



MAKÜ FEBED

ISSN Online: 1309-2243

<http://edergi.mehmetakif.edu.tr/index.php/febed>

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 4 (1): 1-6 (2013)

Araştırma Makalesi / Research Paper

Farklı Bitkiler Üzerinde Yetiştirilen *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae)'nin Esteraz ve Glutathion S-Transferaz Enzim Düzeylerinin Belirlenmesi

Sibel Yorulmaz Salman, Fatih Bayrak, Rifat Kılıçoğlu, İdris Sancar, Recep Ay

Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 32260, Isparta

Geliş Tarihi (Received): 13.02.2013, Kabul Tarihi (Accepted): 19.07.2013

✉ Sorumlu yazar (Corresponding Author): sibelyorulmaz@sdu.edu.tr

☎ 0246 211 48 66 📠 0246 211 48 85

ÖZET

Bu çalışmada *Tetranychus urticae*'nin farklı bitkilerde yetiştirilmesi sonucu esteraz ve glutathion-S-transferaz (GST) enzim miktarlarındaki değişiklikler incelenmiştir. Konukçu bitki olarak fasulye (*Phaseolus vulgaris*), hıyar (*Cucumis sativus*), domates (*Lycopersicon esculentum*), biber (*Capsicum annuum*), patlıcan (*Solanum melongena*) ve kabak (*Cucurbita pepo*) bitkileri kullanılmıştır. Farklı bitkiler üzerinde yetiştirilen *T.urticae* popülasyonlarında GST enzimi kinetik yöntemle, esteraz enzimi hem elektroforez hem de kinetik yöntemlerle belirlenmiştir. Esteraz enziminin elektroforetik olarak incelenmesi sonucunda en yoğun bant kalınlığı kabak ve patlıcanda yetiştirilen popülasyonlarda, en az bant kalınlığı ise domates ve biber üzerinde yetiştirilen popülasyonlarda belirlenmiştir. Esteraz ve GST enzim aktiviteleri sırasıyla 13.53 ve 3.68 mOD⁻¹min⁻¹mg değerleri ile kabak bitkisinde yetiştirilen popülasyonda en yüksek bulunmuştur. Biber bitkisinde yetiştirilen popülasyonda ise esteraz ve GST enzim aktiviteleri 5.83 ve 1.36 mOD⁻¹min⁻¹mg değerleri ile en düşük olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Tetranychus urticae*, sebze, esteraz, glutathion-S-transferaz, detoksifikasyon enzimleri

Determination of Esterase and Glutathione S-Transferase Enzyme Levels of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) Reared on Different Plants

ABSTRACT

This study investigated the changes occurred in esterase and glutathione S-transferase enzyme amounts as a result of the reared of *Tetranychus urticae* on different plants. In this study, bean (*Phaseolus vulgaris*), cucumber (*Cucumis sativus*), tomato (*Lycopersicon esculentum*), pepper (*Capsicum annuum*), egg-plant (*Solanum melongena*) and cucurbita (*Cucurbita pepo*) were used as host plants. Glutathione S-transferase (GST) enzyme of *Tetranychus urticae* population reared on different plants was determined with kinetic method while esterase enzyme was determined by means of both electrophoresis and kinetic methods. According to the electrophoresis analysis of esterase enzyme, the most intense band thickness was found in cucurbita and egg-plant populations and the least intense band thickness was found in tomato and pepper populations. The highest esterase and GST enzyme activity values were found in cucurbita population with 13.53 and 3.68 mOD⁻¹min⁻¹mg, respectively. The lowest esterase and GST enzyme activity values were found in pepper population with 5.83 and 1.36 mOD⁻¹min⁻¹mg, respectively.

Key words: *Tetranychus urticae*, vegetable, esterase, glutathion-S-transferase, detoxification enzymes

GİRİŞ

İki noktalı kırmızı örümcek, *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae) konukçu bitkinin parankima hücreleriyle beslenerek zararlı olan polifag bir akar türüdür (Van Den Boom et al., 2004). Zararlı sera koşullarında yıl boyunca uygun yaşama ortamı bulmasından dolayı yüksek yoğunluğa ulaşarak önemli ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (Tsagkarakou et al., 1999). Kırmızı örümcekler bitki öz suyunu sokup emme suretiyle yapraklarda sararma, kuruma ve dökülmeyle doğrudan zarar yaparken, fotosentezin azalması ve virüs hastalıklarının nakliyle de dolaylı zarar meydana getirmektedir (Van Leeuwen et al., 2005). Bu akarın birçok bitki türüne ve çeşidine uyum sağlayarak sağlıklı dölleri vermesi, bitkilerin savunma mekanizmasının temel taşlarından olan toksinler, uzaklaştırıcılar ve beslenmeyi engelleyiciler gibi birçok ikincil metaboliti etkisiz hale getirmeleri ile açıklanabilmektedir (Rosenthal and Berenbaum, 1991; Sabelis et al., 1999). *T. urticae*'nin savaşımında uygulamasının kolay olması, kısa sürede etki göstermesi ve çoğu zaman tür teşhisine ihtiyaç duyulmaması nedeniyle kimyasal mücadele tercih edilmektedir. Ancak *T. urticae*'nin fitofag yapısı, üreme potansiyelinin yüksek olması ve yaşam döngüsünün kısa olması birkaç uygulamadan sonra akarisitlere direnç gelişmesini kolaylaştırmaktadır (Stumpf and Nauen, 2001; Van Leeuwen et al., 2006).

İnsektisitlerin yaygın ve bilinçsiz kullanımı sonucu zararlılarda davranışsal, morfolojik, fizyolojik, çok yönlü ve çapraz direnç olmak üzere 5 tip direnç ortaya çıkmaktadır (Yu, 2008). Fizyolojik direnç, zararlının bünyesinde bulunan bazı enzimlerin fizyolojik faaliyetleri sonucu biyokimyasal yollarla meydana getirdikleri direnç şeklidir. Böcek ve akarlarda insektisitlere karşı gelişen dirençte bazı spesifik enzimler rol oynamaktadır. (Vontas et al., 2000; Kim et al., 2004; Van Leeuwen et al., 2006).

Böcek bünyesinde bulunan monooksijenaz (P450), glutathion S-transferaz (GST) ve esteraz enzimleri insektisit detoksifikasyonunda önemlidir. İnsektisitlerin yoğun kullanılması sonucu büyük oranlarda ortaya çıkmaktadır (Öncüer, 2004). Esteraz enzimleri böceklerde feromon ve hormon metabolizması, sindirim sistemi ve sinir iletimi, üreme davranışı ve insektisitlere direnç gibi birçok önemli mekanizmada rol oynamaktadır. Böceklerde insektisitlere karşı direnç gelişiminde özellikle asetilkolinesterazlar ve karboksilesterazlar rol oynamaktadır. (Baffi et al., 2005). Konanz and Nauen (2004), GST enziminin böceklerde ve akarlarda bulunan ksenobiotik grubu içerisinde yer alan glutathionu önleyen sülfidril grubundan bir enzim olduğunu belirtmişlerdir. Özellikle insektisitlere karşı gelişen dirençte bazı detoksifikasyon enzimleri ve hedef bölge duyarsızlığı neden olmaktadır (Oppenoorth, 1984; Scott, 1999).

Bu çalışmada, fasulye, hıyar, domates, biber, patlıcan ve kabak bitkileri üzerinde yetiştirilen *T. urticae*'de önemli detoksifikasyon enzimleri içerisinde yer alan esteraz ve GST enzim değerlerindeki farklılıklar belirlenmeye

çalışılmıştır. Çalışmada insektisit veya akarisit direnci bulunmayan *T. urticae*'de konukçu bitki değişikliğinin esteraz ve glutathion-S-transferaz enzimleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Konukçu Bitki Üretimi

T. urticae üretiminde kullanılacak olan fasulye (*Phaseolus vulgaris*), hıyar (*Cucumis sativus*), domates (*Lycopersicon esculentum*), biber (*Capsicum annuum*), patlıcan (*Solanum melongena*), kabak (*Cucurbita pepo*) bitkileri sertifikalı fide firmalarından temin edilmiştir. Herhangi bir hastalık veya zararlı ile bulaşık olmayan bitki fideleri denemede kullanılmamıştır. Viyoll içerisinde temiz iklim odalarına getirilen bitkiler 10 x 15 cm çapındaki saksılar içerisinde şaşırtılmıştır. Bitkilerin yetiştirilmesi amacıyla 1/3 oranında steril toprak/kum/gübre karışımı kullanılmıştır. Konukçu bitki üretimi tüm çalışma süresince sıcaklığı 25±1°C ve orantılı nemi %60±10 olan 16:8 fotoperiyot koşullarının sağlandığı iklim odasında gerçekleştirilmiştir.

Tetranychus Urticae'nin Orijini ve Yetiştirilmesi

T. urticae'nin hassas popülasyonu (German Susceptible Strain, GSS) 2001 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümündeki böcek yetiştirme kabinlerine Rothamsted Experimental Station (İngiltere)'den getirilmiş ve herhangi bir pestisit uygulaması yapılmaksızın günümüze kadar yetiştirilmiştir. Fasulye, hıyar, domates, biber, patlıcan ve kabak bitkileri belirli büyüklüğe ulaştıktan sonra hassas *T. urticae* ile bulaştırma yapılmıştır. Konukçu bitkiler üzerinde *T. urticae* yeterli popülasyonlara ulaştıktan sonra enzim çalışmalarına başlanmıştır. Fasulye, hıyar, domates, biber, patlıcan ve kabak bitkileri üzerindeki tüm *T. urticae* popülasyonları 26±2°C sıcaklık, %50-60 orantılı nem ve 16:8 fotoperiyot koşullarının sağlandığı iklim odaları içerisinde yetiştirilmiştir.

Esteraz Enziminin Kinetik Olarak Belirlenmesi

Esteraz aktivitesinin kinetik olarak belirlenmesinde substrat olarak α -naftil asetat ve Stumpf and Nauen (2002)'in geliştirdikleri yöntem kullanılmıştır. 20 adet ergin dişi 100 μ L sodyum fosfat buffer (0.1M, pH 7.5) (%0.1 Triton X-100 içeren) içinde homojenize edilmiştir. Bu homojenat 10000 g, +4°C'de ve 5 dakika santrifüj edildikten sonra enzim kaynağı olarak kullanılmıştır.

Enzim kaynağı olarak kullanılan supernatant 10 kez seyreltilmiştir. Mikroplakanın hücrelerine 25 μ L supernatant +25 μ L fosfat buffer (0.2 M, pH:6) konulmuştur. Kinetik okuma hücrelere 200 μ L substrat solüsyonunun eklenmesiyle başlatılmıştır. Substrat solüsyonu 30 mg fast blue RR tuzunun 50 ml 0.2 M sodyum fosfat buffer'da ezilmesi ve bu karışıma 500 μ L 100 Mm α - naftil asetatın eklenmesiyle elde edilmiştir. Enzim aktivitesi 23°C, 450 nm'de 10 dakika süreyle okunmuştur. Kontrol hücreleri ise homojenatsız olarak

okunmuştur. Enzim okumaları en az üç tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır.

Glutathion S-Transferaz (GST) Enziminin Kinetik Olarak Belirlenmesi

GST enziminin kinetik olarak belirlenmesinde Stumpf and Nauen (2002)'in geliştirdikleri yöntem kullanılmıştır. 30 ergin dişi 300 µL Tris HCL buffer (0.05M, pH:7.5) içinde homojenize edilmiştir. Supernatant 10000g, +4°C'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. 100 µL supernatant, 100 µL 1-kloro-2,4- dinitrobenzen (CDNB) ve 100 µL indirgenmiş glutathion (GSH)'dan oluşan toplam hacim mikropilaka hücrelerine konulmuştur. CDNB %0.1 ethanolde hazırlanmış ve final konsantrasyonda hücrelerde 0.4 mM CDNB bulunmuştur. GSH Tris HCL tamponda hazırlanmış ve final konsantrasyonda hücrelerde 4 mM GSH bulunmuştur. Absorbanstaki değişim 340 nm, 25°C'de ve 5 dakikada okunmuştur. Enzim okumaları en az üç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.

Tüm enzim aktiviteleri Softmax PRO software programında analiz edilmiş ve sonuçlar mOD min⁻¹ mg⁻¹ olarak verilmiştir. Örneklerin toplam protein miktarlarının belirlenmesinde Bradford (1976)'un total protein tayin yöntemi kullanılmış ve Bovine Serum Albumine (BSA) standart olarak alınmıştır. Enzim sonuçlarından elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi tekniği ile (One-Way ANOVA) analiz edilmiş ve farklı konukçu bitkiler üzerinde yetiştirilen *T.urticae* popülasyonları arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır (Winer et al., 1991).

Poliakrilamid Jel Elektrofrez (PAGE) İle Esteraz Enziminin İncelenmesi

Esteraz enzimi belirlemek için Goka and Takafuji (1992)'nin "mini vertical nondenaturing poliakrilamide gel elektroforesis" yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. Acrylamide konsantrasyonu %7.5 ve %3.5 olmak üzere iki farklı yoğunluktan oluşmaktadır. Her konukçu bitki üzerinden ayrı ayrı ependorf tüpleri içerisine sayılan 5 adet ergin dişi birey 50 µL % 32 (w v⁻¹) sucrose ile hazırlanan ve 0.1% Triton X-100 içeren homojenizasyon buffer içerisinde plastik ezici ile homojenize edilmiştir.

Polimerizasyondan sonra her bir jel hücresine 10 µL homojenat yerleştirilmiştir. Elektrofrezde koşturma işlemi 150 V de yaklaşık 1.5 saatte tamamlanmıştır. Esteraz aktivitesi için, jel %0.02 α-naphthyl asetat ve %1 aseton içeren fosfat buffer (0.2 M, pH 6.5) içerisinde 30 dakika inkübe edilmiştir. Jel %0.02 lik α-naftil asetat solüsyonu ile hazırlanan %0.4 oranında Fast blue BB salt boya solüsyonu içerisinde 1 saat boyanmıştır. Bu süre sonunda jel %7'lik asetik asit içine alınarak 24 saat sonra densimetrede fotoğrafı çekilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Esteraz Enziminin Elektrofretik ve Kinetik Aktivitesi

Fasulye, hıyar, domates, biber, patlıcan ve kabak bitkileri üzerinde yetiştirilen *T.urticae* popülasyonlarının esteraz enzimleri kinetik olarak belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir. En yüksek esteraz enzim seviyesi kabak ve patlıcan bitkileri üzerinde yetiştirilen *T.urticae* popülasyonlarında belirlenmiştir (sırasıyla 13.53 ve 12.77 mOD⁻¹min⁻¹mg protein). Kabak ve patlıcan üzerinde yetiştirilen *T.urticae* popülasyonlarında belirlenen esteraz enzim seviyesi istatistiki olarak diğerlerinden farklı bulunmuş ve farklı bir grup oluşturmuşlardır (p<0.01). Esteraz enzim seviyesi bakımından fasulye bitkisi üzerinde yetiştirilen *T.urticae* popülasyonu üçüncü sırada bulunmaktadır. Domates ve hıyar bitkileri üzerinde yetiştirilen *T.urticae* popülasyonlarında belirlenen esteraz enzim seviyeleri istatistiki olarak aynı grup içerisinde yer almıştır (p<0.01). Esteraz enzim seviyesi bakımında en son sırada 5.83 mOD⁻¹min⁻¹mg protein değeri ile biber bitkisi üzerinde yetiştirilen *T.urticae* popülasyonu bulunmaktadır. En düşük esteraz enzim seviyesi biber bitkisi üzerinde yetiştirilen *T.urticae* popülasyonunda belirlenmiş ve istatistiki olarak farklı bir grup içerisinde verilmiştir (p<0.01). Rauch and Nauen (2003), 13 kat spirodiclofen dirençli *T.urticae*'de 1.2 kat esteraz ve 1.2 kat GST enzim aktivitesi belirlemişlerdir. Van Leeuwen and Tirry (2007), pamuk bitkisinden toplanan *T.urticae*'nin tarla popülasyonunda yüksek oranda bifenthrin direnci ve esteraz aktivitesi bulmuşlardır. Ay and Yorulmaz (2009), fasulye bitkisi üzerinde yetiştirilen 35.05 kat abamektin dirençli *T.urticae* popülasyonunun esteraz enzim aktivitesinde önemli bir değişiklik olmadığını belirlemişlerdir. Khajehali et al. (2011) gül üzerinden toplanan ve birçok akarite karşı duyarlı olan faklı *T.urticae* popülasyonlarında esteraz ve GST enzim aktivitelerinde önemli bir farklılık belirlememişlerdir. Moghadam et al. (2012), gül bitkisi üzerinden toplanan fenazakuin dirençli *T.urticae* popülasyonlarında hassas popülasyona göre esteraz ve GST enzimlerinin arttığını belirlemişlerdir.

Fasulye, hıyar, domates, biber, patlıcan ve kabak bitkileri üzerinde yetiştirilen *T.urticae* popülasyonlarının esteraz enzimleri poliakrilamid jel elektrofrez yöntemiyle belirlenmiş ve bantlar Şekil 1'de verilmiştir.

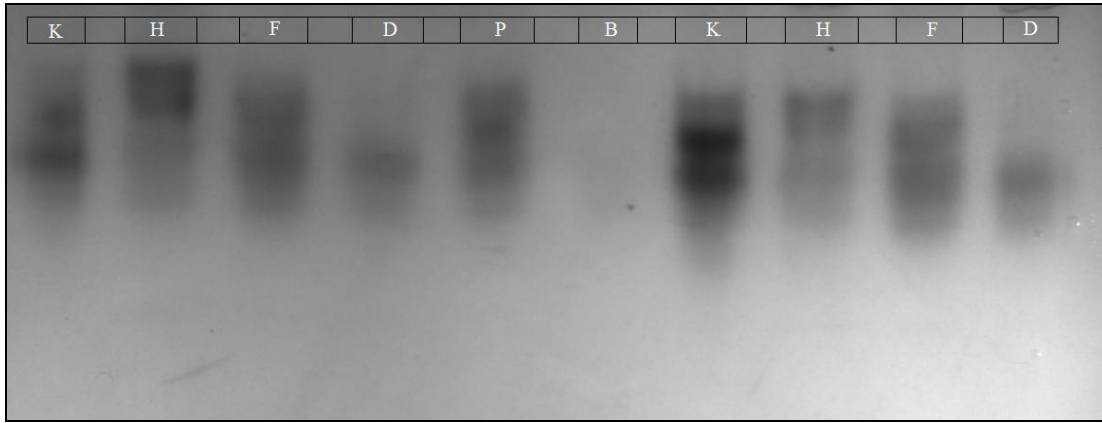
Fasulye, hıyar, domates, biber, patlıcan ve kabak bitkileri üzerinde yetiştirilen *T.urticae* popülasyonlarının esteraz enzimi bantlarının sayısı ve yoğunluğunu konukçu bitkiye göre değişmiştir. En yoğun esteraz enzimi bantı kabak ve patlıcanda yetiştirilen *T.urticae* popülasyonlarında belirlenmiştir. Kabak ve patlıcan üzerinde yetiştirilen popülasyonlardan sonra ise esteraz enzim fasulye ve hıyar bitkisi üzerinde yetiştirilen popülasyonlarda bulunmuştur. En az esteraz enzimi bant yoğunluğu ise biber ve hıyarda üzerinde yetiştirilen *T.urticae* popülasyonlarında belirlenmiştir. Ay and Gürkan (2005), pamuk üzerinden topladıkları dicofol ve bromopropylate dirençli *T.urticae* popülasyonlarının elektrofretik olarak incelenmesi sonucunda Est-4 bantı bulmuşlardır. Ay and Kara (2011), fasulye bitkisi

üzerinde yetiştirilen 105.27 kat klofentezine dirençli *T. urticae* popülasyonunun esteraz bant yoğunluğunun fazla olduğunu belirlemişlerdir.

Tablo 1. Fasulye, hıyar, domates, biber, patlıcan ve kabak bitkileri üzerinde yetiştirilen *Tetranychus urticae* popülasyonlarının esteraz enzim aktiviteleri

Konukçu Bitki	N*	mOD ⁻¹ min ⁻¹ mg protein
Kabak	4	13.53 A
Patlıcan	3	12.77 A
Fasulye	4	10.08 B
Domates	4	7.68 C
Hıyar	3	7.31 C
Biber	4	5.83 D

*N: denemede kullanılan birey sayısı



Şekil 1. Fasulye, hıyar, domates, biber, patlıcan ve kabak bitkileri üzerinde yetiştirilen *Tetranychus urticae* popülasyonlarının PAGE elektroforez bant sistemleri (H: Hıyar, P: Patlıcan, K: Kabak, F: Fasulye, D: Domates, B: Biber)

Glutathion-S-transferaz Enzim Aktivitesi

Fasulye, hıyar, domates, biber, patlıcan ve kabak bitkileri üzerinde yetiştirilen *T. urticae* popülasyonlarının esteraz enzimleri kinetik olarak belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 2'de verilmiştir. En yüksek GST enzim seviyesi 3.68 mOD⁻¹min⁻¹mg protein değeri ile kabak bitkisi üzerinde yetiştirilen *T. urticae* popülasyonunda belirlenmiş ve istatistiki olarak farklı bir grubu oluşturmuştur ($p < 0.01$). Patlıcan ve hıyar bitkileri üzerinde yetiştirilen *T. urticae* popülasyonlarında belirlenen GST enzim seviyeleri birbirlerine benzer bulunmuş ve istatistiki olarak aynı grup içerisinde yer almıştır. Fasulye ve domates bitkileri üzerinde yetiştirilen *T. urticae* popülasyonlarında belirlenen GST enzim seviyesi de istatistiki olarak diğer gruplardan farklı bir grubu oluşturmuşlardır ($p < 0.01$). En düşük GST enzim seviyesi 1.36 mOD⁻¹min⁻¹mg protein değeri biber bitkisi üzerinde yetiştirilen *T. urticae* popülasyonunda belirlenmiş ve farklı bir istatistik grup ile ifade edilmiştir.

Vontas et al. (2000), glutathione (GSH) ve 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) substratları kullanılarak belirlenen böceklerdeki GST enzim aktivitesinin böcek direncinde rol oynayabileceği bulmuşlardır. Yang et al. (2002), fasulye üzerinde yetiştirilen ve bifenthrin ile selekte edilen *T. urticae* popülasyonunda esteraz seviyesinde artış belirlerken, GST aktivitesinin azaldığını bulmuştur. Stumpf and Nauen (2002), abamectin dirençli *T. urticae* popülasyonunda 1.6 kat esteraz ve 1.6 kat GST enzim aktivitesi belirlemişlerdir. Lin et al. (2009), börülce üzerinden topladıkları ve seleksiyon sonucu 8.7 kat abamectin dirençli *Tetranychus cinnabarinus* (Boiduval) (Acari:Tetranychidae) popülasyonunda 2.7 kat esteraz ve 3.4 kat GST enzim aktivitesi belirlemişlerdir. Niu et al. (2011), turunçgil bahçelerinden toplanan azocyclotin dirençli *Panonychus citri* (Acari:Tetranychidae) popülasyonlarında yüksek GST enzim aktivitesi belirlemişlerdir. Tirello et al. (2012) gül üzerinden topladıkları fenpyroximate ve tebufenpyrad dirençli *T. urticae*'de hassas popülasyona göre esteraz ve GST enzimlerini yüksek bulmuşlardır.

Tablo 2. Fasulye, hıyar, domates, biber, patlıcan ve kabak bitkileri üzerinde yetiştirilen *Tetranychus urticae* popülasyonlarının GST enzim aktiviteleri

Konukçu Bitki	N*	mOD ⁻¹ min ⁻¹ mg protein
Kabak	4	3.68 A
Patlıcan	4	2.95 B
Hıyar	4	2.70 B
Fasulye	4	2.23 C
Domates	4	2.04 C
Biber	4	1.36 D

*N: denemede kullanılan birey sayısı

SONUÇ

Sonuç olarak, esteraz ve GST enzim yoğunluğu kabakta beslenen *Tetranychus urticae* popülasyonunda en yüksek, biberde beslenen *T.urticae* popülasyonunda ise en düşük bulunmuştur. Farklı konukçu bitkiler üzerinde yetiştirilen *T.urticae*'nin esteraz ve GST enzim miktarları arasında farklılık belirlenmiştir. Önemli bir zararlı akar türü olan *T.urticae*'de pestisitlere karşı gelişen dirençte rol oynayan detoksifikasyon enzimlerinin belirlenmesine yönelik çalışma sayısı oldukça fazladır. Ancak *T.urticae*'de pestisit direnç gelişimi olmaksızın konukçu bitki farklılığının detoksifikasyon enzim miktarları üzerindeki etkilerini belirlemeye yönelik çalışma bulunmamaktadır. Fizyolojik direncin oluşmasında etkili olan esteraz ve GST enziminin farklı konukçu bitkiler üzerinde yetiştirilen *T.urticae* popülasyonlarında farklı bulunması nedeniyle pestisitlere karşı direnç gelişiminde konukçu bitkinin önemli olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ay, R., Gürkan, M.O. (2005). Resistance to bifenthrin and resistance mechanisms of different strains of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) from Turkey. *Phytoparasitica* 33: 237-244.
- Ay, R., Kara, F.E. (2011). Toxicity, inheritance and biochemistry of clofentezine resistance in *Tetranychus urticae*. *Insect Science* 18(5): 503-511.
- Ay, R., Yorulmaz, S. (2009). Inheritance and detoxification enzyme levels in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) strain selected with chlorpyrifos. *Journal of Pest Science* 83: 85-93.
- Baffi, M.A., Pereira, C.D., Souza, G.R., Bonetti, A.M., Ceron C.B., Goullart, L.R. (2005). Esterase profile in a pyrethroid-resistant Brazilian strain of the cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Genetics and Molecular Biology* 28(4): 749-753.
- Goka, K., Takafuji, A. (1992). Enzyme variations among Japanese populations of the two-spotted spider mites, *Tetranychus urticae* Koch. *Applied Entomology Zoology* 27:141-150.
- Khajehali, J., Nieuwenhuysse, P., Demaeght, P., Tirry, L., Van Leeuwen, T. (2011). Acaricide resistance and resistance mechanisms in

Tetranychus urticae populations from rose greenhouses in the Netherlands. *Pest Management Science* 67: 1424-1433.

- Kim, Y.J., Lee, S.H., Lee, S.W., Ahn, Y.J. (2004). Fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): cross-resistance and biochemical resistance mechanisms. *Pest Management Science* 60(10): 1001-1006.
- Konanz, S., Nauen, R. (2004). Purification and partial characterization of a glutathione s-transferase from the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 79(2): 49-57.
- Lin, H., Chuan-hua, X., Jin-jun, W., Ming, L., Wen-cai, L., Zhi-mo, Z. (2009). Resistance selection and biochemical mechanism of resistance to two acaricides in *Tetranychus cinnabarinus* (Boiduval). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 93: 47-52.
- Moghadama, M.M., Ghadamyaria, M., Talebi, K. (2012). Resistance mechanisms to fenazaquin in Iranian populations of two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *International Journal of Acarology* 38(2): 138-145.
- Niu, J.Z., Liu, G.Y., Wei Dou, W., Wang, J.J. (2011). Susceptibility and activity of glutathione s-transferases in nine field populations of *Panonychus citri* (Acari: Tetranychidae) to pyridaben and azocyclotin. *Florida Entomologist* 94(2): 321-329.
- Öncüer, C. (2004). Tarımsal zararlılarla savaş yöntemleri ve ilaçları. Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları, No: 19, 424s. Aydın.
- Oppenoorth, F.J., (1984). Biochemistry of insecticide resistance. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 22: 187-193.
- Rauch, N., Nauen, R. (2003). Spirodiclofen resistance risk assessment in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): a biochemical approach. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 74: 91-101.
- Rosenthal, G.A., Berenbaum, M.R. (1991). Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites. Vol. 2, Ecological and Evolutionary Processes. London: Academic Press.
- Sabelis, M.W., Janssen, A., Pallini, A., Venzon, M., Bruin, J., Drukker, B., Scutareanu, P. (1999). Behavioral responses of predatory and herbivorous arthropods to induced plant

- volatiles: from evolutionary ecology to agricultural implications. In AA Agrawal, S Tuzun, E Bent, eds, *Induced Plant Defenses Against Pathogens and Herbivores*. American Phytopathological Society Press, St. Paul, pp 269–296.
- Scott, J.G. (1999). Cytochromes P450 and insecticide resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 29: 757-777.
- Stumpf, N., Nauen, R. (2002). Biochemical markers linked to abamectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 72: 111-121.
- Stumpf, N., Nauen, R. (2001). Cross-Resistance, inheritance and biochemistry of mitochondrial electron transport inhibitor-acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology* 94(6): 1577-1583.
- Tirello, P., Pozzebon, A., Cassanelli, S., Van Leeuwen, T., Duso, C. (2012). Resistance to acaricides in Italian strains of *Tetranychus urticae*: toxicological and enzymatic assays. *Experimental and Applied Acarology* 57(1): 53-64.
- Tsagkarakou, A., Navajas, M., Rousset, F., Pasteur, N. (1999). Genetic differentiation in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) from greenhouses in France. *Experimental and Applied Acarology* 23: 365-378.
- Van Den Boom, C.E.M., Van Beek, T.A., Posthumus, M.A., Groot, A.D., Dicke, M. (2004). Qualitative and quantitative variation among volatile profiles induced by *Tetranychus urticae* feeding on plants from various families. *Journal of Chemical Ecology* 30(1): 69-89.
- Van Leeuwen, T., Tirry, L. (2007). Esterase-mediated bifenthrin resistance in a multiresistant strain of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Pest Management Science* 63:150-156.
- Van Leeuwen, T., Pottelberge, S.V., Tirry, L. (2005). Comparative acaricide susceptibility and detoxifying enzyme activities in field-collected resistant and susceptible strains of *Tetranychus urticae*. *Pest Management Science* 61: 499-507.
- Van Leeuwen, T.V., Tirry, L., Nauen, R. (2006). Complete maternal inheritance of bifenazate resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) and its implications in mode of action considerations. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 36: 869-877.
- Vontas, J.G., Enayati, A.A., Small, G.J., Hemingway, J. (2000). A simple biochemical assay for glutathione s-transferase activity and its possible field application for screening glutathione-s-transferase-based insecticide resistance. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 68: 184-192.
- Winer, B.J., Brown, D.R., Michels, K.M. (1991). *Statistical Principles In Experimental Design*, New York 552 pp.
- Yang, X., Buschman, L.L., Zhu, K.Y., Margolies, D.C. (2002). Susceptibility and detoxifying enzyme activity in two spider mite species (Acari: Tetranychidae) after selection with three insecticides. *Journal of Economic Entomology* 95(2): 399-406.
- Yu, S.J. (2008). *The Toxicology and Biochemistry of Insecticides*. CRC Press Taylor-Francis Group, 250 pp.
-