bir tür olan *Trialeurodes vaporariorum* birbirlerinden kolaylıkla ayrılabilir. Bu çalışmada Ege ve Akdeniz Bölgesi'nden toplanan 18 farklı beyaz sinek popülasyonu PAGE ile incelenmiştir. Toplanan popülasyonların yanı sıra İngiltere'den getirilen standart popülasyonlar da denemelerde kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre popülasyonlardan 11'inin *T. vaporariorum*, 7'sinin de *B. tabaci* olduğu belirlenmiştir. Tüm *B. tabaci* popülasyonlarında tipik B-biyotip bant (E_{0.14}) bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: *Trialeurodes vaporariorum*, *Bemisia tabaci*, elektroforez, esteraz, biyotip

GİRİŞ

Günümüzde hızla artan dünya nüfusunun gıda ihtiyacının karşılanabilmesi için, birim alandan elde edilen verimliliğin artırılması gerekmektedir. Örtüaltı yetiştiriciliği gerek ülkemiz ekonomisinde gerekse halkımızın beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Türkiye'de örtüaltı yetiştiricilik faaliyetlerinin %95'ini sebze yetiştiriciliği oluşturmaktadır (Keskin ve Çakaryıldırım 2003). Ülkemizde seralarda yetiştirilen sebzelerin ana zararlılarından biri de beyaz sineklerdir.

Beyaz sinekler doğrudan bitki özsuğunu sokup emerek bitkinin zayıflamasına, beslenmeleri sırasında salgıladıkları tatlı maddelere saprofitik mantarların bulaşması sonucunda fumajine neden olmakla beraber, aynı zamanda pek çok bitki virüs hastalığının vektörüdürler (Markham et al. 1994, Jones 2003). Beyaz sineklerin hem ergin hem de larva dönemlerinin yaprak alt yüzeyini tercih etmeleri, hızlı üreme kapasitesine sahip olmaları, ayrıca bir üretim sezonu içerisinde çok sayıda döl verebilmeleri ve oldukça fazla konukçu dizisine sahip olmaları nedeni ile mücadelesi oldukça zordur. Beyaz sinek türlerinden *Trialeurodes vaporariorum* (Westw.)'un yanı sıra aynı zamanda *Bemisia tabaci* (Genn.)'de seralarda zarar yapabilmektedir. Bu zararlılar üzerinde yapılacak çalışmaların sağlıklı bir şekilde yürütülebilmesi için de öncelikli olarak toplanan örneklerin türlerinin doğru bir şekilde teşhis edilmesi gerekmektedir. Tür teşhisi morfolojik olarak yapılabildiği

gibi elektroforez de bu alanda kullanılan alternatif yöntemlerden birisidir. Poliakrilamid jel elektroforez (PAGE), esteraz enziminin jelde oluşturduğu bant dizilişine göre tür ve biyotiplerin belirlenmesinde tercih edilen güvenilir bir yöntemdir.

Bu çalışmada, ülkemiz Akdeniz ve Ege bölgelerindeki örtüaltı sebze ekiliş alanlarından toplanan beyaz sinek popülasyonları laboratuvarında kültüre alınmış ve bu popülasyonların esteraz bant dizilişleri iki farklı PAGE yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Denemeler 2007–2009 yılları arasında Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü'nde yürütülmüştür.

MATERYAL VE METOT

Araştırmanın ana materyalini Antakya, Antalya, İzmir ve Mersin illerindeki örtüaltı sebze ekiliş alanlarından toplanan beyaz sinek popülasyonları ve İngiltere'den temin edilen standart *T. vaporariorum* ile *B. tabaci* popülasyonları oluşturmaktadır. Beyaz sinek popülasyonlarının yanı sıra, soğutmalı mini vertikal elektroforez sistemi, soğutmalı santrifüj, hassas terazi, pH metre, ultrasonik banyo, çoklu homojenizatör, 96 kuyulu düz tabanlı mikropalakalar, eppendorf tüpler, ağız aspiratörü, tek ve çok kanallı mikropipetler ile değişik kimyasal malzemeler kullanılmıştır.

Beyaz sinek popülasyonları ve yetiştirilmesi

Ülkemizde Akdeniz ve Ege bölgelerinde örtüaltı sebze yetiştiriciliği yapılan alanlar dolaşarak, beyaz sinek popülasyonları toplanmıştır. Farklı dönemlerde beyaz sinekler ile bulaşık yapraklar kağıt torbalara konularak, buz kutusu içerisinde Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü'ne getirilmiş ve böcek yetiştirme odalarında patlıcan bitkisi üzerinde kültüre alınmışlardır. Bulaşmanın olmaması için her bir popülasyon, 50x75x36 cm ölçülerindeki farklı pleksişglas kabinler içerisinde yetiştirilmiştir. Çizelge 1'de çalışmada kullanılan beyaz sinek popülasyonlarının toplandığı yerler ve konukçu bitkiler yer almaktadır. Çalışmada ayrıca İngiltere'den getirilen standart *B. tabaci* ve *T. vaporariorum* popülasyonları karşılaştırma amacı ile kullanılmıştır (Çizelge 2). Tüm popülasyonlar 25 ± 2 °C sıcaklık, % 50-60 orantılı nem ve 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık koşullarda yetiştirilmiştir.

Poliakrilamid jel elektroforez (PAGE) çalışmaları

Toplanan beyaz sinek popülasyonları ve standart popülasyonlar tür ayrımı ve biyotiplerinin belirlenebilmesi için iki farklı elektroforez yöntemiyle incelenmiştir.

Williams and Reisfeld (1964) yöntemi

Vertikal (dikey) jel elektroforez sistemi ve 10x12x0.3 cm boyutlarındaki cam plakalar kullanılarak Williams and Reisfeld (1964)'e göre deneyler yürütülmüştür. Yönteme göre %7.5'lik küçük delikli jel hazırlanırken potasyum ferrisiyanit ilave edilmektedir. Cam plakaların üst kısmında 2 cm boşluk kalacak şekilde %7.5'lik poliakrilamid jel dökülmüş ve yaklaşık 30-60 dakika jelin polimerize olması için beklenmiştir. Daha sonra hazırlanan %2.5 poliakrilamid jel içeren geniş delikli jel, küçük delikli jelin üzerine pastör pipeti yardımıyla ilave edilmiş ve taraklar yerleştirilmiştir. Jel polimerize olması için, ışık kaynağı önüne konularak 30-60 dakika beklenmiştir. Polimerizasyonu takiben %10 sakkaroz, %1.6 Triton X-100 ve %0.001 bromocresol purple'dan oluşan homojenizasyon çözeltisi hazırlanmıştır. Homojenizasyon çözeltisi içerisine katılan bromocresol purple, izleme boyası olarak kullanılmıştır.

Çizelge 1. Denemelerde kullanılan beyaz sinek popülasyonları

Popülasyon	Toplandığı yer	Konukçu bitki
Adanalıoğlu	Mersin/Adanalıoğlu	Fasulye
Agrofide	Antalya	Patlıcan
Aksu	Antalya/Aksu	Domates
Antakya	Antakya	Domates
Aydıncık	Mersin/Aydıncık	Patlıcan
Bağlık	Antalya/Kumluca	Salatalık
Beykonak	Antalya/Kumluca	Patlıcan
Çakış	Antalya/Serik	Patlıcan
Çamköy	Antalya/Çamköy	Domates
Hacıaliler	Antalya/Aksu	Domates
Haciveliler	Antalya/Kumluca	Patlıcan
İzmir	İzmir/Balçova	Domates
Karşıyaka	Antalya/Kumluca	Biber
Kaş	Antalya/Kaş	Domates
Kazanlı	Mersin/Kazanlı	Salatalık
Serik	Antalya/Serik	Domates
Topallı	Antalya/Serik	Domates
Yenimahalle	Antalya/Kumluca	Domates

Çizelge 2. Standart olarak denemelerde kullanılan *Trialeurodes vaporariorum* ve *Bemisia tabaci* popülasyonlarının özellikleri ve orijinleri

Popülasyon	Türü	Orijini	Konukçu bitki	Toplanma Yılı	Özellikleri
BCP	<i>Trialeurodes vaporariorum</i>	İngiltere	Tütün	1987	Hassas (S)
4971TV2	<i>T. vaporariorum</i>	İngiltere	Süs bitkisi	2004	Dirençli (R)
GRB	<i>Bemisia tabaci</i>	ABD	Pamuk	1996	'B' Biyotip
J SX	<i>B. tabaci</i>	Çin	Pamuk	2008	'Q' Biyotip
CHLORAKA	<i>B. tabaci</i>	G.Kıbrıs	Salatalık	2003	'Q' Biyotip

Ağız aspiratörü ile toplanan beyaz sinek bireyleri CO₂ ile bayıldıktan sonra, buz kaseti üzerine alınmış ve binoküler yardımıyla 30 adet ergin dişi beyaz sinek seçilerek, içerisinde homojenizasyon çözeltisi bulunan eppendorf tüplere aktarılmıştır. Aktarılan beyaz sinekler, eppendorf'a uyumlu olan homojenizatör yardımıyla homojenize edilmiştir. Homojenizasyon işleminin tamamlanmasının ardından, her bir eppendorf tüp soğutmalı santrifüj içerisinde 4°C'de, 13.000 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Poliakrilamid jel kuyularına bu kütle homojenatlardan 7.5 µl aktarılmış ve 4°C'de, 250 voltta 90 dakika süreyle aynı anda 4 jel koşturulabilen, Atto marka elektroforez tankında barbiton buffer içerisinde koşturulmuştur.

Her bir jel için 50 ml 0.2 M fosfat buffer (pH:6.0) içerisine, 100 mg Fast Blue RR salt (4-benzoyllamino-2,2-dimethoxybenzene diazoniumchloride hemi[zinc chloride]salt; Sigma) konulup iyice karıştırılmış ve whatman 1 no'lu filtre kağıdı ile süzölmüştür. Substrat olarak 1 ml 100 mM α-naftil asetat (CH₃CO₂C₁₀H₇) veya 500 µl 100 mM α-naftil butirat (CH₃-CH₂-CH₂-COO-) ilave edilmiştir. Boyama işlemi oda sıcaklığında genellikle 45 dakika ya da esteraz bantları net olarak görülünceye kadar sürdürölmüştür. Boyanan jeller su ile yıkandıktan sonra, %7'lik asetik asit içerisine alınmak suretiyle fikse edilmiştir. Elde edilen bu jeller bir gün sonra fotoğraflanarak, içerisine %7'lik asetik asit konulmuş olan plastik kilitli torbalarda numaralandırılarak saklanmıştır.

Ornstein and Davis (1964) yöntemi

Bir önceki yöntemde ölçüleri verilen cam plakalar jel dökme standına düzgün bir şekilde yerleştirilmiş ve üst kısımda 2 cm'lik boşluk bırakılacak şekilde, Ornstein and Davis (1964)'e göre hazırlanan %7.5'lik poliakrilamid jelden oluşan küçük delikli jel dökölmüştür. Yaklaşık olarak 30-60 dakika sonra jelin polimerize olmasını takiben, hazırlanan %2.5'lik poliakrilamid jel (geniş delikli jel), küçük delikli jelin üzerine pastör pipeti yardımıyla dökölmüş ve taraklar yerleştirilmiştir. Jel polimerize olması amacıyla ışık kaynağı önüne konulmuş ve yine 30-60 dakika beklenilmiştir. Williams and Reisfeld metodundaki gibi jellere yüklenen kütle homojenatlar Atto marka dikey elektroforez tankında glisin buffer kullanılmak suretiyle, 4 °C'de, 250 V'ta 90 dakika süre ile koşturulmuştur.

Bireysel homojenatların kullanıldığı denemelerde ise, ergin dişi beyaz sinekler, içerisinde 5 µl homojenizasyon çözeltilisi bulunan mikroplaka hücrelerine tek tek aktarılmıştır. Daha sonra mikroplakaya uyumlu çoklu homojenizatör (Burkard Scientific) (French-Constant and Devonshire 1987) yardımıyla beyaz sinek bireyleri homojenize edilmiş ve toplam hacim 12.5 µl'ye tamamlanmıştır. Jel kuyularına 7.5 µl homojenat yüklenerek, kütle homojenatta belirtilen koşullarda koşturma işlemine tabi tutulmuştur.

Jeller cam plakalar arasından çıkarıldıktan sonra boyama işlemine tabi tutulmadan önce, koyulaşmamaları için 0.2 M fosfat buffer (pH:6.0) içerisine konularak 5-10 dakika süre ile yıkama işlemine tabi tutulmuşlardır. Her bir jel için 50 ml 0.2 M fosfat buffer (pH:6.0) içerisine, 100 mg Fast Blue RR salt konulup iyice karıştırılmış ve Whatman 1 no'lu filtre kağıdı ile süzölmüştür. Substrat olarak 1 ml 100 mM α-naftil asetat veya 500 µl 100 mM α-naftil butirat ilave edilmiştir. Boyama işlemi oda sıcaklığında genellikle 45 dakika ya da esteraz bantları net olarak görülünceye kadar sürdürölmüştür. Boyanan jeller su ile yıkandıktan sonra, %7'lik asetik asit içerisine alınmak suretiyle fikse edilmiştir. Elde edilen bu jeller bir gün sonra fotoğraflanarak, içerisine %7'lik asetik asit konulmuş olan plastik kilitli torbalarda numaralandırılarak saklanmıştır.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

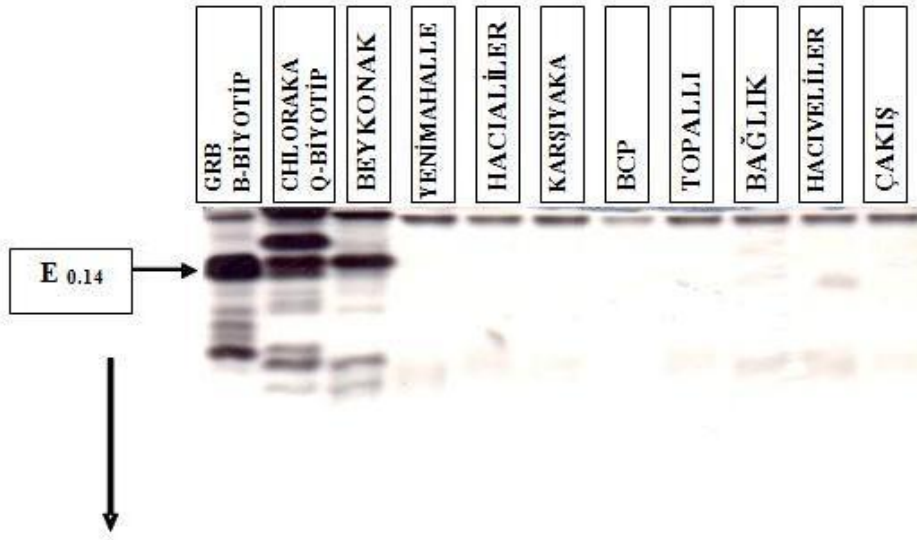
PAGE ile beyaz sineklerin düzenli olarak izlenmesi sonucunda, coğrafi alanlar arasındaki hareket ve göç, türler arası ve tür içi farklılıklar ve polimorfizm belirlenebilmektedir. Ayrıca, laboratuvarında yetiştirilen kültürler arasındaki potansiyel bulaşmalar ve bireysel olarak böceklerdeki esteraz profilleri de ortaya çıkarılabilmektedir. PAGE, elektroforetik jellerdeki esteraz bant dizilişlerine göre türlerin ve biyotiplerin belirlenmesinde güvenilir bir yöntem olarak kullanılmaktadır.

Williams and Reisfeld Yöntemi ile esteraz enzim bulguları

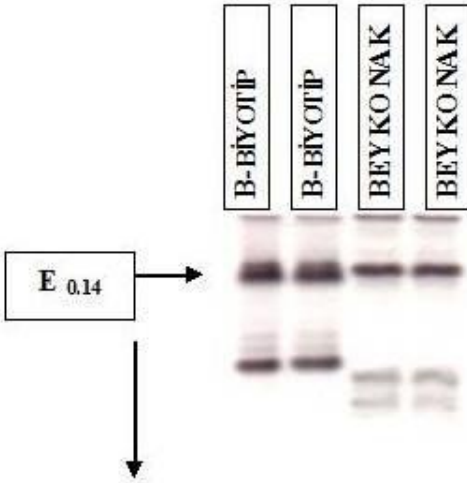
Williams and Reisfeld (1964) jel ve barbiton buffer sistemi kullanılarak esteraz bant dizilişlerine göre beyaz sinek popölyasyonlarının tür ayrımlarının yapılmasına yönelik çalışmalar yürütölmüştür. Beyaz sinek popölyasyonlarının kütle homojenatları, poliakrilamid jelde koşturulmuş ve boyama işlemi sonucunda jelde oluşan esteraz bant dizilişleri incelenmiştir. Bu yöntemle elde edilen jellerden birinde Beykonak popölyasyonu haricindeki diğeri popölyasyonların oldukça açık renkte ve benzer bant dizilişleri verdikleri görölmüştür. Tür teşhisinin de yapılabilmesi amacıyla standart *B. tabaci* popölyasyonları kullanılarak koşturma işlemi yürütölmüştür (Şekil 1).

Şekil 1'de, farklı Antalya popölyasyonları ile birlikte koşturulan ve İngiltere'den getirilen standart popölyasyonlardan, GRB standart B-biyotip *B. tabaci*'yi, Chloraka standart Q-biyotip *B. tabaci*'yi, BCP ise standart hassas *T.*

vaporariorum'u temsil etmektedir. Yapılan incelemede, Antalya popülasyonlarının Beykonak hariç enzim aktivitesinin düşük olduğu, bu nedenle de oldukça belirsiz bant oluşturdıkları görülmektedir. Buna karşın standart *B. tabaci* ile Beykonak popülasyonlarına ait bireylerin yüksek düzeyde esteraz aktivitesine sahip olmaları nedeniyle oldukça koyu ve kalın bant verdikleri görülmektedir.



Şekil 1. Williams and Reisfeld (1964) poliakrilamid jel elektroforez yöntemine göre değişik beyaz sinek popülasyonlarında elektroforez bant dizilişleri.



Şekil 2. Williams and Reisfeld (1964) poliakrilamid jel elektroforez yöntemine göre Beykonak ve B-biyotip (GRB) popülasyonunun elektroforez bant dizilişi.

Beykonak popülasyonuna ait bant dizilişinin diğer Antalya popülasyonlarından farklı olması nedeniyle bu popülasyonun *B. tabaci* olma ihtimali üzerinde durulmuştur. Bu amaçla Beykonak ve standart B-biyotip (GRB) *B. tabaci* bireyleri aynı jelde birlikte koşturulmuştur (Şekil 2).

Koşturulan bu jel, özellikle B-biyotip *B. tabaci*'nin belirlenmesinde en iyi performansı göstermesi nedeniyle, substrat olarak 1-naftil butirat kullanılarak boyama işlemine tabi tutulmuştur. Sonuç olarak, Beykonak popülasyonunun B-biyotipin belirlenmesinde karakteristik olan tipik E_{0,14} bandını verdiğinden, B-biyotip *B. tabaci* olduğu kesinleşmiştir. Byrne et al. (1995), poliakrilamid jel elektroforezi kullanmak sureti ile B-biyotip olarak bilinen beyaz sineklerdeki esteraz enzimi varyasyonunu araştırmışlar ve tüm B-biyotip dizilişler içerisinde toplam 6 esteraz tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, esterazların elektroforez jellerindeki dizilişinin *B. tabaci* biyotipleri arasındaki ayrımında kilit rolü oynadığını bildirerek, E_{0,14} olarak isimlendirilen esterazın varlığının özellikle B-biyotip beyaz sineklerin teşhisinde önemli rol oynadığını belirtmektedirler (Byrne et al. 2000).

Williams and Reisfeld yönteminde *T. vaporariorum* olma ihtimali olan popülasyonların bant dizilişlerinin daha az belirgin olduğu dikkati çekmiştir. Bu nedenle Gorman and Denholm (2000) tarafından tavsiye edilen Ornstein and Davis (1964) yöntemi kullanılmıştır.

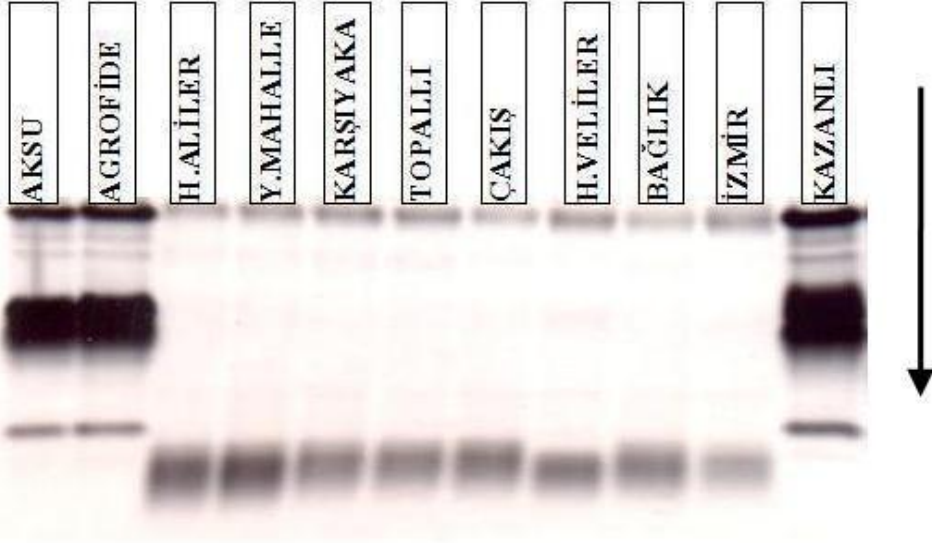
Ornstein and Davis Yöntemi ile esteraz enzim bulguları

Ornstein and Davis (1964)'e göre dökülen ve glisin bufferda yürütülen jellere ait fotoğraflardan biri Şekil 3'te görülmektedir. Şekil 3'te kütle homojenattan farklı olarak, her bir popülasyon için tek bir bireye ait homojenat koşturulmuştur. Şekil 1'de yer alan Williams and Reisfeld (1964)'e göre yürütülen jelde, kütle homojenat kullanılmasına rağmen bazı popülasyonlar belirgin olmayan bant dizilişi vermişlerdi. Bu yöntemde ise bireysel homojenat kullanıldığında dahi Şekil 3'te görüldüğü gibi oldukça belirgin bant dizilişi elde edilerek, tür teşhisleri yapılmıştır.

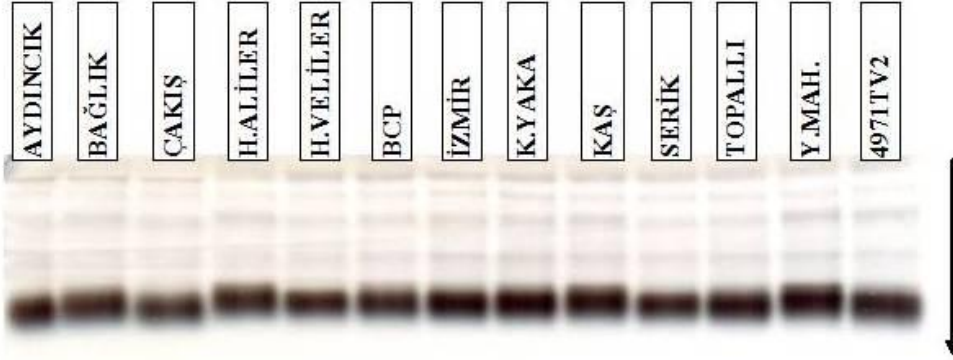
Şekil 1 ve 2'de yer alan standart *B. tabaci* popülasyonları ile benzer bant dizilişine sahip olduklarından, Aksu, Agrofide ve Kazanlı popülasyonlarının da *B. tabaci* oldukları anlaşılmıştır (Şekil 3). Aynı jelde Hacıaliler, Yenimahalle, Karşıyaka, Topallı, Çakış, Hacıveliler, Bağlık ve İzmir popülasyonları ise benzer esteraz bant dizilişi vermiş ve *T. vaporariorum* olarak belirlenmiştir.

Türlerin kesinleştirilmesi amacıyla popülasyonları daha iyi temsil etmesi bakımından bundan sonraki çalışmalarda kütle homojenatın kullanılmasına karar verilmiş ve çalışmalar bu şekilde yürütülmüştür.

Şekil 4 incelendiğinde, bireysel olarak homojenatların koşturulduğu jel fotoğrafı da dikkate alındığında (Şekil 3), popülasyonların esteraz enzimi bant dizilişlerinin benzer olduğu görülmektedir. Yani hem hassas BCP, hem de örtüaltından toplanan *T. vaporariorum* popülasyonlarının bant dizilişi açısından bir farklılık bulunmamaktadır.



Şekil 3. Ornstein and Davis (1964) poliakrilamid jel elektroforez yöntemine göre bireysel olarak *Trialeurodes vaporariorum* popülasyonlarının elektroforez bant dizilişleri.

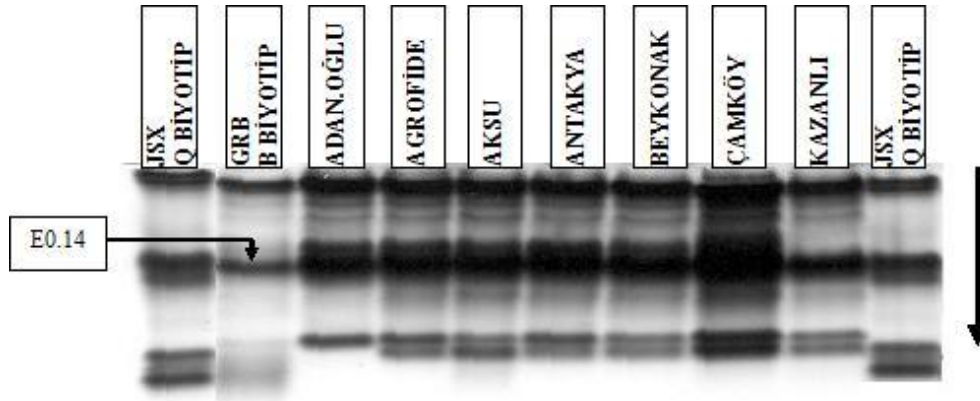


Şekil 4. Sebzelerden toplanan *Trialeurodes vaporariorum* popülasyonlarının Ornstein and Davis (1964) poliakrilamid jel elektroforez yöntemine göre bant dizilişleri.

Popülasyonlar arasında farklı bant koyuluklarının esteraz profillerindeki küçük farklılıkları gösterdiği bilinmektedir. Gorman (2005) tarafından yürütülen gerek bireysel gerekse de kütle homojenatlara ait elektroforez çalışmasında ise bu denli net bir bant dizilişi elde edilememiştir. Prabhaker et al. (1987), poliakrilamid jel elektroforez yöntemini kullanarak yürüttükleri çalışmalarında *T. vaporariorum*'da herhangi bir bant dizilişi elde edemediklerini açıklamaktadırlar. Yürütülen elektroforez çalışmalarında *T. vaporariorum* popülasyonlarının bant dizilişleri hem bireysel olarak hem de kütle homojenatlara ait olarak net bir şekilde ortaya konulmuştur.

Şekil 5'te, İngiltere (Rothamsted Research)'den getirilen standart B ve Q-biyotip *B. tabaci* popülasyonları kullanılarak yürütülen elektroforez çalışması sonucuna göre, Adanalıoğlu, Agrofide, Aksu, Antakya, Beykonak, Çamköy ve Kazanlı popülasyonlarının esteraz enzimi bant dizilişlerinin standart B-biyotip GRB popülasyonunda olduğu gibi E_{0.14} bandını içerdikleri dikkati çekmektedir.

Ulusoy ve Bayhan (2003) Doğu Akdeniz Bölgesi sebze ekiliş alanlarından topladıkları örneklerde *B. argentifolii* (B-biyotip *B. tabaci*)'yi morfolojik karakterler kullanarak tespit etmişlerdir. Mitochondrial cytochrome oxidase I gen kullanılarak yürütülen bir başka çalışmada ise incelenen tüm *B. tabaci* örneklerinin %96-100 B-biyotip oldukları belirlenmiştir (Bayhan et al. 2006) İkten ve ark. (2007), Ege ve Akdeniz Bölgelerinden toplamış oldukları *B. tabaci* popülasyonlarının biyotiplerini, mitokondriyal COI gen bölgesindeki DNA dizilimi yöntemine göre incelemişler ve hem B hem de Q biyotipini tespit etmişlerdir. Erdoğan et al. (2008), Adana, Antalya, İzmir ve Tarsus'ta pamuk ekiliş alanlarından toplanan *B. tabaci* popülasyonlarının esteraz bant dizilişlerini poliakrilamid jel elektroforez yöntemini kullanarak karakterize etmişler ve tüm popülasyonların tipik B-biyotip bant (E_{0.14})'a sahip olduklarını bulmuşlardır.



Şekil 5. Sebzelerden toplanan ve *Bemisia tabaci* oldukları tespit edilen popülasyonların Ornstein and Davis (1964) poliakrilamid jel elektroforez yöntemine göre biyotiplerinin belirlenmesi

Tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde örtüaltından toplanan beyaz sinek popülasyonlarının 11 tanesinin *T. vaporariorum*, 7 tanesinin ise *B. tabaci* olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3 ve 4). *B. tabaci* olduğu belirlenen türlerin, yapılan biyotip çalışması sonucunda E_{0.14} bandını oluşturmaları nedeniyle B-biyotip oldukları anlaşılmıştır.

B. tabaci'nin 1991 yılında ABD'de 500 milyon dolar ürüne kaybına neden olduğu kaydedilmiştir (Perring et al. 1993). *B. tabaci*'nin yapmış olduğu bu salgın araştırmacıların bu zararlı ile ilgili taksonomik çalışmalar yapmalarını teşvik

etmiştir. Elde edilen bazı farklılıklar neticesinde, 1994 yılında Bellows ve Perring tarafından daha önceleri *B. tabaci* B-biyotip olarak kabul edilen beyaz sineklerin, *B. argentifolii* olarak yeni bir tür tanımlaması yapılmıştır (Bellows et al. 1994). Buna karşın, halen bu yeni tür isminin geçerliliği ve kabulü üzerinde önemli görüş ayrılıkları bulunmaktadır. Aslında, *B. tabaci*'de bu farklılıklara karşılık biyotip kavramı kullanılmıştır. *B. tabaci*'nin A-biyotip, B-biyotip, K-biyotip, M-biyotip, Q-biyotip gibi bir çok biyotipi bulunmaktadır. Beyaz sinekler üzerinde çalışan araştırmacıların büyük bir bölümü, B-biyotip *B. tabaci*'nin yeni bir tür olarak kabul edilebilmesi için daha fazla kanıtı ihtiyaç duyulduğunu belirterek, *B. argentifolii* yerine eskiden olduğu gibi *B. tabaci* B-biyotip terimini kullanmayı daha uygun görmekte-dirler (Erdoğan 2003).

Çizelge 3. *Trialeurodes vaporariorum* olduğu tespit edilen popülasyonlar

Popülasyon	Toplandığı yer
Aydıncık	Mersin/Aydıncık
Bağlık	Antalya/Kumluca
Çakış	Antalya/Serik
Hacıaliler	Antalya/Aksu
Hacıveliler	Antalya/Kumluca
İzmir	İzmir/Balçova
Karşıyaka	Antalya/Kumluca
Kaş	Antalya/Kaş
Serik	Antalya/Serik
Topallı	Antalya/Serik
Yenimahalle	Antalya/Kumluca

Çizelge 4. *Bemisia tabaci* olduğu tespit edilen popülasyonlar ve biyotipleri

Popülasyon	Toplandığı yer	Biyotip
Adanalıoğlu	Mersin/Adanalıoğlu	B
Agrofide	Antalya	B
Aksu	Antalya/Aksu	B
Antakya	Antakya	B
Beykonak	Antalya/Kumluca	B
Çamköy	Antalya/Çamköy	B
Kazanlı	Mersin/Kazanlı	B

Genel olarak yürütülen her iki yöntemde de, esteraz bantlarının popülasyonlara göre farklı yoğunluklarda bulunduğu belirlenmiş olup, bu durum esteraz profillerindeki farklılıkları yansıtmaktadır. Esteraz bant dizilişlerinin ortaya konulduğu PAGE yöntemiyle hem *B. tabaci* biyotipleri hem de farklı bir tür olan *T. vaporariorum*'un birbirlerinden kolaylıkla ayrılabilmesi mümkün olmaktadır.

TEŞEKKÜR

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

KAYNAKLAR

- Bayhan E., M. Ulusoy and J.K. Brown. 2006. Host range, distribution and natural enemies of *Bemisia tabaci* B biotype (Homoptera:Aleyrodidae) in Turkey. Journal of Pest. Sci., 79, 233-240.
- Bellows T.S. JR., Perring T.M., Gill R. J. and Headrick D.H. 1994. Description of a spesies of *Bemisia* (Homoptera:Aleyrodidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 87(2), 195-206.
- Byrne F. J., Bedford I. D., Devonshire A. L. and Markham P. G. 1995. Esterase variation and squash induction in B-type *Bemisia tabaci* (Homoptera : Aleyrodidae). Bulletin of Entomological Research, 85, 175-179.
- Byrne F. J., Gormon K., Cahill M., Denholm I. and Devonshire A. L. 2000. The role of B-type esterases in conferring insecticide resistance in the tobacco whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn). Pest Management Science, 56, 867-874.
- Erdoğan C. 2003. Farklı *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera : Aleyrodidae) popülasyonlarının bazı insektisitlere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi üzerinde araştırmalar. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 132s.
- Erdogan C., Moores G.D., Gurkan M.O., Gorman K.J. and Denholm I. 2008. Insecticide resistance and biotype status of populations of the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) from Turkey. Crop Protection, 27 (3-5), 600–605.
- Ffrench-Constant R. H. and Devonshire A. L. 1987. A multiple homogenizer for rapid sample preparation in immunoassays and electrophoresis. Biochem. Genet., 25, 493-499.
- Gorman K.J. 2005. Resistance to conventional and novel insecticides in the Glasshouse whitefly, *Trialetrodes vaporariorum*. Ph.D. thesis, University of Luton, 174p.
- Gorman K. and Denholm I. 2000. Whitefly esterase analysis-electrophoresis. European Whitefly Studies Network, Part A3, Faunistics. 2p.
- İkten C., H. Göçmen, N. Topakçı, F. Dağlı ve U. Yükselbaba. 2007. Pamuk Beyazsineği *Bemisia tabaci* (Genn.)'nin Türkiye popülasyonlarının mitokondrial cytochrome oxidase subunit I (mtCOI)'e göre biyotiplerinin saptanması. Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, s.47, 27-29 Ağustos 2007, Isparta.
- Jones D.R. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. European Journal of Plant Pathology, 109 (3), 195-219.
- Keskin G. ve Çakaryıldırım N. 2003. Örtüaltı sebze yetiştiriciliği. Tarımsal Ekonomik Araştırma Enstitüsü-Bakış, 1, 1–4.

- Markham P.G., Bedford I.D., Liu S. and Pinner M.S. 1994. The transmission of geminiviruses by *Bemisia tabaci*. Pesticide Science, 42, 123-128.
- Ornstein L. and Davis B. J. 1964. Disc electrophoresis I. Background and theory. Ann. NY. Acad. Sci., 121, 321-349.
- Perring T. M., Cooper A. D., Rodriguez R. J., Farrar C. A. and Bellows Jr. T. S. 1993. Identification of a whitefly species by genomic and behavioural studies. Science 259, 74-77.
- Prabhaker N., Coudriet D. L. and Meyerdirk D. E. 1987. Discrimination of three whitefly species (Homoptera, Aleyrodidae) by electrophoresis of non-specific esterases. Journal of Appl. Ent., 103, 447-451.
- Ulusoy R. ve E. Bayhan. 2003. Doğu Akdeniz Bölgesi sebze alanlarında yeni bir beyazsinek türü: Gümüşi Yaprak Beyazsineği, *Bemisia argentifolii* Bellows and Perring (Homoptera:Aleyrodidae). Türkiye Entomoloji Dergisi, 27(1), 51-60.
- Williams D. E. and Reisfeld R. A. 1964. Disc electrophoresis in polyacrylamide gels: extension to new conditions of pH and buffer. Ann. NY. Acad. Sci., 121, 373-381.