T.C

SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AVCI AKAR *Phytoseiulus persimilis*' DE ETOXAZOLE DİRENÇ GELİŞİMİ, DİRENÇ KALITIMI, ÇOKLU DİRENÇ, GLUTATHIONE S-TRANSFERAZ (GST) VE ESTERAZ ENZİMLERİNİN İNCELENMESİ

Fatma AYDINLI

Danışman
Prof.Dr. Recep AY

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
ISPARTA-2015

© 2015 [Fatma AYDINLI]

TEZ ONAYI

Fatma AYDINLI tarafından hazırlanan **"Avcı Akar *Phytoseiulus persimilis*' de Etoxazole Direnç Gelişimi, Direnç Kalıtımı, Çoklu Direnç, Glutathione S-Transferaz (GST) ve Esteraz Enzimlerinin İncelenmesi"** adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Bitki Koruma Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman	**Prof. Dr. Recep AY** Süleyman Demirel Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	**Prof. Dr. Bülent YAŞAR** Süleyman Demirel Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	**Yrd. Doç. Dr. Özgür SAĞLAM** Namık Kemal Üniversitesi	.....

Enstitü Müdürü **Prof. Dr. Ahmet ŞAHİNER** .....

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Fatma AYDINLI

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER i
ÖZET ii
ABSTRACT iii
TEŞEKKÜR iv
ŞEKİLLER DİZİNİ v
ÇİZELGELER DİZİNİ vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ vii
1. GİRİŞ 1
2. LİTERATÜR ÖZETİ 4
3. MATERYAL ve YÖNTEM 8
3.1. Denemelerde Kullanılan İlaçlar 8
3.2. *Phytoseiulus persimilis*'in Yetiştirilmesi 9
3.3. Biossay Çalışmalar 9
3.3.1. Sinerjist + ilaç çalışmaları 10
3.3.2. Çoklu direnç çalışmaları 11
3.3.3. Direnç kalıtım çalışmaları 12
3.4. Biyokimyasal Çalışmalar 13
3.4.1. Elektroforez 13
3.4.2. Esteraz ve gluthathion-S-transferaz enzim aktivitelerinin belirlenmesi 13
4. BULGULAR 15
4.1. Biyoassay Sonuçları 15
4.1.1. Seleksiyon sonuçları 15
4.1.2. Sinerjist + akarisit sonuçları 16
4.1.3. Çoklu direnç sonuçları 18
4.1.4. Direnç kalıtım sonuçları 20
4.2. Biyokimyasal Sonuçları 22
4.2.1. Poliakrilamid jel elektroforezi ile esteraz izozimlerinin incelenmesi 22
4.2.2. Esteraz ve GST enzim aktivitesi sonuçları 23
5. TARTIŞMA ve SONUÇ 24
KAYNAKLAR 30
ÖZGEÇMİŞ 36

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

AVCI AKAR *Phytoseiulus persimilis*' DE ETOXAZOLE DİRENÇ GELİŞİMİ, DİRENÇ KALITIMI, ÇOKLU DİRENÇ, GLUTATHİONE S-TRANSFERAZ (GST) VE ESTERAZ ENZİMLERİNİN İNCELENMESİ

Fatma AYDINLI

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Recep AY

Hassas *Phytoseiulus persimilis* (Acarina: Phytoseiidae) popülâsyonunda laboratuvar ortamında seleksiyon yapılarak etoxazole direnç mekanizmaları biyoassay ve biyokimyasal yöntemlerle incelenmiştir. Hassas *Phytoseiulus persimilis* popülâsyonunda ilaçlama kulesi kullanılarak yaprak disk metoduyla LC50 ve LC_{60} değerleri belirlenmiştir. Hassas popülâsyon etoxazole ile 6 kez seleksiyon yapılarak 111.63 kat direnç kazandırılmış ve bu popülâsyon ETO6 olarak adlandırılmıştır. ETO6 popülâsyonlarında etoxazole ile Piperonyl butoxide (PBO), S-Benzyl-O,O-Diisopropyl Phosphorothioate (IBP) ve Diethylmaleate (DEM) sinerjistleri ile yapılan çalışma sonucunda sırasıyla 3.17, 2.85, 3.60 kat sinerjistik etki oranları belirlenmiştir. ETO6 popülâsyonunun deltamethrin, spiromesifen, acetamiprid, indoxacarb, milbemectin, chlorantraniliprole, spinosad, azadiractin, bifentrin ve abamectin'e karşı sırasıyla, 10.33, 8.30, 5.80, 5.67, 5.07, 5.00, 4.72, 8.19, 5.24 ve 3.39 kat çoklu direnç belirlenmişrir. ETO6 popülâsyonlarında direncin poligenik özellikte olduğu belirlenmiştir. ETO6 popülâsyonunun esteraz enzimi elektroforetik yöntemde ile incelenmesinde bant yoğunluğunun hassas popülâsyona göre arttığı belirlenmiştir. Kinetik enzim okumalarında ise ETO6 popülâsyonunda 2.71 kat esteraz ve 3.09 kat GST enzim aktivitesi belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Phytoseiulus persimilis*, etoxazole, direnç, kalıtım, çoklu direnç, detoksifikasyon, enzim

2015, 37 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

INVESTIGATION OF ETOXAZOLE TO RESISTANCE DEVELOPMENT, INHERITANCE OF RESISTANCE, MULTIPLE RESISTANCE, GLUTATHIONE S-TRANSFERAZ (GST) and ESTERAZ ENZYMES FROM *Phytoseiulus persimilis* PREDATOR MITE

Fatma AYDINLI

Süleyman Demirel University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Plant Protection

Supervisor: Prof.Dr. Recep AY

Susceptible *Phytoseiulus persimilis* population was exposed to selection in a laboratory conditions and their resistance ratios to etoxazole were calculated. LC_{50} and LC_{60} values of *Phytoseiulus persimilis* populations were determined by a spray tower with the leaf disk method. The population which increased resistance ratio of 111.63 fold the after 6 selections with etoxazole was named ETO6. At the end of the study conducted by Piperonyl butoxide (PBO), S-Benzyl-O,O-Diisopropyl Phosphorothioate (IBP) and Diethylmaleate (DEM) synergists, synergistic effect rates for ETO6 were determined to be 3.17, 2.85, 3.60 folds, respectively. Multi resistance results of ETO6 population to deltamethrin, spiromesifen, acetamiprid, indoxacarb, milbemectin, chlorantraniliprole, spinosad, azadiractin, bifentrin and abamectin was determined to be 10.33, 8.30, 5.80, 5.67, 5.07, 5.00, 4.72, 8.19, 5.24 and 3.39 folds, respectively. Resistances of ETO6 populations to etoxazole were determined to be polygenic. When the electrophoretic method was used, band densities of the esterase enzymes of ETO6 populations were determined to increase compared to the susceptible population. Enzyme activity of 2.71 fold esterase and 3.09 fold GST was determined in ETO6 population.

Key words: *Phytoseiulus persimilis,* etoxazole, inheritance, resistance, multiple resistance, detoxification, enzyme

2015, 37 pages

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında bana yol gösteren, çalışmalarımın yürütülmesinde bilgi ve deneyimleri ile beni yönlendiren ve hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, hayat boyu kendisini örnek alacağım, değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Recep AY'a,

Tezimle ilgili konularda sıkıntıya düştüğüm zamanlarda, her zaman beni dinleyen ve zorlukları aşmam için bana her türlü desteklerini sunan Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Ana Bilim Dalı Dr. Sibel YORULMAZ SALMAN'a

Tezin yürütülmesi ile ilgili çalışmalarımda her zaman yanımda olan arkadaşlarım Ziraat Mühendisi Elif SARITAŞ ve N. Sena ÇAĞATAY'a,

Tezimin yürütülmesinde katkılarından dolayı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TOVAG-113O184) ve Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (4015-YL1-14)'ne teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca her zaman maddi manevi yardımlarını esirgemeyen hayat arkadaşım Melih AYDINLI'ya, gelmiş olduğum bu noktaya kadar bana her zaman destek olan babam Recep YAVAŞ'a ve sonsuz sevgisi ile her zaman yanımda olan annem Ayşe YAVAŞ'a
Teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Fatma AYDINLI
ISPARTA, 2015

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. *Phytoseiulus persimilis* popülâsyonlarının üretimi yapılan iklim kabini. 9
Şekil 4.1. ETO6 ve hassas *Phytoseiulus persimilis* populâsyonlarının esteraz izozimlerinin PAGE elektroforez bant sistemleri (A: hassas, B: ETO6) 22

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Hassas ve seleksiyon popülâsyonlarının etoxazole karşı belirlenen $LC_{50,60}$ değerleri ve direnç oranları 16
Çizelge 4.2. ETO6 popülâsyonunda etoxazole ve etoxazole+sinerjistlerin LC_{50} değerleri ve sinerjist etki oranları 18
Çizelge 4.3. ETO6 popülâsyonunun diğer pestisitlere karşı oluşturduğu LC_{50} değerleri ve çoklu direnç oranları 19
Çizelge 4.4. Hassas, ETO6 ve resiprokal F1 popülâsyonlarının etoxazole karşı belirlenen LC_{50} değerleri, direnç oranları ve dominantlık dereceleri. 20
Çizelge 4.5. ETO6 popülâsyonu ile yapılan RSR çaprazlamasında gözlenen ve beklenen ölüm oranları, kikare ve tek gen hipotezini belirlemek için kullanılan p değerleri 21
Çizelge 4.6. Hassas ve ETO6 populâsyonlarında esteraz ve GST enzim aktiviteleri ($P< 0.05$) 23

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AChE: Asetilkolinesteraz
C: Beklenen ölüm oranları
CDNB: 1-chloro-2,4-dinitrobenzene
D: Direnç kalıtımı
DEM: Diethylmaleate
F1: Dirençli ve hassas bireylerin çaprazlanmasıyla elde edilen bireyler
F2: Geriye çaprazlamayla elde edilen bireyler
GSH: Reducedglutathione
GST: Glutathion S-Transferaz
IBP: S-Benzyl-O,O-Diisopropyl Phosphorothioate
IPM: Entegre Zararlı Yönetimi
LD50: Lethal Doz 50
P450: sitokrom P450-monoksigenaz
PBO: Piperonyl butoxide
R: Dirençli genotip
S: Hassas genotip
SC: Suda eriyen konsantre
V: Hız
W: Uygulanan bir popülâsyonda dişi bireyde gözlenen ölüm oranını
X^2: Kikare

1. GİRİŞ

Acari takımı içerisinde yer alan bazı kırmızıörümcek türleri önemli zarar grubunu oluşturmakta ve mücadele yapılmadığı durumlarda önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır (Uygun vd., 1991). Fitofag akarlarla savaşımda pestisitler ilk sırada yer alsa da özellikle sera benzeri kapalı üretim alanlarında avcı akarlar mücadelede oldukça etkili olmaktadırlar. Bu avcılar içerisinde en önemli grup ise Acari takımına bağlı Phytoseiidae familyası üyeleri oluşturmaktadır (McMurtry ve Croft, 1997). *Phytoseiulus persimilis* seralarda kırmızıörümceklere karşı başarıyla kullanılan bir avcı akardır (Lenteren, 2000). *P. persimilis* Türkiye'ye ilk kez 1988 yılında Almanya'nın Hohenheim Üniversitesi'nden getirilmiş ve kitle üretimi yapılmaya başlanmıştır (Kazak ve Şekeroğlu, 1990). *P. persimilis*'in doğal popülâsyonları ise Türkiye'de ilk kez 1989-1991 yıllar arasında Hatay, Alanya ve Kalediran'da bulunmuştur (Şekeroğlu ve Kazak, 1993). Böylece önceleri yurtdışından getirtilerek üzerinde çalışmalar yapılan bu tür Türkiye'deki varlığının saptanmasından sonra kitle üretimi yapılarak kırmızıörümceklerin kontrolünde kullanılmaya başlanmıştır. Bu konuda çalışan araştırmacılardan Kılınçer vd. (1992), Öncüer vd. (1994), Kısmalı vd. (1999), Kazak vd. (2000), Kazak vd. (1992), Kazak vd. (2002) ve Çakmak vd. (2005), sera koşullarında *P. persimilis* salımları ile kırmızı örümceklerin etkili bir şekilde kontrol edebildiklerini ifade etmişlerdir.

Seralar yarı kapalı ya da kapalı ekosistemlerdir; birçok ekolojik faktörü düzenlemek seralar içerisinde mümkün olmaktadır. Bu gibi özellikler seraları entegre mücadele programlarının başarı ile uygulandığı yerler haline getirmektedir. Ancak günümüzde sera içerisinde biyolojik mücadeleleri yerleşmemiş bazı hastalık ve zararlılara karşı hala ilaç uygulamak gerekmektedir. Bu aşamada biyolojik mücadele ile kimyasal mücadeleyi bir arada kullanmayı mümkün kılabilecek çözümler aranmaktadır. Faydalı böceklere çok etkili olan ilaçların kullanılmaması ya da onları etkilemeyen selektif ilaçların tercih edilmesi bu arayışa getirilen çözümlerden biridir. Bu tip pestisitlerin kullanılması durumunda dahi av ya da konukçu bulamadığı için faydalı böcekler aç kalarak ölüm oranları artmaktadır (Hoy, 1985). Bu sebeplerden dolayı araştırmacılar alternatif metodlar üzerinde çalışmaktadırlar.

Doğa ve laboratuar koşullarında seleksiyon baskısı sonucunda bazı pestisitlere karşı direnç kazanan doğal düşmanların kullanılması alternatif metodlardan birini oluşturmaktadır. Bu yöntemle biyolojik mücadele ile kimyasal mücadeleyi bir arada kullanma imkanını ve entegre mücadele başarısını arttırmış olacaktır. Seleksiyonda amaç, popülâsyonda var olan fakat diğer biyolojik özelliklerinden dolayı diğer bireyler ile rekabet edemeyen, bu nedenle popülâsyonu az oranda temsil eden dirençli bireylerin seçilmesidir. Bu yöntemle fungisitlere, insektisitlere, herbisitlere, akarisitlere dirençli popülâsyonlar elde edilerek, faydalı böceklerin tarımsal mücadele ilaçlarının uygulanmasından etkilenmeksizin ya da en az etkilenmeleri sağlanarak biyolojik mücadeledeki başarısını sürdürmesini sağlamak amaçlanmaktadır.

Phytoseiidae familyası içerisinde yer alan avcı akarlar üzerinde dünyada 1960-1980 yılları arasında bazı pestisitlere karşı tarla koşullarında oluşan direnç üzerine araştırma yapılmaya başlanmıştır. Çalışmaların başlangıcında bahçe, tarla, sera ve bağ alanlarında bazı zararlılara uygulanan pestisitlere karşı kendiliğinden oluşan seleksiyon sonucu bazı doğal düşmanların pestisitlere direnç kazandığı belirlenmiştir (Denholm vd., 1992). Özellikle *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt) (Acari: Phytoseiidae)'in tarla koşullarında bazı pestisitlere karşı geliştirdiği direncin belirlenmesi bu tür çalışmalara hız kazandırmıştır (Hoy ve Knop, 1981). Daha sonraki yıllarda ise yapılan çalışmalarda özellikle predatör akarların laboratuar koşullarında seleksiyon sonucu bazı pestisitlere direnç geliştirebildiği görülmüştür (Sato vd., 2000; Auger vd., 2005). Özellikle sera gibi kapalı üretim alanlarında pestisitlerin yoğun kullanımı zararlı türlerde direnç gelişimine neden olurken faydalı türlere de olumsuz yan etkileri olmaktadır. Bunun yanı sıra zaman zaman faydalı türlerinde ilaçlara direnç geliştirdiği bilinmektedir. Bazı pestisitlere karşı direnç geliştiren doğal düşmanların entegre mücadele programları içerisinde kullanılabilecekleri belirtilmektedir. IPM'in bir bölümünü oluşturan pestisit direnç yönetim programlarında zararlı türlerde direnç gelişimi istenmezken; doğal düşmanların pestisitlere karşı dayanıklı olmaları istenmektedir (Sato vd., 2000). Entegre mücadele çalışmalarında amaç doğadaki biyolojik dengeyi sağlayarak kültür bitkilerine zarar veren böcekleri ekonomik zarar eşiği altında tutmaktır. Ancak günümüzde zararlılara karşı kullanılan kimyasallar zararlıların yanı sıra doğal düşmanları da etkilemektedir. Bu amaçla tarımsal alanlarda kullanılan pestisitlerin doğal düşmanlar üzerinde etkilerinin belirlenmesi son derece önem taşımaktadır.

Bu çalışmada fitofag akarların etkili bir avcısı olan avcı akar *P. persimilis*'de etoxazole ile selekte edilerek direnç geliştirip geliştirmediği incelenmiştir. Dirençli hale gelen avcı akar *P. persimilis*'de etoxazole ile bazı sinerjistlerin ilişkisi ve bazı detoksifikasyon enzim düzeyleri belirlenmiştir. Ayrıca dirençli hale getirilen populasyonlarda seçilen bazı ilaçlara karşı çoklu direnç geliştirip geliştirmediği araştırılmıştır. Bu tip çalışmalar birçok fitofag böcek ve akarlarla yapılmış olmasına rağmen faydalılarla sınırlı düzeyde araştırma yapılmıştır. Tezin konusunu oluşturan *P. persimilis*'de direnç gelişimi ve direnç mekanizmalarının belirlenmesi konusunda ülkemizde yapılmış çalışma yoktur. Dünyada ise bu türün ilaçlara duyarlılığı konusunda yapılmış çalışma oldukça sınırlıdır. Bu nedenle bu çalışma bir model çalışma şeklinde düşünülmektedir. *P. persimilis* ile ilgili çalışmaların önemli bir çoğunluğu ilk defa yapılmıştır ve ileride yapılacak olan çalışmalara altyapı hazırlayacaktır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Ülkemizde ve dünyada pestisitlerin *P. persimilis, Neoseiulus californicus* ve diğer avcı akarlar üzerindeki yan etkilerini belirlemeye yönelik yapılan çalışma sayısı oldukça fazladır. Ancak ülkemizde *P. persimilis'*in pestisitlere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi üzerine yapılan çalışmalar bulunmamaktadır. Dünyada ise Phytoseeidae familyası içerisinde yer alan avcı akarların pestisitlere karşı duyarlılık çalışmaları 30 yıl önce hızlı bir şekilde yürütülmüştür. Ancak günümüze doğru bu çalışmalar yavaşlamış ve çalışma sayısı oldukça azalmıştır. Hoyt (1969), *Metaseiulus occidentalis* (Acari: Phytoseiidae)'in bazı organik fosfatlı bileşiklere karşı doğal olarak direnç geliştirdiğini bildirmiştir. Croft vd. (1976), 75 kat azinphosmethyl ve 120 kat diazinon dirençli *Amblyseius fallacis* (Garman) (Acari: Phytoseiidae) popülâsyonunda parathion ve dimethoate karşı yüksek seviyede; azinphosethyl, malathion, phosmet, methyl parathion, fenitrothion, fenthion, demeton ve phosphamidon'a karşı orta seviyede ve carbophenothion, phosalone, ethion'a karşı az seviyede çoklu direnç geliştirdiğini belirlemişlerdir. Hassas ve dirençli bireyler arasında yapılan çaprazlamalar sonucunda direncin dominant olduğu ve tek bir genle kontrol edildiği bulunmuştur. Schulten ve Van de Klashortst (1979), 100 kat parathion ve 30 kat demeton-S-methyl dirençli *P. persimilis*'de direncin tamamen dominant bir genden kaynaklandığını belirlemişlerdir. Schulten vd. (1976), *P. persimilis*'de organik fosfatlı bileşiklere karşı 2-292 kat arasında değişen çapraz direnç bulmuşlardır. Hoy ve Knop (1981), laboratuar koşullarında seleksiyon baskısı sonucu permethrin dirençli *M. occidentalis*'de direncin poligenik olduğunu bulmuşlardır. Roush ve Hoy (1981a), *M. occidentalis*'in laboratuar koşullarında seleksiyon baskısı sonucunda methomyl ve dimethoat'a karşı direnç geliştirdiğini belirlemişlerdir. Roush ve Hoy (1981b), carbaryl ve bazı organik fosforlulara dirençli *M. occidentalis* ırkını California'da badem ağaçlarına salarak onların carbaryl uygulamalarını atlatarak kırmızıörümcek popülâsyonlarını baskı altına aldıklarını belirlemişlerdir. Whalon vd. (1982), permethrin'e dirençli *Amblyseius fallacis* (Acari: Phytoseiidae) ırkını Michigan'da elma bahçelerine salındıktan sonra başarı ile yerleşmiş olduğunu ve kışlayabildiğini bildirmişlerdir. Avella vd. (1985), *P. persimilis*'de laboratuar koşullarında deltamethrin ile yedi kez seleksiyon sonucunda 10 kat direnç geliştiğini belirlemişlerdir. Markwick (1986), *Typhlodromus pyri* Scheuten (Acari: Phytoseiidae) ve *P. persimilis*'de cypermethrin ile seleksiyon sonucunda; ilk türde altı seleksiyon

sonucunda 10 kat direnç geliştiğini ikinci türde ise direnç gelişimine 12 aylık seleksiyon sonucunda ulaşılabildiğini bildirmişlerdir. Fournier vd. (1987), yaptıkları çalışmada, methidathion dirençli ve hassas *P. persimilis* popülâsyonlarında substrat olarak chlorodinitrobenzene kullanarak GST enzim aktivitesini belirlemişlerdir. Ayrıca dirençli ve hassas popülâsyonlarda esteraz, monoksigenaz ve asetilkolinesteraz enzimlerinin de methidathion direnci üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak, methidathion dirençli *P. persimilis*'de methidathion direnci üzerinde yalnızca GST enziminin etkili olduğunu bulmuşlardır. Anber ve Overmeer (1988), *Amblyseius potentillae* (Garman) (Acari: Phytoseiidae)'nin S ve A ırklarında substrat olarak acetylthiocholine kullanarak 0.71 ve 0.35 asetilkolinesteraz enzimi belirlemişlerdir. Ayrıca A ırkında 781 kat propoxur, 311 kat paraoxon, 61 kat tetrachlorvinphos, 21 kat omethoate ve 19 kat azinphos-methy direnci bulunmuştur. Thistlewood vd. (1992), yaptıkları çalışmada avcı akar *Amblyseius fallacies* (Garman) un iki farklı popülâsyonunda (P8 ve GBI) permethrin toksisitesini daldırma ve petri kabı yöntemlerini kullanarak araştırmışlardır. Daldırma yöntemine göre P8 ve GBI popülâsyonlarında LC_{50} değerleri 5.5 ve 46.6 ppm olarak bulunmuştur. Daldırma yöntemine göre her iki popülâsyonda da doz-ölüm regresyon eğrisi benzer eğimlerle linear olarak bulunmuştur. Petri kabı metoduna göre ise P8 popülâsyonunu LC_{50} değeri 2.8 ppm doz-ölüm regresyon eğrisi linear olarak belirlenmiştir. Ancak GBI popülâsyonunda LC_{50} değeri 12.7 ppm ve popülâsyonun % 66'sının hassas % 33'ünün ise dirençli bireylerden oluştuğu bulunmuştur. Kostiainen ve Hoy (1995), laboratuar koşullarında seleksiyon sonucu elde ettikleri azinphosmethyl dirençli, başlangıç, hassas ve F1 *Amblyseius finlandicus* Oud. (Acari: Phytoseiidae) popülâsyonlarında azinphosmethy'nin ovipozisyon sürelerini kısalttığını belirlemişlerdir. Ayrıca dirençli ve başlangıç popülâsyonlarında gelişme süreleri, ovipozisyon süreleri, eşey oranları arasında fark bulunmadığını ve azinphosmethyl direncinin tam dominant olduğunu belirlemişlerdir. Fitzgerald ve Solomon (2000), yaptıkları çalışmada, orgonofosfor dirençli ve hassas *Typhlodromus pyri* popülâsyonlarında preovipozisyon sürelerinin farklı olduğunu, ovipozisyon ve postovipozisyon süreleri arasında ise fark olmadığını belirlemişlerdir. Dirençli popülâsyonda bırakılan yumurta sayısının hassas popülâsyona göre arttığını, her iki popülâsyonda da dişi bireyin ömür uzunluğunun erkek bireylere göre 0.8 gün kısaldığını bulunmuştur. Sato vd. (2000), *Amblyseius womersleyi* Schicha (Acari: Phytoseiidae)'yi methidathion ile laboratuvarda 4 kez seleksiyon sonrası 311 kat dirençli popülâsyon elde etmişlerdir. Methidathion dirençli

popülâsyonda acephate ve malathion'a karşı sırasıyla 20.4 ve 13.1 kat çoklu direnç belirlenmiştir. Sato vd. (2001), *A. womersleyi'*de methidathion direnç mekanizmasını incelemişler ve monooksigenaz inhibitörleri olan piperonyl butoxide ve 2-propynyl 2,3,6-trichlorophenyl'in dirençli ırkta yüksek derecede sinerjistik etki gösterdiğini ve oksidatif metabolizmasının arttığını ortaya koymuşlardır. Auger vd. (2005), yaptıkları çalışmada, mancozeb ile 10 kere seleksiyon yaptıkları *Typhlodromus pyri* popülâsyonunda hassas popülâsyona göre direncin 73 kat arttığını ve mancozeb direncinin dominant olmayan bir genle taşındığını belirlemişlerdir. Irigaray ve Zalom (2006), laboratuvar koşullarında beş akarisitin (etoxazole, spiromesifen, fenpyroximate, bifenazate, aceguinocly) predatör akar *Galendromus occidentalis* üzerine etkisini araştırmışlardır. Fenpyroximate uygulamasının ergin dişi ömür uzunluğunu azalttığını ve 24 saatten önce ölüm görüldüğünü, spiromesifen ve acequinocly uygulamalarında ergin dişi ömür uzunluğunun 4 gün azaldığını ve buna bağlı olarak üreme ve doğurganlık oranında azalma görüldüğünü, etoxazole ve bifenazate uygulamalarının dişi ömür uzunluğunu azaltmadığını, fakat bu dişilerin döl vermediklerini belirlemişlerdir. Sato vd. (2006) methidathion dirençli ve hassas *Amblyseius womersleyi* popülâsyonlarında sitokrom P450-monoksigenaz enzim aktivitesini araştırdıkları çalışmada, dirençli popülâsyonda hassas popülâsyona göre enzim aktivitesinde artış bulmuşlardır. Barbar vd. (2007), Güney Fransa'da bağ alanlarından topladıkları *Typhlodromus exhilaratus* Ragusa ve *T. phialatus* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) popülâsyonlarının pestisitlere karşı hassasiyetlerini incelmişlerdir. *T. exhilaratus* fungisit, dimethomorph + mancozeb'e karşı 1.37, chlorpyrifos-ethyl'e karşı 19.77 kat dirençli bulunurken buna karşın *Typhlodromus phialatus* her iki ilaca karşıda dirençli bulunmuştur. Bonafos vd. (2007), bağ alanlarından topladıkları *T. pyri* ve *A. andersoni* (Chant) popülâsyonlarının deltamethrin, lamda-cyhalothrin ve chlorpyrifos-ethly'e karşı orta düzeyden yüksek düzeye kadar değişen oranlarda dirençli olduğunu belirlemişlerdir. Sato vd. (2007), methidathion dirençli *A. womersleyi*'de cytochrome P450 genini incelemişlerdir. *A. womersleyi*'nin farkı popülâsyonlarında ve farklı hayat dönemlerinde CYP4-d geni ile monoksigenaz aktivitesi arasında önemli derecede korelasyon bulmuşlardır. Bonofos vd. (2008), Fransa'da bağ alanlarından topladıkları 13 *T. pyri* popülâsyonunda laboratuvar koşullarında deltametrin ve chlorpyrifos'a karşı hassasiyetin azaldığını bulmuşlardır. Ayrıca *T. pyri* popülâsyonlarındaki duyarlılık azalmasının önemli olduğunu ve deltamethrin ve chlorpyrifo-ethyl arasında çapraz direnç olmadığını

bildirmişlerdir. Hamedi vd. (2010), yaptıkları çalışmada laboratuar koşullarında fenpyroximate'nin *T. urticae*'nin etkili bir predatörü olan *Phytoseiulus plumifer* (Acari: Phytoseiidae)'in dişileri üzerine olan sublethal etkilerini araştırmışlardır. Fenpyroximate'nin sublethal konsantrasyonlarının avcı akar dişilerinin ömür uzunluğu ve doğurganlık oranlarını etkiledikleri belirlenmiştir. Aynı zamanda fenpyroximate sublethal konsantrasyonunun avcı akarın üreme ve hayat tablosu parametrelerini de etkilediğini belirlemişlerdir. Mugo vd. (2011), laboratuar koşullarında yaptıkları biyoassay denemelerde kahve üretim alanlarından toplanılan avcı akar *Euseius kenyae* (Acari: Phytoseiidae)'nin farklı popülâsyonlarında 10 kat chlorpyrifos direnci belirlemişlerdir. Tirello vd. (2012), yaptıkları çalışmada bağ alanları ve elma bahçelerinden toplanan dört adet *Kampimodromus aberrans* (Oudemans) (Acari: Phytoseiidae) popülâsyonlarında chlorpyrifos direncini araştırmışlardır. Bağ alanları ve elma bahçelerinden toplanan dört faklı *K. aberrans* popülâsyonlarında 1.85-6.83 arasında değişen katlarda chlorpyrifos direnci belirlenmiştir. Yorulmaz ve Ay (2012), elma bahçelerinden toplanan sekiz adet *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) popülâsyonlarında spiromesifen'e karşı 4.35-7.61 kat, hexythiazox karşı 3.75-8.01 kat ve spirodiclofen'e karşı 5.07-8.60 kat arasında değişen oranlarda direnç belirlemişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada, Esteraz, glutathion S-transferaz (GST) ve asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktiviteleri sırasıyla 7.748-10.211; 1.23-1.74 ve 0.010-0.045 mOD/min/mg protein olarak belirlenmiştir. Yorulmaz Salman ve Ay (2013a) laboratuar koşullarında 13 seleksiyon sonucu 52.34 kat spiromesifen direnci geliştiren *N. californicus*'da 2.74 kat esteraz, 3.09 GST ve 2.17 kat P450 enzim aktivitesi belirlemişlerdir. Ayrıca bu popülâsyonda spiromesifen direncinin eksik baskın ve monogenik olduğunu bulmuşlardır. Yorulmaz Salman ve Ay (2013b), 64.04 kat hexythiazox dirençli *N. californicus*'da PBO, IBP ve DEM sinerjistleri ile yapılan çalışma sonucunda sırasıyla 1.71, 3.25 ve 1.98 kat sinerjistik etki belirlemişlerdir. Ayrıca aynı popülâsyonda spirodiclofen, etoxazole, spiromesifen, propargite, clofentezine ve milbectin'e karşı sırasıyla 8.12, 14.41, 17.96, 17.48, 12.67 ve 11.22 kat çoklu direnç geliştiği bulunmuştur.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Denemenin ana materyalini hassas avcı akar *P. persimilis* popülâsyonu, av olarak *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), konukçu bitki olarak fasulye (*Phaseolus vulgaris)*, insektisit ve akarisit etkili ilaçlar oluşturmuştur. Bu deneme süresince ilaçlama kulesi, elektroforez seti, mikroplaka reader, hassas terazi, soğutmalı santrifüj ve derin dondurucu gibi cihazlardan yararlanılmıştır.

3.1. Denemelerde Kullanılan İlaçlar

Seleksiyon çalışmasında etoxazole etkili maddeye sahip ilaç kullanılmıştır. Bu ilaç akarisitler içerisinde diğerleri grubunda yer almaktadır. Etkili madde beyaz renkli ve kristalimsi toz halindedir. Moleküler ağırlığı 359.41 g/mol'dur. Kontakt etkili bir akarisittir. Kırmızıörümceklerde larva ve nimf gibi ergin öncesi döneme daha etkili olmakla beraber tüm dönemlerde kullanılmaktadır. Hedef zararlıları; elmada Avrupa kırmızıörümceği, turunçgillerde ve pamukta kırmızıöürmcek, domateste ise iki noktalı kırmızıörümcektir. Bekleme süresi domateste 3, elmada 14, turunçgiller ve pamukta 21 gündür. LD_{50} değeri ağızdan 5000 mg/kg ve deriden 2000 mg/kg'dır (Anonim, 2012). Çalışmada etoxazole etkili maddeye sahip Zoom SC (110g/l, Sumitoma Chemical C.O.) kullanılmıştır.

Çoklu direnç çalışmalarında ise özellikle seralarda farklı zararlılara ve kırmızıörümceklere karşı sıkça kullanılan ilaçlar seçilmiştir. Sebzelerde yeşil kurt ve pamuk yaprak kurduna karşı ruhsatlı olan chlorantraniliprole ve indoxacarb; yine sebzelerde beyaz sinek, yeşil kurt, yaprak biti, yaprak piresi ve thripse karşı ruhsatlı olan deltamethrin; sebzede beyaz sineğe karşı ruhsatlı olan acetamiprid; sebzede thripse karşı ruhsatlı olan spinosad; ve yine kırmızıörümceklere karşı kullanılan milbemectin ve spiromesifen; sebzede kırmızıörümcek ve yaprak bitine karşı azadirachtin; yine sebzede ve pamukta kırmızıörümcek ve yaprak bitine karşı kullanılan bifenthrin ve abamectin etkili maddeye sahip ilaçlar çoklu direnç çalışmalarında kullanılmıştır.

3.2. *Phytoseiulus persimilis*'in Yetiştirilmesi

Denemelerde kullanılan *P. persimilis*' in Türkiye orijinli ve 1993 yılında (Hatay) ilinde sebze alanlarından toplanmıştır (Şekeroğlu ve Kazak, 1993). *P. persimilis* Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nden 2008 yılında temin edilmiştir ve günümüze kadar iklim odalarında herhangi bir kimyasal uygulaması yapılmaksızın yetiştirilmiştir. Bu nedenle denemelerde kullanılacak olan *P. persimilis* popülâsyonu hem hassas popülâsyon hem de seleksiyonlar için başlangıç popülâsyonu olarak kullanılmıştır. Çalışmada avcı akara besin olarak *T. urticae* ve akar üretiminde fasulye bitkisi ***(****Phaseolus vulgaris****)*** kullanılmıştır. *P. persimilis* ve *T. urticae* popülâsyonları 25±1ºC ve orantılı nemi % 60±5'a ayarlı 16-8 (aydınlık-karanlık) saat aydınlatmalı iklim odalarında fasulye bitkileri üzerinde üretilmiştir.



Şekil 3.1. *Phytoseiulus persimilis* popülâsyonlarının üretimi yapılan iklim kabini

3.3. Biossay Çalışmalar

Seleksiyon çalışmalarında Sato vd. (2000)'nin kullandıkları yöntem kullanılmıştır. Etoxazole etkili maddeye sahip akarisitlerin kırmızıörümceklerde ergin öncesi döneme etkili olması nedeniyle bioassay çalışmaların tamamında 0-24 saatlik larvalar kullanılmıştır. Aynı yaştaki bireyleri elde etmek amacıyla tabanı ıslatılmış pamukla kaplı 9 cm. çapındaki petriler üzerinde etrafı avcı akarın kaçmasını önlemek amacıyla Tangle Trap (Contech) yapışkanı ile çevrilmiş olan fasulye yaprak diskleri üzerine 15

adet ergin dişi aktarılmıştır. Yaklaşık 24 saat sonra ergin dişilerin bıraktığı yumurtalardan çıkan aynı dönemdeki avcı akar bireyleri denemelerde kullanılmıştır. Hassas ve her seleksiyon aşamasından sonra elde edilen seleksiyon popülâsyonlarının LC_{50} ve LC_{60} değerleri POLO bilgisayar paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. LC_{50} ve LC_{60} değerlerinin belirlenmesinde, Tangle Trap yapışkanı ile çevrilmiş olan fasulye yaprak diskleri üzerine aynı 0-24 saatlik 25 adet *P. persimilis* larvaları aktarılmıştır. Denemeler 1 kontrol + 7 doz, 3 tekerrür olacak şekilde kurulmuştur. Her doz için % 50 seyreltilerek hazırlanan ilaç konsantrasyonları ile petriler spray tower yardımıyla yaprak yüzeyine 1 bar basınçta 2 ml ilaç gelecek şekilde ilaçlama yapılmıştır. Ölü-canlı sayımları 7. günde yapılarak LC değerleri belirlenmiştir. Seleksiyon işlemi için, tabanı ıslatılmış pamukla kaplı 9 cm çapındaki petriler üzerinde etrafı Tangle Trap yapışkanı ile çevrilmiş olan fasulye yaprak diskleri üzerine 0-24 saatlik, 50 adet *P. persimilis* larvaları aktarılmıştır. Seleksiyon çalışmalarında popülâsyonların LC_{60} değerindeki doz seleksiyon dozu olarak kullanılmıştır. İlaç konsantrasyonu (LC_{60}) petrilere ilaçlama kulesinde 1 bar basınç altında yaprak üzerine 2 ml olacak şekilde uygulanmıştır. Petriler 26±1 ^{o}C sıcaklıkta % 60-65 nem ve 16:8 fotoperiyot koşullarında 7 gün bırakılmıştır. 7 günlük süre içerisinde *P. persimilis* bireylerinin besinsizlikten ölmelerini engellemek amacıyla petriler içerisine *T. urticae* bireyleri aktarılmıştır. Uygulamadan 7 gün sonra canlı kalan bireyler üzerinde av olarak *T. urticae* bireyleri bulunan fasulye bitkisi üzerine aktarılmıştır. LC_{60} dozu her seleksiyon popülâsyonu için yeniden belirlenerek popülâsyonlar seleksiyon baskısına maruz bırakılarak direnç kazandırılmıştır. Direnç çalışmalarında uygulanan seleksiyon çalışmaları direnç seviyesi yeterli düzeye gelene kadar devam ettirilmiştir.

3.3.1. Sinerjist + ilaç çalışmaları

Seleksiyon aşamasından sonra etoxazole karşı direnç geliştirilen *P. persimilis* popülâsyonlarında, sinerjistlerin bu akarisitler üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla monoksigenaz enzim inhibitörü piperonyl butoxide (PBO) (2000µl/l), esteraz enzim inhibitörü S-Benzyl-O,O-diisopropyl phosphorothioate (IBP) (200 µl/l) ve GST enzim inhibitörü diethylmaleate (DEM) (2000µl/l) sinerjistleri kullanılmıştır (Kim vd., 2004; Van Leeuwen vd., 2004; Stumpf ve Nauen, 2002; Kang vd., 2006). Sinerjist+acequinocly ve sinerjist+etoxazole çalışmalarında *P. persimilis*'in 0-24 saatlik larvaları kullanılmıştır. Denemeler 1 kontrol + 7 doz, 3 tekerrür olacak şekilde

kurulmuştur. Sinerjistler 1:1 oranında aseton: saf su içerisinde çözülmüştür. Hazırlanan sinerjist çözeltileri ilaçlama kulesinde tabanında ıslatılmış pamuk bulunan petriler üzerine yerleştirilen yapraklar üzerine 1 bar basınç altında 1 ml olarak püskürtülmüştür. Petriler 24 saat boyunca 26±1 ^{o}C sıcaklıkta % 60-65 nem ve 16:8 fotoperiyot koşullarında tutulmuştur. Sinerjist uygulamasından 24 saat sonra her doz için % 50 seyreltilerek hazırlanan ilaç konsantrasyonları ile petriler spray tower yardımıyla yaprak yüzeyine 2 ml ilaç gelecek şekilde ilaçlanmıştır. Ölü-canlı sayımları 7. günde yapılmıştır. Bireylerin besinsizlikten ölmelerini engellemek amacıyla her gün petri içerisine av aktarılmıştır. Kontrolde sadece sinerjist kullanılmıştır.

Sinerjistik etki oranı, Sinerjisiz LC_{50} değeri/ Sinerjili LC_{50} değeri formülü ile hesaplanmıştır (Kim vd., 2004).

3.3.2. Çoklu direnç çalışmaları

Etoxazole dirençli ve hassas *P. persimilis* popülâsyonlarında, etoxazolün 10 farklı ilaçla çoklu direnç ilişkisi belirlenmiştir. Çoklu direnç çalışmalarında chlorantraniliprole, indoxacarb, deltamethrin, acetamiprid, spinosad, milbemectin, spiromesifen, azadirachtin, bifentrin ve abamectin etkili maddeye sahip ilaçlar kullanılmıştır. Denemelerde tüm ilaçların tarla uygulama dozları dikkate alınmıştır. Denemelerde tabanı ıslatılmış pamukla kaplı 9 cm. çapındaki petriler üzerinde etrafı Tangle Trap yapışkanı ile çevrilmiş olan fasulye yaprak diskleri üzerine aynı 0-24 saatlik 25 adet *P. persimilis* larvaları aktarılmıştır. Denemeler 1 kontrol+7 doz, 3 tekerrür olacak şekilde kurulmuş ve kontrol grubuna sadece saf su uygulanmıştır. İlaç konsantrasyonu petrilere ilaçlama kulesinde 1 bar basınç altında yaprak üzerine 2 ml olacak şekilde uygulanmıştır. Petriler 26±1 ^{o}C sıcaklıkta % 60-65 nem ve 16:8 fotoperiyot koşullarında 7 gün bırakılmıştır. 7 günlük süre içerisinde *P. persimilis* bireylerinin besinsizlikten ölmelerini engellemek amacıyla petriler içerisine *T. urticae* bireyleri aktarılmıştır. Ölü-canlı sayımları 7. günde yapılmıştır. Çoklu direnç oranları dirençli popülâsyonunun LC_{50} değerinin, hassas popülâsyonun LC_{50} değerine oranlanmasıyla belirlenmiştir.

3.3.3. Direnç kalıtım çalışmaları

Direnç kalıtımını belirlemek amacıyla Auger vd. (2005) yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. Direncin dominantlığını belirlemek amacıyla etoxazol dirençli ve hassas *P. persimilis* popülâsyonları arasında resiprokal çaprazlamalar yapılmıştır. Bu amaçla tabanında ıslatılmış pamuk bulunan 9 cm'lik petriler üzerine etrafı Tangle Trap yapışkanı ile çevrilmiş olan yaprak diskler üzerine dirençli popülâsyondan 20 adet deutonimf dişi birey ve hassas popülâsyondan 30 adet ergin erkek birey ve aktarılmıştır. Ayrıca bu işlemin tam tersi yapılmıştır. Dişi ve erkek bireyler 5 gün sonra ortamdan uzaklaştırılmış ve F1 bireyleri temiz fasulye bitkileri üzerine alınarak beslenmeleri için *T. urticae* bireyleri verilmiştir. Dirençli, hassas ve F1 bireylerinin etoxazol için LC_{50} değerleri belirlenmiştir. Çaprazlamadan sonra F1 dişilerinde direncin kalıtımı, $D= (2X_2-X_1-X_3) / (X_1-X_3)$ formülü ile hesaplanmıştır (Stone, 1968). Burada, X_1 dirençli ırkın LC_{50} değerinin logaritması, X_2 F1 dişilerinin LC_{50} değerinin logaritması ve X_3 hassas ırkın LC_{50} değerinin logaritmasını göstermektedir. Bu formülden belirlenen değere göre, direnç -1 ise resesif, 0 ise hassas popülâsyon ile dirençli popülâsyonun hassasiyeti aynı ve 1 ise tam dominant olarak değerlendirilmiştir.

Direncin kalıtım şeklinin monogenik olduğu hipotezini test etmek için F1 dölü geriye çaprazlanarak gözlenen ve beklenen ölüm oranları belirlenmiştir. F2 dişilerini elde etmek amacıyla F1 dişileri ile hassas (S) ve dirençli (R) popülâsyonun erkekleri çiftleşmeye bırakılmıştır. F2 bireylerinin etoxazol için LC_{50} değerleri belirlenmiştir. F2 dişileri için teorik olarak beklenen ölüm oranları c= (0.5)W(F1 dişileri) + (0.5)W (R ırkı) formülü ile hesaplanmıştır. Burada c değeri uygulanan bir konsantrasyonda teorik olarak beklenen ölüm oranını, W değeri ise uygulanan bir popülâsyonda dişi bireyde gözlenen ölüm oranını göstermektedir (Georghiou, 1969). Bu genetik hipotez, 1 serbestlik derecesi ve x^2 tablosundan elde edilen değerlerle denemelerden elde edilen x^2 değerlerinin karşılaştırılması sonucu değerlendirilmiştir (Winer vd., 1991). Gözlenen ve beklenen ölüm oranları arasındaki fark önemli ise monogenik hipotez ret edilmiş, fark önemsiz ise monogenik hipotez kabul edilmiştir.

3.4. Biyokimyasal Çalışmalar

Esteraz enzimi aktivitesi jel elektroforez ve mikroplate reader yöntemi ile belirlenirken, glutathione S-transferaz (GST) enzimi ise sadece mikroplate reader yöntemi ile belirlenmiştir.

3.4.1. Elektroforez

Esteraz enzimi belirlemek için Goka ve Takafuji (1992), Ay ve Gürkan (2005)'ın "Mini vertical nondenaturing poliakrilamide gel elektrophoresis" yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. Acrylamide konsantrasyonu % 7.5 ve % 3.5 olmak üzere iki faklı yoğunluktan oluşmaktadır. 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. Elektroforezde koşturma işlemi 150 V de yapılmıştır. Esteraz aktivitesi için, jel % 0.02 α-naphthyl asetat ve % 1 aseton içeren fosfat buffer (0.2 M, pH 6.5) içerisinde 30 dk inkübe edilmiştir. Jel % 0.02 lik α-naphthyl 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 densiometrede fotoğrafı çekilmiştir.

3.4.2. Esteraz ve gluthathion-S-transferaz enzim aktivitelerinin belirlenmesi

Esteraz ve GST enzim aktivitelerinin belirlenmesinde Stumpf ve Nauen (2002)'in geliştirdikleri yöntem uyarlanarak kullanılmıştır. Esteraz enzim aktivitesi için, 20 adet ergin dişi % 0.1 Triton X-100 içeren 100 µl sodyum fosfat buffer (0.1M, pH 7.5) içinde plastik ezici ile homojenize edilmiştir. Bu homojenat 10.000 g ve +4 ºC'da 5 dakika santrifüj edildikten sonra 10 kez seyreltilen supernatant enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. 25 µl supernatant ve 25 µl fosfat buffer (0.2 M, pH 6) 96-well microplate hücrelerine konulmuştur. Çalışma 200 µl substrat solüsyonunun eklenmesiyle başlatılmıştır. Substrat solüsyonu 30 mg Fast blue RR tuzunun 50 ml 0.2 M sodyum fosfat buffer'da çözülmesi ve bu karışıma 500 µl 100 Mm α – naphtyl acetate'ın ilavesiyle elde edilmiştir. Esteraz enzim aktivitesi 450 nm ve 23 ºC'de 10

dakika süreyle Versamax kinetic microplate reader'da (Molecular Devices) ölçülmüştür.

GST aktivitesinin belirlenmesinde substrat olarak 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) ve reduced glutathione (GSH) kullanılmıştır. 30 ergin dişi 300 µl Tris HCL buffer (0.05M, pH 7.5) içinde eppendorf tüplerde plastik pestle kullanılarak homojenize edilmiş ve 10.000g ve +4 ºC'de 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. 100 µl supernatant, 100 µl CDNB (0.1% v/v, in ethanol) ve 100 µl GSH oluşan 300 µl toplam hacim mikroplaka hücrelerine konulmuştur. Mikroplaka hücrelerinde final konsantrasyonda 0.4 mM CDNB ve 0.4 mM GSH bulunmaktadır. Absorvanstaki değişim 340 nm ve 25 ºC de 5 dk süreyle Versamax kinetic microplate reader'da (Molecular Devices) ölçülmüştür.

Enzim çalışmalarının tamamı dört tekerrürlü olarak yapılmıştır. Tüm enzim aktiviteleri Softmax PRO software programında analiz edilerek 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 popülâsyonlar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır (Winer vd., 1991).

4. BULGULAR

4.1. Biyoassay Sonuçları

4.1.1. Seleksiyon sonuçları

P. persimilis Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünden 2008 yılında temin edilmiştir ve o tarihten itibaren herhangi bir pestisit uygulamasına maruz bırakılmadan Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünde bulunan iklim kabinlerinde yetiştirilmiştir. Bu *P. persimilis* popülâsyonu hassas popülâsyon ve seleksiyonlar için başlangıç popülâsyonu olarak kullanılmıştır. Etoxazole ile seleksiyon sonrası elde edilen popülâsyonların $LC_{50,60}$ değerleri ve direnç oranları çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.'de görüldüğü gibi *P.persimilis*'in başlangıç popülâsyonunda (Seleksiyon-0) etoxazole ile 6 kez seleksiyon yapılmıştır. Seleksiyon 1'den itibaren hassasiyette bir azalma gözlenmiş olup, 6. seleksiyona kadar hassasiyet azalması giderek devam etmiştir. Sırasıyla başlangıç popülâsyonunun LC_{50} değerine oranla 1, 2, 3, 4, 5, 6. seleksiyon sonrası elde edilen direnç oranları 1.65, 5.56, 22.24, 51.73, 58.31 ve 111.63 kat olarak bulunmuştur. Etoxazole ile 6 kez seleksiyon sonucunda 111.63 kat direnç kazandırılan *P. persimilis* popülâsyonu ETO6 popülâsyonu olarak isimlendirilmiştir.

Çizelge 4.1. Hassas ve seleksiyon popülâsyonlarının etoxazole karşı belirlenen $LC_{50,60}$ değerleri ve direnç oranları

Popülâsyon	**n[a]**	**Eğim±se** (% 0.95Cl)	**LC_{50} (mg a.i l^{-1})** (% 0.95Cl)	**LC_{60} (mg a.i l^{-1})** (% 0.95Cl)	**RR[b]**
Hassas popülâsyon	600	1.64±0.18	4.1 3.1-5.3	5.9 4.6-7.5	-
Seleksiyon-1	598	1.06±0.13	6.8 4.7-9.3	11.8 8.6-16.5	**1.65**
Seleksiyon-2	603	1.24±0.14	22.8 16.5-30.5	46.3 37.0-58.8	**5.56**
Seleksiyon-3	602	1.29±0.13	91.2 69.5-118.9	143.0 109.9-192.3	**22.24**
Seleksiyon-4	605	1.23±0.12	212.1 162.7-276.4	340.3 261.6-459.5	**51.73**
Seleksiyon-5	601	1.33±0.11	239.1 189.6-300.2	369.8 294.6-475.1	**58.31**
ETO6	600	1.27±0.12	475.7 367.0-613.9	668.0 584.3-877.1	**111.63**

[a] Denemede kullanılan birey sayısı
[b] Direnç oranı: Hassas popülâsyon LC_{50}/ seleksiyon popülâsyonu LC_{50}

4.1.2. Sinerjist + akarisit sonuçları

Sinerjistler, kendi başlarına zehirli olmamalarına rağmen bir insektisitin zehirliliğini arttıran bileşikler olarak tanımlanır. Kısacası zehirli olmayan bileşikler, böcek öldürücü ilaçların zehirliliğini arttırmaya katkıda bulunduğunda sinerjist olarak adlandırılırlar. Bazı enzim inhibitörleri de özellikle dirençli ırklarda insektisitleri detoksifiye eden enzimleri bloke ederek iyi sinerjistler olarak davranırlar. Sinerjistik çalışmalar olası metabolik direnç mekanizmalarının belirlenmesinde ilk basamak olarak düşünülmektedir (Susurluk, 2008). Bu çalışma, seleksiyon sonucu oluşturulan dirençli ve hassas *P. persimilis* popülâsyonlarında bazı sinerjistlerin etoxazole üzerine olan etkisi incelemek amacıyla yapılmıştır. Sinerjistlerin ilaçlar üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla monoksigenaz enzim inhibitörü piperonyl butoxide (PBO) (2000µl/l) (Leeuwen vd., 2004), esteraz enzim inhibitörü S-Benzyl-O,O-diisopropyl

phosphorothioate (IBP) (200 µl/l) (Kim vd., 2004) ve GST enzim inhibitörü diethylmaleate (DEM) (2000µl/l) (Leeuwen vd., 2004) sinerjistleri kullanılmıştır.

Etoxazole ile 6 kez seleksiyon sonucu 113.37 kat direnç kazandırılan ETO6 popülâsyonunda etoxazole ile IBP, PBO ve DEM sinerjistlerinin etkileri belirlenmiş ve sonuçlar çizelge 4.2.'de verilmiştir. Çizelge 4.2. incelendiğinde, ETO6 popülâsyonunda her üç sinerjistinde sinerjistik etkilerinin yüksek olduğu görülmektedir. ETO6 popülâsyonunda en yüksek sinerjistik etki GST enzim inhibitörü DEM+etoxazole uygulaması sonucunda 3.6 kat olarak bulunmuştur. Bunu takiben P450 enzim inhibitörü PBO+etoxazole uygulamasında 3.17 kat ve esteraz enzim inhibitörü IBP+etoxazole uygulamasında 2.85 kat sinerjistik etki bulunmuştur. Hassas *P. persimilis* popülâsyonunda etoxazole+sinerjistlerin birlikte uygulanması sonucunda elde edilen sinerjistik etki oranları ise PBO için 1.05 kat, IBP için 1.02 kat ve DEM için ise 1.15 kat olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. ETO6 popülâsyonunda etoxazole ve etoxazole+sinerjistlerin LC_{50} değerleri ve sinerjist etki oranları

Populasyon	Uygulama	n[a]	Eğim±SE	LC_{50} (mg a.i l^{-1}) (% 95CL)	SR[b]
ETO6	Etoxazole	600	1.27±0.12	475.77 367.04-613.90	-
	Etoxazole +PBO	602	1.81±0.14	149.99 123.27-179.64	**3.17**
	Etoxazole +IBP	603	1.72±0.15	166.93 117.92-314.39	**2.85**
	Etoxazole +DEM	600	1.46±0.13	162.15 116.36-256.71	**3.60**
Hassas	Etoxazole	600	1.64±0.18	4.19 3.12-5.36	-
	Etoxazole +PBO	603	1.79±0.21	3.99 2.67-4.58	**1.05**
	Etoxazole +IBP	605	1.77±0.21	4.10 2.71-4.96	**1.02**
	Etoxazole +DEM	525	1.83±0.24	3.64 2.94-4.76	**1.15**

[a] : denemede kullanılan birey sayısı
[b]: Sinerjistik etki oranı

4.1.3. Çoklu direnç sonuçları

Etoxazole dirençli ETO6 popülâsyonunun acetamiprid, chlorantraniliprole, deltamethrin, indoxocarb, spinosad, milbemectin ve spiromesifen'e karşı oluşturduğu çoklu direnç sonuçları ve LC_{50} değerleri Çizelge 4.3.'te verilmiştir. ETO6 popülâsyonunun acetamiprid, chlorantraniliprole, deltamethrin, indoxocarb, spinosad, milbemectin, spiromesifen, azadirachtin, bifentrin ve abamecthin'e karşı oluşturduğu çoklu direnç sonuçları sırasıyla, 5.80, 5.07, 10.33, 5.67, 4.72, 5.00, 8.30, 8.19, 5.24 ve 3.39 kat olarak belirlenmiştir. ETO6 popülâsyonunda 10.33 kat çoklu direnç oranıyla deltamethrin'e karşı en yüksek direnç oranı belirlenirken, 3.39 katla abamectin'e karşı en düşük çoklu direnç oranı belirlenmiştir. Ancak ETO6 popülâsyonununda 10 pestisite karşı belirlenen çoklu direnç oranları kritik direnç katsayı olan 3'ün üzerinde

bulunmuştur. Hatta ETO6 popülâsyonunda deltamethrin'e karşı 10.33 kat şeklinde yüksek oranda çoklu direnç belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. ETO6 popülâsyonunun diğer pestisitlere karşı oluşturduğu LC_{50} değerleri ve çoklu direnç oranları

Pestisit	**Popülâsyon**	**n**	**Eğim±SE**	**LC_{50} (mg a.i l^{-1})** (%95CL)	**R[a]**
Acetamiprid	ETO6	600	1.38±0.13	23.8 18.3-30.0	**5.80**
	Hassas	600	1.58±0.20	4.1 1.4-7.1	-
Chlorantraniliprole	ETO6	602	1.48±0.12	13.2 8.9-18.7	**5.07**
	Hassas	600	1.68±0.14	2.6 1.8-3.4	-
Deltamethrin	ETO6	600	1.35±0.14	9.3 5.9-13.9	**10.33**
	Hassas	600	1.67±0.18	0.9 0.4-1.5	-
Indoxocarb	ETO6	603	1.23±0.11	17.6 13.6-22.5	**5.67**
	Hassas	600	1.88±0.19	3.1 2.4-3.9	-
Spinosad	ETO6	600	1.33±0.11	51.0 30.1-78.7	**4.72**
	Hassas	525	1.71±0.23	10.8 4.3-17.8	-
Milbemectin	ETO6	605	129±0.11	3.0 2.4-3.8	**5.00**
	Hassas	600	1.59±0.13	0.6 0.4-0.7	-
Spiromesifen	ETO6	600	1.33±0.12	66.4 51.3-84.5	**8.30**
	Hassas	600	1.62±0.17	8.0 4.7-11,5	-
Bifenthrin	ETO6	600	1.40±0.13	22.0 16.6-28.2	**5.24**
	Hassas	600	1.62±0.17	8.0 4.7-11,5	-
Abamectin	ETO6	600	1.23±0.11	14.2 10.9-18.2	**3.39**
	Hassas	600	1.83±0.23	3.1 1.2-5.4	-
Azadirachtin	ETO6	600	174±0.15	34.4 27.0-42.5	**8.19**
	Hassas	600	1.50±0.17	15.2 10.8-19.8	-

[a]: Çoklu direnç oranı

4.1.4. Direnç kalıtım sonuçları

Hassas ve dirençli bireyler arasında yapılan resiprokal çaprazlamalar sonucu elde edilen F1 dölleri direnç genlerinin baskın veya çekinik, F2 dölleri ise direncin monogenik ya da poligenik olması konusunda bize bilgi vermektedir. Direnç mekanizmalarının tanımlanması, belirlenmesi ve direnci izleme metotlarından oluşan genetik çalışmalar direnç yönetim stratejilerinin temellerini oluşturmaktadır.

Etoxazole dirençli ve hassas *P. persimilis* popülâsyonları arasında yapılan resiprokal çaprazlamalar sonucu elde edilen F1 döllerine ait LC_{50} değerleri, direnç oranları ve dominantlık dereceleri belirlenmiş ve sonuçlar çizelge 4.4.'te verilmiştir. Sonuçları incelemek gerekirse, etoxazole için hassas ve dirençli ETO6 popülâsyonlarının LC_{50} değerleri sırasıyla 4.1 ve 475.7 mg a.i l^{-1} olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4.). Resiprokal çaprazlamalardan elde edilen F1 dişilerinin gösterdiği LC_{50} değerleri birbirlerinden farklı bulunmuştur. Bu durum F1 dişilerinde etoxazole direncinde dişiden gelen bir etkinin olduğunu göstermektedir. SR ve RS tipi resiprokal çaprazlamalarda F1 dişilerinin LC_{50} değerleri birbirinden farklı olup 352.0 ve 422.8 mg a.i l^{-1} olarak bulunmuştur. SR ve RS çaprazlamalarından elde edilen her iki F1 dişilerinde formülden hesaplanan baskınlık dereceleri ise eksik (tam olmayan) baskın (0.87 ve 0.95) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.4. Hassas, ETO6 ve resiprokal F1 popülâsyonlarının etoxazole karşı belirlenen LC_{50} değerleri, direnç oranları ve dominantlık dereceleri

Genotip	**n[a]**	**x^2(df)**	**Eğim±SE**	**LC_{50} (mg a.i l^{-1})** (% 95CL)	**RR[b]**	**D[c]**
S	600	1.75 (5)	1.647±0.181	4.1 3.1-5.3	-	
R	600	3.45 (5)	1.270±0.124	475.7 367.0-613.9	111.6	
S♀ X R♂	605	8.79 (5)	1.527±0.129	352.0 261.9-457.9	85.8	**0.87**
R♀ X S♂	602	1.49 (5)	1.448±0.134	422.8 295.0-482.4	103.1	**0.95**

[a] Toplam birey sayısı
[b] Direnç oranı
[c] Dominantlık derecesi

Dirençten sorumlu olan lokus sayılarını belirlemek için direkt ve dolaylı bazı modeller kullanılmaktadır. Geriye dönük olan çaprazlamalar, direncin monogenik modelini belirlemek için direkt test olarak kullanılmaktadır. Monogenik model için kullanılan bu direkt testte gözlenen ve beklenen tepkiler x^2'ye göre hesaplanmaktadır (Sokal ve Rohlf, 1995). Serbestlik derecesi 1'e göre olan bir x^2 dağılımı ile yapılan karşılaştırmada test sonuçları $p<0.05$ ise hipotez geri çevrilir yani direncin kalıtımında monogenik hipotez red edilir. Direncin birden fazla gen tarafından kontrol edildiği poligenik hipotez kabul edilmektedir. Bu hipoteze göre direnç özelliği pek çok gen tarafından kontrol edilmektedir. $p>0.05$ olduğunda ise monogenik hipotez kabul edilmektedir. Monogenik hipotezde direnç özelliğinin tek bir lokusta ve major bir gen tarafından kontrol edildiği varsayılmaktadır.

ETO6 popülâsyonu ile yapılan RSR çaprazlamasında gözlenen ve beklenen ölüm oranları, kikare ve tek gen hipotezini belirlemek için kullanılan p değerleri çizelge 4.5.'te verilmiştir. Etoxazole için yapılan çalışmada serbestlik derecesi 1'e göre olan x^2 testine göre F2 dişileri için F1(R X S) (♀) ve R (♂) arasında yapılan çaprazlamada 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 ve 2000 µl dozlarda monogenik hipotez red edilir ($p<0.05$) (Çizelge 4.5.). Elde edilen sonuçlar *P. persimilis*'de etoxazole direncinin birden fazla genin kontrolünde olabileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.5. ETO6 popülâsyonu ile yapılan RSR çaprazlamasında gözlenen ve beklenen ölüm oranları, kikare ve tek gen hipotezini belirlemek için kullanılan p değerleri

Doz	Ölüm oranı (%)			
	Gözlenen	Beklenen	[a]x^2	p değeri
31.25	13.77	8.14	3.89	0.013456
62.5	26.75	17.31	5.14	0.012345
125	41.32	30.52	3.82	0.013441
250	54.74	42.12	3.78	0.013356
500	69.33	54.16	4.24	0.012479
1000	85.35	67.12	4.95	0.012336
2000	100	84.33	2.91	0.019765

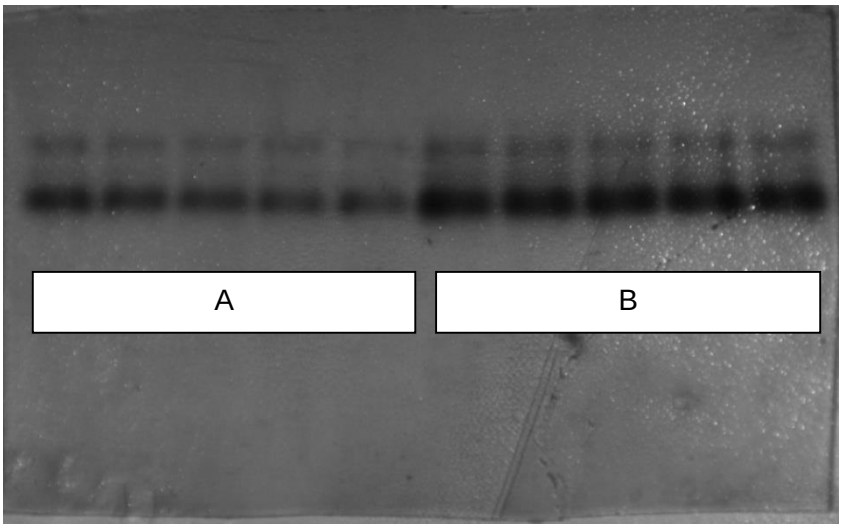
[a]x^2= (Gözlenen ölüm oranı-beklenen ölüm oranı)^2/beklenen ölüm oranı

4.2. Biyokimyasal Sonuçları

Biyokimyasal çalışmalarda, hassas ve seleksiyonlar sonucu elde edilen dirençli *P. persimilis* popülâsyonlarında esteraz ve glutation S-transferaz enzimlerinin aktiviteleri uygun metodlarla belirlenmiştir. Esteraz enzimi ayrıca poliakrilamid jel elektroforez yöntemi ile de incelenmiştir. Enzim sonuçlarından elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi tekniği ile (One-Way ANOVA) analiz edilmiştir. Popülâsyonlar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır.

4.2.1. Poliakrilamid jel elektroforezi ile esteraz izozimlerinin incelenmesi

Böceklerde insektisitlere karşı gelişen direnci belirlemede biyoassay yöntemlerin yanı sıra elektroforetik yöntemler de kullanılmaktadır. Elektroforetik yöntemlerle böceklerin insektisitlere göstermiş olduğu dirençle ilgili olduğu düşünülen bazı enzimler incelenerek, böceklerdeki direnç düzeyi ile bu enzimler arasında ilişki kurulmaktadır (Tsagkarakou vd., 2002). Akarlarda elektroforez genetik farklılıkların yanında dirençli ve hassas popülâsyonlardaki esteraz bantları arasındaki farklılıkları ortaya koymak için de kullanılmaktadır (Yorulmaz ve Ay, 2009).



Şekil 4.1. ETO6 ve hassas *Phytoseiulus persimilis* populasyonlarının esteraz izozimlerinin PAGE elektroforez bant sistemleri (A: hassas, B: ETO6)

Şekil 4.1.'de etoxazole ile 6 kez seleksiyon sonucu 111.63 kat direnç kazandırılan ETO6 ve hassas *P. persimilis* populasyonlarının esteraz izozimlerinin PAGE elektroforez bant sistemleri görülmektedir. ETO6 popülâsyonundan elde edilen

bantlarının hassas popülâsyondan elde edilen bantlara göre yoğun ve kalın çıktığı belirlenmiştir.

4.2.2. Esteraz ve GST enzim aktivitesi sonuçları

Çizelge 4.6.'da seleksiyon sonucu elde edilen etoxazole dirençli ETO6 ve hassas *P. persimilis* popülâsyonlarının esteraz ve GST enzim miktarları ve popülâsyonlar arasındaki istatiksel farklar verilmiştir. Esteraz enzim aktivitesi ETO6 populasyonunda 3.479 mOD min^{-1} mg^{-1} protein olarak belirlenirken hassas populasyonda ise 1.281 mOD min^{-1} mg^{-1} protein değerinde bulunmuştur. ETO6 populasyonunda GST enzim aktivitesi 1.606 mOD min^{-1} mg^{-1} protein olarak bulunurken hassas populasyonda ise 0.520 mOD min^{-1} mg^{-1} protein olarak belirlenmiştir. Esteraz ve GST enzim aktivitelerinin her ikisi de ETO6 ve hassas populasyonda istatistikî olarak farklı bulunmuştur. Bu durum ETO6 populasyonunda etoxazole direncinde esteraz ve GST enzim aktivitelerinin her ikisinin de etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Çizelge 4.6. Hassas ve ETO6 populasyonlarında esteraz ve GST enzim aktiviteleri ($P< 0.05$)[a]

Enzim	Populasyon	n[b]	Enzim aktivitesi (mOD min^{-1} mg^{-1} protein)	R/S[c]
Esteraz	Hassas	4	1.281 B	-
	ETO6	4	3.479 A	**2.71**
GST	Hassas	4	0.520 B	-
	ETO6	4	1.606 A	**3.09**

[a] Her enzim için, satırlardaki farklı harfler istatiksel olarak farklılığı göstermektedir ($P< 0.05$)

[b] Tekerrür sayısı

[c] ETO6 populasyonu enzim aktivitesi/hassas populasyon enzim aktivitesi

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Dünyada ve ülkemizde zararlılarla tarımsal mücadele çalışmalarında pestisitler vazgeçilmez unsurlardır. Diğer savaşım yöntemleri pestisit kullanımı ile desteklenmediği taktirde zararlılardan dolayı verimde ve ürün kalitesinde azalmalar meydana gelmektedir. Fakat pestisitlerin çevrede yarattığı sorunlar da büyük ölçüde olup günümüzün önemli konularından biridir. Bilinçsizce kullanılan kimyasallar doğal dengenin bozulmasına, faydalı böceklerin yok olmasına, zararlıların ise doğal dengenin bozulmasından dolayı artış göstermesine yol açmaktadır. Ülkemizde ve dünyada bu nedenlerden dolayı doğal düşmanların önemi gün geçtikçe artmaktadır. Bu nedenle kullanılan kimyasalların doğal düşmanlar üzerindeki etkilerini belirlemek son derece önemlidir. Pestisitlerin doğal düşmanlar üzerindeki yan etkilerinin yanı sıra predatör ve parazitoidlerin kimyasallara karşı direnç kazandığı bilinmektedir. Çünkü yoğun pestisit uygulanan alanlarda bulunan doğal düşmanlar hedef olmamalarına rağmen uygulanan kimyasallardan dolaylı olarak etkilenmektedir. Bir şekilde pestisitlere karşı direnç kazanan doğal düşmanların özellikle direnç yönetim programları içerisinde kullanılabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada da zararlı kırmızıörümceklerin önemli ve etkili bir avcısı olan *P. persimilis*'in laboratuar koşullarında seleksiyon baskısı sonucunda etoxazole karşı direnç geliştirme özellikleri biyoassay ve biyokimyasal yöntemlerle belirlenmiştir.

Hassas *P. persimilis* popülâsyonunun etoxazole direnç mekanizmasının incelenebilmesi için laboratuar koşullarında seleksiyon çalışmaları yapılmıştır. Hassas *P. persimilis* popülâsyonu üzerine etoxazole baskısının oluşması için etoxazole ile bu popülâsyon üzerine 6 kez seleksiyon yapılmıştır. Seleksiyon 1'den itibaren hassasiyette bir azalma gözlenmiş olup, 6. seleksiyona kadar hassasiyet azalması giderek devam etmiştir. Sırasıyla başlangıç popülâsyonunun LC_{50} değerine oranla 1, 2, 3, 4, 5, 6. seleksiyon sonrası elde edilen direnç oranları 1.65, 5.56, 22.24, 51.73, 58.31 ve 111.63 kat olarak bulunmuştur. Etoxazole ile 6 kez seleksiyon sonucunda hassas *P. persimilis* popülâsyonunda 111.63 kat direnç belirlenmiştir. Seleksiyon çalışması sonucunda hassas *P. persimilis* popülâsyonunun labaratuar koşullarında seleksiyon baskısı sonucunda etoxazole karşı direnç yüksek seviyede bulunmuştur. Bu durum tarla koşullarında bulunan *P. persimilis* popülâsyonlarında etoxazole'ün belli aralıklarla uygulanması sonucunda direnç geliştirebileceğini düşündürmektedir.

Etoxazole'ün ülkemizde uzun yıllardan beri kırmızıörümcek mücadelesinde kullanıldığı bilinmektedir. Doğal olarak tarla koşullarında bulunan *P. persimilis* popülâsyonlarınında bu akarisite karşı sık uygulama sonucu direnç geliştirmiş olabileceği olasılığı bulunmaktadır. Bu sebeple ileride üretim alanlarından toplanacak olan *P. persimilis* popülâsyonlarında da bu tür direnç çalışmalarının yapılması faydalı olacaktır. Homojen ve dirençli popülâsyonlar zararlı böcekler için, direnç yönetim stratejilerinde kontrol edilebilmeleri oldukça zor olduğu için arzu edilmeyen bir popülâsyon yapısını oluşturmaktadır. Ancak, direnç yönetim stratejilerinde yararlı böceklerin bazı pestisitlere karşı dirençli yapıda olmaları istenilen bir durumdur.

Literatürde benzer çalışmalar incelenecek olursa, Croft vd. (1976), seleksiyon sonucunda 75 kat azinphosmethyl ve 120 kat diazinon dirençli *Amblyseius fallacis* popülâsyonu elde etmişlerdir. Schulten ve Van de Klashorst (1979), parathion ile sekiz kez selekte edilen *P. persimilis*'de 100 kat parathion direnci geliştiğini ve bu popülâsyonda yumurta üretiminin normal şekilde devam ettiğini bildirmişlerdir. Avella vd. (1985), birden fazla pestisite karşı direnç geliştirmiş bir *P. persimilis* popülâsyonu elde etmek için methidathion dirençli bir popülâsyonda deltamethrin ile 7 seleksiyon sonucu LC_{50} değerinin 10 kat arttığını belirlemişlerdir. Sato vd. (2000) *Amblyseius womersleyi*'i methidathion ile laboratuvarda 4 kez seleksiyon sonrası 311 kat dirençli popülâsyon elde etmişlerdir. Auger vd. (2005) yaptıkları çalışmada, mancozeb ile 10 kere seleksiyon yaptıkları *Typhlodromus pyri*'nin popülâsyonunda hassas popülâsyona göre direncin 73 kat arttığını belirlemişlerdir. Bonafos vd. (2007) bağ alanlarından topladıkları *T. pyri* ve *A. andersoni* popülâsyonlarının deltamethrin, lamda-cyhalothrin ve chlorpyrifos-ethly'e karşı orta düzeyden yüksek düzeye kadar değişen oranlarda dirençli bulmuşlardır. Mugo vd. (2011), chlorpyrifosa karşı kahve üretim alanlarından topladıkları *Euseius kenyae'*nin C44 popülâsyonu en hassas bulunurken; C1, C4, C7, C37, C25 ve C119 popülâsyonları on kat fazla dirençli bulunmuştur. Tirello vd. (2012), bağ alanları ve elma bahçelerinden toplanan dört faklı *Kampimodromus aberrans* popülâsyonlarında 1.85-6.83 arasında değişen katlarda chlorpyrifos direnci belirlemişlerdir. Literatürde de görüldüğü üzere tarla veya labaratuar koşullarında pestisitlere maruz kalan avcı akarlarda direnç gelişimi belirlenmiştir.

Tez kapsamında etoxazole seleksiyonu sonucu elde edilen dirençli ve hassas popülâsyonlarda sinerjistlerin akarisitler üzerindeki etkinliğini anlamak ve yapılan biyokimyasal çalışmalar sonucu enzimlerle olan ilişkilerini ortaya koymak amacıyla PBO, IBP ve DEM sinerjistleri ile çalışmalar yapılmıştır. Popülâsyonda gelişen direncin enzimlerle olan ilişkilerini anlamak için enzim çalışmaları yapılmıştır. Popülâsyonlarda esteraz ve GST enzimlerinin aktiviteleri uygun metodlarla belirlenmiştir. Esteraz enzimi ayrıca poliakrilamid jel elektroforez yöntemi ile de incelenmiştir.

Etoxazole ile altı kez seleksiyon sonucu 111.63 kat direnç kazandırılan ETO6 popülâsyonunda esteraz enzim inhibitörü IBP sinerjisti ile yapılan çalışma sonucunda 2.85 kat sinerjistik etki oranı belirlenmiştir. Bununla birlikte esteraz enziminin kinetik olarak belirlenmesi sonucunda ETO6 popülâsyonunda hassas popülâsyonla karşılaştırıldığında 2.71 kat enzim aktivitesi artışı olmuştur. Aynı zamanda esteraz enziminin poliakrilamid jel elektroforez metodu ile belirlenmesi sonucunda da ETO6 popülâsyonunda elde edilen bant kalınlıklarının hassas popülâsyona göre arttığı belirlenmiştir. P450 monoksigenaz enzim inhibitörü PBO sinerjisti ile yapılan çalışmalar sonucunda, ETO6 popülâsyonunda 3.17 kat sinerjistik etki oranı bulunmuştur. GST enzim inhibitörü DEM sinerjisti ile yapılan çalışmalar sonucunda, ETO6 popülâsyonunda 3.60 kat sinerjistik etki oranı bulunmuştur. Bununla beraber ETO6 popülâsyonu hassas popülâsyonla karşılaştırıldığında GST enzim aktivitesinin de 3.09 kat arttığı belirlenmiştir. Sinerjist ve enzim aktivite sonuçları birlikte değerlendirildiğinde 111.63 kat etoxazole dirençli ETO6 popülâsyonunda etoxazole direnç gelişiminde özellikle GST, P450 monoksigenaz ve esteraz enzimlerinin birlikte rol oynadığı, AChE enzimlerinin direnç gelişiminde etkili olmadığı görülmektedir.

Literatürde benzer çalışmalar incelenecek olursa, Fournier vd. (1987), yaptıkları çalışmada, methidathion dirençli ve hassas *P. persimilis* popülâsyonlarında yaptıkları çalışmada, methidathion dirençli *P. persimilis*'de methidathion direnci üzerinde GST enziminin etkili olduğunu bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde *P. persimilis*'de etoxazole direnç gelişiminde büyük oranda GST enziminin etkili olduğu belirlenmiştir. Anber ve Overmeer (1988), *Amblyseius potentillae*'de substrat olarak acetylthiocholine kullanarak S ve A ırklarında 0.71 ve 0.35 asetilkolinesteraz enzimi belirlemişlerdir. Sato vd. (2001), *A. womersleyi'*de monooksigenaz inhibitörleri olan

piperonyl butoxide ve 2-propynyl 2,3,6-trichlorophenyl'in methidathion dirençli ırkta yüksek derecede sinerjistik etki gösterdiğini ve oksidatif metabolizmasının arttığını ortaya koymuşlardır. Sato vd. (2006), 177 kat methidathion dirençli ve hassas *Amblyseius womersleyi*'de monoksigenaz aktivitesinin dirençli popülâsyonda hassas popülâsyona göre 3.60 kat arttığını belirlemişlerdir. Sato vd. (2007), methidathion dirençli *A. womersleyi'*de cytochrome P450 genini inceledikleri çalışmada CYP4-d geni ile monooxgenaz aktivitesi arasında önemli derecede korelasyon bulmuşlardır.

Etoxazole dirençli ETO6 popülâsyonlarının bazı insektisitlere ve akarisitlere karşı çoklu direnç geliştirip geliştirmediği de araştırılmıştır. Çoklu direnç çalışmalarında ise özellikle seralarda farklı zararlılara ve kırmızıörümceklere karşı sıkça kullanılan chlorantraniliprole, indoxacarb, deltamethrin, acetamiprid, spinosad, milbemectin, spiromesifen, azadirachtin, bifentrin ve abamectin etkili maddeye sahip pestisitler seçilmiştir. ETO6 popülâsyonunun acetamiprid, chlorantraniliprole, deltamethrin, indoxocarb, spinosad, milbemectin, spiromesifen, azadirachtin, bifentrin ve abamecthin'e karşı oluşturduğu çoklu direnç sonuçları sırasıyla, 5.80, 5.07, 10.33, 5.67, 4.72 5.00, 8.30, 8.19, 5.24 ve 3.39 kat olarak belirlenmiştir. ETO6 popülâsyonunda deltamethrin, spiromesifen ve azadirachtin'e karşı yüksek çoklu direnç oranları belirlenmiştir. Croft vd. (1976), 75 kat azinphosmethyl ve 120 kat diazinon dirençli *Amblyseius fallacis* popülâsyonunda parathion ve dimethoatekarşı yüksek seviyede; azinphosethyl, malathion, phosmet, methyl parathion, fenitrothion, fenthion, demeton ve phosphamidon'e karşı orta seviyede ve carbophenothion, phosalone, ethion'e karşı az seviyede çoklu direnç geliştirdiğini belirlemişlerdir. Anber ve Overmeer (1988), *Amblyseius potentillae*'nin tarla popülâsyonunda 781 kat propoxur, 311 kat paraoxon, 61 kat tetrachlorvinphos, 21 kat omethoate ve 19 kat azinphos-methy direnci bulmuşlardır. Sato vd. (2000) 311 kat methidathion dirençli *Amblyseius womersleyi*'de acephate ve malathion'a karşı sırasıyla 20.4 ve 13.1 kat çoklu direnç belirlenmiştir. Yorulmaz Salman ve Ay (2014), labaratuar koşullarında 13 seleksiyon sonucunda 52.08 kat spiromesifen direnci kazandırılan *N. californicus*'ta 5.35 kat hexythiazox, 16.67 kat propargite, 14.97 kat clofentezine, 12.30 kat spirodiclofen, 12.07 kat etoxazole ve 9.57 kat milbemectin çoklu direnci belirlemişlerdir. Zararlı kırmızıörümceklerde çoklu direnç gelişimi istenmeyen bir durumdur. Çünkü çoklu direnç oluşumu ile bir zararlı aynı grup ya da farklı gruptan birçok pestisite karşı direnç geliştirebilir ve özellikle tarla koşullarında direncin

yönetimi zorlaşır. Ancak avcı akar *P. persimilis*'in çoklu direnç geliştirmesi tarla koşullarında istenilen bir durum haline dönüşebilir. Aynı ya da farklı gruptan birden fazla pestisite karşı direnç geliştirebilen avcıların kimyasalların çok ve yoğun olarak kullanıldığı alanlarda daha uzun süre hayatta kalacağı düşünülmektedir.

Direncin kalıtımını ve geriye dönüşümünü belirlemek amacıyla ETO6 ile hassas popülâsyonlar arasında resiprokal çaprazlamalar yapılmıştır. Çaprazlamalar sonucu elde edilen F1 dölleri direnç genlerinin baskın veya çekinik, F2 dölleri ise direncin monogenik ya da poligenik olması konusunda bilgi vermiştir. Etoxazole için hassas ve dirençli ETO6 popülâsyonlarının LC_{50} değerleri sırasıyla 4.1 ve 475.7 mg a.i l^{-1} olarak bulunmuştur. SR ve RS tipi resiprokal çaprazlamalarda F1 dişilerinin LC_{50} değerleri birbirinden farklı olup 352.0 ve 422.8 mg a.i l^{-1} olarak bulunmuştur. SR ve RS çaprazlamalarından elde edilen her iki F1 dişilerinde formülden hesaplanan baskınlık dereceleri ise eksik (tam olmayan) baskın (0.87 ve 0.95) olarak bulunmuştur. Bu durum F1 dişilerinde etoxazole direncinde dişiden gelen bir etkinin olduğunu göstermektedir. F2 döllerinden elde edilen bilgiye göre tüm dozlarda etoxazole direncinin poligenik olabileceğini göstermektedir. Croft vd. (1976), 75 kat azinphosmethyl ve 120 kat diazinon dirençli *Amblyseius fallacis* popülâsyonunda direncin dominant olduğu ve tek bir genle kontrol edildiğini bulmuşlardır. Kostiainen ve Hoy (1995), azinphosmethyl dirençli ve hassas *Amblyseius finlandicus* popülâsyonlarında F1 döllerininden elde edilen bilgiye göre azinphosmethyl direncinin tam dominant olduğunu belirlemişlerdir. Auger vd. (2005), 73 kat mancozeb dirençli ve hassas *Typhlodromus pyri*'in popülâsyonlarında çaprazlamalar sonucunda dominant olmadığını belirlemişlerdir. Yorulmaz Salman ve Ay (2013b), 64.04 kat hexythiazox dirençli *N. californicus* popülâsyonunda hexythiazox direncinin eksik baskın ve monogenik olduğunu belirlemişlerdir. ETO6 popülâsyonunda etoxazole direncinin poligenik olduğu hipotezi enzim sonuçları ile uyum göstermektedir. Çünkü popülâsyonda farklı enzim gruplarında yüksek artış ve direnç üzerinde etki belirlenmiştir. ETO6 popülâsyonunda etoxazole direncinde GSTve esteraz monoksigenaz enzimlerinin rol oynaması direnç kalıtımlarının poligenik olması sonuçları ile uyuşmaktadır. Etoxazole direncinin gelişmesinde birden fazla enzim sisteminin rol oynaması direncin poligenik yani birden fazla genle yönetildiği fikrini desteklemektedir. Baskın ya da eksik baskın direnç zararlı popülâsyonları için istenmeyen bir durumdur, çünkü bu tür direncin yönetimi tarla koşullarında oldukça

zordur. Ancak bu durum yararlı popülâsyonlar için düşünüldüğünde direncin kırılmasının zor olması yararlılar için istenilen bir durum olarak düşünülebilir.

Sonuç olarak, *P. persimilis*'in seleksiyon sonucu elde edilen ETO6 popülâsyonunda etoxazole direnç gelişimi ve direnç mekanizmaları belirlenmiştir. Özellikle pestisitlerin çok yoğun olarak kullanıldıkları sera benzeri üretim alanlarında direnç geliştirmiş *P. persimilis* kullanımının kırmızıörümcek savaşımında daha etkili sonuçlar doğuracağı düşünülmektedir. Direnç gelişimi zararlılarda istenmeyen bir durum olup, yararlı popülâsyonlarda ise daha uzun süre hayatta kalmaları ve daha aktif olmaları bakımından istenilen biri duruma dönüşmekte ve bu tür doğal düşmanlar direnç yönetim programları içerisinde yer alabilmektedirler. Ancak laboratuar koşullarında oluşturulmuş bu tür doğal düşmanların doğaya salım ve uyum çalışmalarının da mutlaka yapılması gerekmektedir. Bu tür çalışmalar *P. persimilis*'te ileride yapılacak olan diğer çalışmalara da altyapı hazırlayacaktır.

Öneriler:

- Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Araştırma enstitüleri ve üniversitelerde seleksiyon yoluyla bazı pestisitlere direnç kazandırılan doğal düşmanlar üzerinde araştırmalar yapılmalı ve üretim merkezleri kurulmalıdır.
- Bu tür merkezlerde çalışabilecek uzman personel yetiştirilmelidir.
- Laboratuar koşullarında oluşturulmuş bu tür doğal düşmanların doğaya salım ve uyum çalışmalarının da mutlaka yapılması gerekmektedir
- *Phytoseiulus persimilis* gibi doğal düşmanların doğaya belli aralıklarla salımı yapılması gerektiği unutulmamalı ve doğaya uyumu belli aralıklarla kontrol edilmelidir.
- Üretim alanları içerisinde belli aralıklarla doğal düşmanların pestisitlere karşı duyarlılık durumları incelenmelidir.
- Suni seleksiyon yoluyla bazı pestisitlere karşı direnç kazandırılmış doğal düşmanların özellikle sera benzeri kapalı üretim alanlarında entegre mücadeleye büyük katkılar sağlayacağı unutulmamalıdır.
- Üreticilere bazı pestisitlere direnç kazandırılan bu tür doğal düşmanların kullanımı hakkında bilgiler verilmeli, bu konu hakkında seminer ve paneller düzenlenmelidir.

KAYNAKLAR

Anber, H.A.I., Overmeer, W.P.J., 1988. Resistance to Organophosphates and Carbamates in the Predacious mite *Amblyseius potentillae* (Garman) due to Insensitive Acetylcholinesterase. Pesticide Biochemistry and Physiology, 31(1), 91-98**.**

Anonim, 2012. www.kkgm.gov.tr/birim/bitkikoruma/teknik./kirmizi_orumcek.pdf, Erişim tarihi: 21.01.2013.

Auger, P., Bonafos, R., Kreiter, S., Delorme, R., 2005. A Genetic Analysis of Moncozeb Resistance in *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae), Experimental and Applied Acarology, 37, 83-91.

Avella, M., Fournier, D., Pralavorio, M., Berge, J.B., 1985. Selection Pour la Resistance a la Delthamethrine Dune Souche de *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot. Agronomie, 5(2), 117-180.

Ay, R., Gürkan, M.O., 2005. *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)'nin Değişik Popülâsyonlarının İki Selektif Akarisite Karşı Duyarlılıkları ve Duyarlılık Mekanizmaları Üzerinde Araştırmalar. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 11 (2), 217-223.

Barbar, Z., Tixier, M.S., Kreiter, S., 2007. Assessment of Pesticide Susceptibility for *Typhlodromus exhilaratus and Typhlodromus phialatus* Strains (Acari: Phytoseiidae) from Vineyards in the South of France. Experimental and Applied Acarology, 42, 95–105.

Bonafos, R., Serrano, E., Auger, P., Kreiter, S., 2007. Resistance to Deltamethrin, Lambda-cyhalothrin and Chlorpyriphos-ethyl in Some Populations of *Typhlodromus pyri* Scheuten and *Amblyseius andersoni* (Chant) (Acari: Phytoseiidae) from Vineyards in the South-West of France. Crop Protection, 26, 169–172.

Bonafos, R., Vigues, V., Serrano, E., Auger, P., 2008. Resistance Monitoring to Deltamethrin and Chlopyrifos-ethly in 13 Populations of *Typhlodromus pyri* Scheuten (Acari: Phytoseiidae) from Vineyards in the Southwest of France. Crop Protection, 27, 855-858.

Bradford, M.M., 1976. A Rapid and Sensitiv Method for the Quantitation of Microgramm Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding. Analitical Biochemistry, 72, 248-254.

Croft, B.A., Brown, A.W.A., Hoying, S.A., 1976. Organophoshorus-Resistance and Its Inheritance in the Predaceous Mite *Amblyseius fallacis*. Journal Economic Entomology, 69(1), 64-68.

Çakmak, İ., Başpınar, H., Madanlar, N., 2005. Control of Carmine Spider Mite *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval by the Predatory Mite *Phytoseiulus persimilis* (Athias- ,Henriot) in Protected Strawberies in Aydın, Turkey. Turkish Journal of Agricultural Forestry, 29, 259-265.

Denholm, I., Devonshire, A.L., Hollomon, D.W., 1992. Resistance 91, Achievements and Developments in Combating Pesticide Resistance. Elsevier Science Publishers, 367.

Fitzgerald, J.D., Solomon, M.G., 2000. Differences in Biological Characteristics in Organophosphorus-Resistant Strains of the Phytoseiid Mite *Typhlodromus pyri.* Experimental and Applied Acarology, 24, 735–746.

Fournier, D., Cuany, A., Pralavorio, M., Bride, J.M., Berge, .JB., 1987. Analysis of Methidathion Resistance Mechanisms in *Phytoseiulus persimilis* A.H.. Pesticide Biochemistry and Physiology, 28(2), 271-278.

Georghiou, G.P., 1969. Genetics of Resistance to Insecticides in House Flies and Mosquitoes. Experimental Parasitology, 26, 224–255.

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.

Hamedi, N., Fathipour, Y., Saber, M., 2010. Sublethal Effects of Fenpyroximate on Life Table Parameters of the Predatory Mite *Phytoseius plumifer*. BioControl, 55, 271–278.

Hoy, M.A., Knop, N.F., 1981. Selection for and Genetic Analysis of Permethrin Resistance in *Metaseiulus occidentalis*: Genetic Improvoment of a Biological Control Agent. Entomology Experiment Applied, 30, 10-18.

Hoy, M.A., 1985. Recent Advances in Genetics and Genetic Improvement of the Phytoseiidae. Annual Review Entomology, 35, 345-370.

Hoyt, M., 1969. Integrated Chemical Control of Insects and Biological Control of Mites on Apple in Washington. Journal of Economic Entomology, 62, 74-86.

Irigaray, F.J., Zalom, F.G., 2006. Side Effects of Five New Acaricides on the Predator *Galendromus occidentalis* (Acari: Phytoseiidae). Experimental and Applied Acarology, 38, 229-305.

Kang, C.Y., Wu, G., 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.

Kazak, C., Şekeroğlu, E., 1990, Avcı Akar *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acarina: Phytoseiidae)'in İki Irkının Laboratuar Koşullarında Yaşam Cetveli, Türkiye 2. Biyolojik Mücadele Kongresi Bildirileri, 26-29 Eylül, Ankara, 203-210.

Kazak, C., Çölkesen, T., Zaman, K., Şekeroğlu, E., 1992. Avcı Akar *Phytoseiulus persimilis* A.-H. (Acarina: Phytoseiidae)'in Sera Koşullarında Çilek (*Fragaria vesca*) üzerinde *Tetranychus cinnabarinus*'a Karşı Etkinliği (Acarina: Tetranychidae), Türkiye II. Entomoloji Kongresi, Ankara, 28-31 Ocak, 145-155.

Kazak, C., Karut, K., Şekeroğlu, E., 2000. The Population of Dynamics and Predation of Hatay strain of *Phytoseiulus persimilis* Athias- Henriot (Acari: Phytoseiidae) on the Prey *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval (Acari: Tetranychidae); Effects of Different Initial Prey and Predator Ratios on Greenhouses Cucumber. Bulletin IOBC/WPRS, 23 (1), 195- 200.

Kazak, C., Karut, K., Kasap, İ., Kibritçi, C., Şekeroğlu, E., 2002. The Potential of the Hatay Population of *Phytoseiulus persimilis* to Control Carmine Spider Mite *Tetranychus cinnabarinus* in Strawberry in Silifke- İçel, Turkey. Phytoparasitica, 30 (5), 451- 458.

Kılınçer, N., Çobanoğlu, S., Has, A., 1992. Avcı Akar *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acarina, Phytoseiidae)'in Sera Koşullarında Çeşitli Bitkilerde Biyolojik Mücadelede Kullanım Olanakları Üzerine Araştırmalar, Türkiye II. Entomoloji Kongresi, Adana, 28-31 Ocak, 109-121.

Kısmalı, Ş., Madanlar, N., Yoldaş, Z., Gül, A., 1999. İzmir (Menemen)'de Örtüaltı Çilek Yetiştiricilinde Kımızıörümceklere Karşı Avcı Akar *Phytoseiulus persimilis* A.-H. (Acarina: Phytoseiidae)'in Uygulama Olanakları, Türkiye 4. Biyolojik Mücadele Kongresi, İzmir, 26-29 Ocak, 201- 214.

Kim, Y.J., Leei 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.

Kostiainen, T., Hoy, M.A., 1995. Laboratory Evaluation of a Laboratory-Selected Organophosphate-Resistant Strain of *Amblyseius finlandicus* (Acari: Phytoseiidae) for Possible Use in Finnish Apple Orchards. Biocontrol Science and Technology, 5, 297- 311.

Lenteren, J.C., 2000. A Greenhouse without Pesticides: Fact or Fantasy? Crop Protection, 19, 375-384.

Markwick, N.P., 1986. Dedecting Variability and Selecting for Pesticide Resistance in Two Species of Phytoseiid Mites. Entomophaga, 31(3), 224-236.

Mcmurtry, J.A., Croft, B.A., 1997. Life-Styles of Phytoseiid Mites and Their Roles in Biological Control. Annual Review Entomology, 42, 291-321.

Mugo, H.M., El-Banhawy, E.M., Irungu, L.W., Ndegwa, P.N., Mburu, D.N., 2011. Resistance of Predacious mite, *Euseıus kenyae* (Acari: Phytoseiidae) to Chlorpyrifos (Dursban) ın Kenyan Coffee Farms. Jagst, 13(1), 53-64.

Öncüer, C., Yoldaş, Z., Madanlar, N., Gül, A., 1994. İzmir'de Sera Zararlılarına Karşı Biyolojik Savaş Uygulamaları, Türkiye 3. Biyolojik Mücadele Kongresi Bildirileri, 25- 28, 395- 407, Bornova- İzmir.

Roush, R.T., Hoy, M.A., 1981a. Genetic Improvoment of *Metaseiulus occidentalis*: Selection with Methomyl, Dimethoate and Carbaryl and Genetic Analysis of Carbaryl Resistance. Journal of Economic Entomology, 74, 138-141.

Roush, R.T., Hoy, M.A., 1981b. Labarotory, Glasshouse and Field Studies of Artifically Selected Carbaryl Resistance in *Metaseiulus occidentalis*. Journal of Economic Entomology, 74, 142-147.

Sato, E.M., Miyata, T., Kawai, A., Nakano, O., 2000. Selection for Resistance and Susceptibility to Methidathion and Cross Resistance in *Amblyseius wormersleyi* Schicha (Acari: Phytoseiidae). Applied Entomology Zoology, 35(3), 393-399.

Sato, E.M., Miyata, T., Kawai, A., Nakano, O., 2001. Methidathion Resistance Mechanisms in *Amblyseius womersleyi* Schicha (Acari: Phytoseiidae). Pesticide Biochemistry and Physiology, 69**,** 1–12.

Sato, E.M., Tanaka, T., Miyata, T., 2006. Monooxygenase Activity in Methidathion Resistant and Susceptible Populations of *Amblyseius wormersleyi* Schicha (Acari: Phytoseiidae). Experimental Applied Acarology, 39, 13-24.

Sato, E.M., Tanaka, T., Miyata, T., 2007. A Cytochrome p450 Gene Involved in Methidathion Resistance in *Amblyseius wormersleyi* Schicha (Acari: Phytoseiidae), Pesticide Biochemistry and Physiology, 88, 337-345.

Schulten, G.G.M., Van De Klashorst, G., Russell, V.M., 1976. Resistance of *Phytoseiulus persimilis* A.-H. (Acari: Phytoseiidae) to Some Insecticide. Z Angew Entomology, 80, 337-341.

Schulten, G.G.M., Van De Klashorst, G., 1979.. Genetics of Resistance to Parathion and Demeton-S-methly in *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). Proceedings of 4th International Congre, Saalfalden, Austria, 519-524.

Stumpf, N., Nauen, R., 2002. Biochemical Markers Linked to Abamaectin Resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Pesticide Biochemistry and Physiology, 72, 111-121.

Susurluk, H., 2008. İki Benekli Kırmızıörümcek *Tetranychus urticae* Koch (Acarina:Tetranychidae)'de Piretroid İnsektisitlere Karşı Oluşan Direncin Moleküler Karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.

Sokal, R.R., Rohlf, FJ., 1995. Biometry, 3rd edition. W.H Freeman and Co., New York, NY, pp: 887 (1995).

Stone, B.F., 1968. Aformula Determining Degree of Dominance in Cases of Monofactorial Inheritance of Resistance to Chemeicals. Bull. World Health Organisation, 38, 325-326.

Şekeroğlu, E., Kazak, C., 1993. First Record of *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) in Turkey. Entomophaga, 38(3), 343- 345.

Thistlewood, H.M.A., Pree, D.J., Crawford, L.A., 1992. Comparison of Slide Dip and Petri Dish Assays for Measuring Resistance to Permethrin in *Amblyseius fallacis* (Acari: Phytoseiidae). Journal of Economic Entomology, 85(6), 2051-2057.

Tirello, P., Pozzebon, A., Duso, C., 2012. Resistance to Chlorpyriphos in the Predatory Mite *Kampimodromus aberrans*. Experimental and Applied Acarology, 56, 1-8.

Tsagkarakou, A., Pasteur, N., Cuany, A., Chevillon, C., Navajas, M., 2002. Mechanisms of Resistance to Organophosphates in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) from Greece. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 32, 417-424.

Uygun, N., Ulusoy, M.R., Karaca, İ., Şekeroğlu, E., 1991. Doğu Akdeniz Bölgesi Turunçgil Bahçelerinde Zararlılara Karşı Biyolojik Mücadele. Çukurova I. Tarım Kongresi Bildirileri, Adana, 9-11 Ocak, 503-515.

Van Leeuwen, T., Stillatus, V., Tirry, L., 2004. Genetic Analysis and Cross-Resistance Spectrum of a Laboratory-Selected Chlorfenapyr Resistant Strain of Two-Spotted Spider Mite (Acari: Tetranychidae). Experimental and Applied Acarology, 32, 249–261.

Whalon, M.E., Croft, B.A., Mowry, T.M., 1982. Introduction and Survival of Susceptible and Pyrethroid-Resistant Strains of *Amblyseius fallacis* (Acari:Phytoseiidae) in a Michigan Apple Orchard. Environmental Entomololgy, 11, 1096-1099.

Winer, B.J., Brown, D.R., Michels, K.M., 1991. Statistical Principles in Experimental Design. Third edition, ISBN 0-07-070982-3, New York, 552.

Yorulmaz, S., Ay, R., 2009. Multiple Resistance, Detoxifying Enzyme Activity, and Inheritance of Abamectin Resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae). Turkish Journal of Agricultural Forestry, 33, 393-402.

Yorulmaz, S., Ay, R., 2012. Isparta İli Elma Bahçelerinden Toplanan Avcı Akar *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) Popülâsyonlarının Bazı Akarisitlere Karşı Direnç Düzeyleri ve Direnç Mekanizmaları. Süleyman Demirel Universitesi,, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 16, 122-132.

Yorulmaz Salman, S., Ay, R. 2013 (a). Avcı akar *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) poülasyonlarının üç farklı akarisite karşı duyarlılık ve detoksifikasyon enzim düzeylerinin belirlenmesi. Türk. Entomol. Derg., 37 (1), 105-116.

Yorulmaz Salman, S., Ay, R., 2013 (b). Analysis of Hexythiazox Resistance Mechanisms in Laboratory Selected Predatory Mite *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). Turkish Journal of Entomology, 37 (4), 409-422.

Yorulmaz Salman, S., Ay, R., 2014. Determination of the Inheritance, Cross Resistance and Detoxifying Enzyme Levels of a Laboratory-Selected, Spiromesifen-Resistant Population of the Predatory Mite *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). Pest Management Science, 70(5), 819-826.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Fatma AYDINLI
Doğum Yeri ve Yılı : Mustafakemalpaşa, 1986
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : fatmaydnl@gmail.com

Eğitim Durumu

Lise : Mustafakemalpaşa Yabancı Dil Ağırlıklı Lise, 2004
Lisans : Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü

Yayınları

Yorulmaz Salman, S., Aydınlı, F., Ay, R., 2014. Predator akar *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae)'un dört farklı popülâsyonunun spirodiclofen, hexythiazox, etoxazole karşı direnç düzeyleri ve direnç mekanizmalarının belirlenmesi. Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi

Yorulmaz Salman S., Yaman Y., Aydınlı F., Ay, R., 2013. Avcı Akar *Neoseiulus californicus* (McGregor)((Acari: Phytoseiidae) Popülâsyonlarının Milbemectin'e Karşı Direnç Düzeyleri, Sinerjistleri ve Detoksifikasyon Enzimlerinin Belirlenmesi. Tarım Bilimleri Dergisi (Journal of Agricultural Sciences), 19(3): 207-218.

Yorulmaz Salman, S., Sarıtaş, S., Kara, N., Aydınlı, F., Ay, R., 2014. Contact, Repellency and Ovicidal Effects of Four Lamiaceae Plant Essential Oils against *Tetranychus urticae* Koch (Acari:Tetranychidae). Journal of Essential Oils Bearing Plants, DOI:10.1080/0972060X.2014.914856

Yorulmaz Salman, S, Aydınlı, F. ve Ay, R. 2015. Etoxazole Resistance in Predatory Mite *Phytoseiulus persimilis* A.-H. (Acari: Phytoseiidae): Cross-resistance, Inheritance and Biochemical Resistance Mechanisms. Pesticide Biochemistry and Physiology, (in press).

Yorulmaz Salman, S., Aydınlı, F, Ay, R., 2015. Selection for resistance: Cross-resistance, inheritance, synergists and biochemical mechanisms of resistance to acequinocyl in *Phytoseiulus persimilis* A.H. (Acari: Phytoseiidae). Crop Protection, 67, 109-115.

Yorulmaz Salman, S., Aydınlı, F., Turan, İ., Ay, R., 2014. Bazı Akarisitlerin *Neoseiulus californicus* (McGregor) ve *Phytoseiulu spersimilis* A.-H. (Acari: Phytoseiidae)'de Yan Etkilerinin Belirlenmesi. V. Bitki Koruma Kongresi, Bildiri Kitabı sayfa:323, 3-5 Şubat 2014, Antalya.

Yorulmaz Salman, S., Sarıtaş, S., Aydınlı, F., Kara, N., Ay, R., 2014. Ada çayı (*Salvia officinalis*) ve Biberiye (*Rosmarinus officinalis*) Ekstraktlarının *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)'ye Akarisit Etkilerinin Belirlenmesi. V. Bitki Koruma Kongresi, Bildiri Kitabı sayfa:63, 3-5 Şubat 2014, Antalya.

Yorulmaz Salman, S., Sarıtaş, S., Aydınlı, F., Kara, N., Ay, R., 2014. Lavanta (*Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel.) ve Çördük Otu (*Hyssopus officinalis*) Uçucu Yağlarının *Tetranychus urticae* Koch (Acari:Tetranychidae)'ye Toksik Etkilerinin Belirlenmesi V. Bitki Koruma Kongresi, Bildiri Kitabı sayfa 65, 3-5 Şubat 2014, Antalya.