

Isparta İli Elma Bahçelerinden Toplanan Avcı Akar *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) Popülasyonlarının Bazı Akarisitlere Karşı Direnç Düzeyleri ve Direnç Mekanizmaları

Sibel YORULMAZ^{1*}, Recep AY¹

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü / ISPARTA
Alınış Tarihi:05.05.2012, Kabul Tarihi:25.05.2012

Özet: Bu çalışmada, Isparta ili elma bahçelerinden 2010 yılında toplanan avcı akar, *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) popülasyonlarının spiromesifen, spiroadiclofen ve hexythiazox'a karşı duyarlılık düzeyleri biyoassaylerle belirlenmiştir. Ayrıca popülasyonlarda direnç mekanizmaları biyokimyasal enzim assayleri ve PBO, IBP ve DEM sinerjistleri kullanılarak incelenmiştir. *N. californicus* popülasyonlarının LC₅₀ değerlerinin belirlenmesi için belirli konsantrasyon serilerinde hazırlanan ilaç çözeltileri yaprak diskleri üzerindeki akarlar ilaçlama kulesi (Spray Tower) ile doğrudan püskürtülmüştür. 2010 yılında elma bahçelerinden 8 farklı *N. californicus* popülasyonu toplanmıştır. Eğirdir- Boğazova, Eyüpler-1, Eyüpler-2, Gelendost-1, Gelendost-3, Gelendost-8, Gökdere ve Sarıdris'den alınan popülasyonlarda spiromesifen'e karşı sırasıyla 5.87, 5.44, 7.09, 4.87, 7.61, 6.87, 4.35 ve 5.86 kat; hexythiazox'a karşı 5.65, 7.27, 8.01, 7.07, 7.35, 5.56, 3.75 ve 7.88 kat ve spiroadiclofen'e karşı 8.48, 7.71, 8.60, 5.07, 7.09, 6.08, 5.63 ve 8.29 kat direnç belirlenmiştir. Biyokimyasal enzim esseyleri için popülasyonlarda glutathion S-transferaz (GST) ve asetilkolinesteraz (AChE) enzimleri kinetik yöntemle, esteraz enzimi elektroforez ve kinetik yöntemlerle belirlenmiştir. 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.

Anahtar kelimeler: *Neoseiulus californicus*, elma, akarisit, direnç, sinerjist, enzim

Resistance Level and Resistance Mechanisms in Predatory Mite *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) Populations Collected from the Apple Orchards in Isparta to Some Acaricides

Abstract: This study aimed to determine the susceptibility levels of *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) populations collected from the apple orchards in Isparta in 2010 to spiromesifen, spiroadiclofen and hexythiazox by using bioassay methods. In addition, mechanism of resistance in populations were determined by using biochemical methods and PBO, IBP and DEM synergist. Pesticide concentrations which are prepared in certain concentration series were sprayed directly to predator mites on leaf discs by Spray Tower in order to determine the LC₅₀ values of *N. californicus* populations. In 2010, eight *N. californicus* populations were collected from the apple orchards. According to LC₅₀ values, compared susceptible populations, resistance of Eğirdir- Boğazova, Eyüpler-1, Eyüpler-2, Gelendost-1, Gelendost-3, Gelendost-8, Gökdere and Sarıdris populations collected from the orchard in 2010 is determined to be 5.87, 5.44, 7.09, 4.87, 7.61, 6.87, 4.35 and 5.86 fold to spiromesifen; to be 5.65, 7.27, 8.01, 7.07, 7.35, 5.56, 3.75 and 7.88 fold to hexythiazox; and to be 8.48, 7.71, 8.60, 5.07, 7.09, 6.08, 5.63 and 8.29 fold, respectively. Moreover, the effect of the PBO, IBP and DEM synergists on pesticides was examined. Enzymes of S-transferase (GST), monooxygenases (MO) and acetylcholinesterase (AChE) in the populations were determined by using the kinetic method; and the enzyme of esterase was determined by using the electrophoresis and kinetic methods. The determined enzyme activity ranges of esterase glutathion S-transferaz (GST) ve asetilkolinesteraz (AChE) were between from 7,748 to 10,211, from 1,23 to 1,74 and from 0,010 to 0,045 mOD/min/mg proteins, respectively.

Key words: *Neoseiulus californicus*, apple, acaricide, resistance, synergist, enzyme,

Giriş

Isparta ili uygun ekolojik koşulları nedeniyle elma yetiştiriciliği bakımından ülkemizde önemli bir potansiyele sahiptir. Türkiye İstatistik Kurumu'nun 2010 yılı verilerine göre, ülkemizde yaklaşık 2.500.000 ton toplam elma üretimi içerisinde 533.416 ton elma üretimi ile Isparta ilinin önemli bir payı bulunmaktadır (Anonim, 2011a). Elma bahçelerinde elma içkurdundan sonra en fazla savaşım yapılan zararlılar arasında kırmızıörümcekler yer almaktadır. Avrupa kırmızıörümceği *Panonychus ulmi* Koch (Acari: Tetranychidae) ve iki noktalı kırmızıörümcek *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) elma bahçelerinde önemli zararlara neden olmaktadır. Isparta ilinde elma üreticileri zararlılarla savaşımında çoğunlukla

kimyasal savaşımı tercih etmektedir. Isparta Tarım İl Müdürlüğü'nün 2010 yılı verilerine göre Isparta'da 109 tonu insektisitler ve 36 tonu akarisitler olmak üzere toplam 857 ton pestisit kullanılmıştır (Anonim, 2011b). Elma bahçelerindeki zararlı akar türlerini baskı altında tutabilen Phytoseiidae familyası içerisinde yer alan avcı akar türleri bulunmaktadır. Predatör akarlar dünyada elma bahçelerinde zararlı akarların kontrol programlarında çok uzun yıllardan beri kullanılmaktadır (Bowie et al., 2001). *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) fitofag akarların kontrolünde kullanılan etkin ve yaygın akar türlerinden bir tanesidir (Castagnoli and Simoni, 1999). Elma bahçelerinde uygulanan yoğun ilaçlama programı zararlıları kontrol altına alırken, yararlılar üzerinde

*sibelyorulmaz@sdu.edu.tr

olumsuz etkilere sebep olmaktadır. Bunun yanı sıra zaman zaman faydalı türlerin de ilaçlara direnç geliştirdiği bilinmektedir. Bazı pestisitlere karşı direnç geliştiren doğal düşmanların entegre mücadele programları içerisinde kullanılacakları belirtilmektedir. IPM'in bir bölümünü oluşturan pestisit direnç yönetim programlarında zararlı türlerde direnç gelişimi istenmezken doğal düşmanların pestisitlere karşı dayanıklı olmaları istenmektedir (Sato et al., 2000).

Son yıllarda Isparta'da bulunan elma bahçelerinde yoğun olarak *N. californicus* varlığı tespit edilmiştir (Yorulmaz ve Ay, 2011). Zararlılara karşı yoğun ilaçlama programı uygulanan bu alanlarda avcı akarın bulunma sıklığı ve popülasyonu yoğunluğu fazladır. Bu nedenle avcı akarın elma bahçelerinde yoğun kullanılan bazı ilaçlara karşı direnç geliştirebileceği düşünülmüştür. Yapılan bu çalışmada, zararlı kırmızıörümceklerin önemli bir avcısı olan *N. californicus*'un elma bahçelerinden toplanan popülasyonlarının spiromesifen, spiroadiclofen, hexythiazox'a karşı duyarlılık düzeyleri bioassay ve biyokimyasal yöntemlerle incelenerek direnç düzeyleri ve direnç mekanizmalarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Neoseiulus californicus popülasyonlarının toplanması ve yetiştirilmesi

Çalışmanın ana materyalini 2010 yılında Isparta ili Gelendost ve Eğirdir ilçelerinden elma bahçelerinden toplanan *N. californicus* popülasyonları oluşturmuştur (Çizelge 1). Arazi çalışmaları sırasında avcı akar bireylerinin besini olan *T. urticae* ve *P. ulmi* bireyleri bulunan yaprak örnekleri toplanmıştır. Toplanan örnekler poşet içerisine konularak etiketlenmiştir. Laboratuvara getirilen örnekler temiz barbunya bitkileri üzerine aktararak kültüre alınmıştır. Isparta ili Eğirdir ilçesinde bulunan Meyvecilik Araştırma İstasyon Müdürlüğündeki organik elma bahçesinden 2008 yılında toplanarak Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünde bulunan iklim odasında yetiştirilen *N. californicus* popülasyonu hassas popülasyon olarak kullanılmıştır. *N. californicus* popülasyonları 26±1 °C sıcaklıkta %60-65 nem ve 16:8 fotoperiyot koşullarının sağlandığı iklim odalarında yetiştirilmiştir.

Çizelge 1. Elma bahçelerinden toplanan *Neoseiulus californicus* örnekleri

Örneğin toplandığı yer	Tarih
Eğirdir- Boğazova	12/08/2010
Eyüpler-1	12/08/2010
Eyüpler-2	12/08/2010
Gökdere	12/08/2010
Sarıdris	12/08/2010
Gelendost-1	12/08/2010
Gelendost-3	12/08/2010
Gelendost-8	12/08/2010

Popülasyonların birbirleriyle bulaşmalarını engellemek amacıyla içerisinde su dolu küvetler bulunan kafesler içerisinde yetiştirilmiştir.

Pestisitler

Çalışmalarda spiroadiclofen (Envidor SC 240), hexythiazox (Twister 5 EC), spiromesifen (Oberon SC 240) etkili maddeye sahip ilaçlar kullanılmıştır. İnsektisit-akarisit özelliği bulunan spiromesifen ve akarisit özelliği bulunan spiroadiclofen tetronik asit yapısında, lipid sentezi engelleyici olarak kullanılan ilaçlardır. Akarisitler grubu içerisinde yer alan hexythiazox da lipid sentezi engelleyicisidir (Öncüer ve Durmuşoğlu, 2008). Üretici firmalar tarafından spiromesifen ve spiroadiclofen ilaçları kırmızıörümceklerde ergin ve ergin öncesi dönemlere önerilirken, hexythiazox ilacı ise yalnızca ergin öncesi dönemde önerilmektedir.

Metot

Bioassaylar

Denemede kullanılan ilaçların kırmızıörümceklerde ergin öncesi döneme etkili olmaları nedeniyle bioassay çalışmaların tamamında 0-24 saatlik nimfler kullanılmıştır. Bu yöntemde seçilen ilaçlar saf su içinde çözdürülerek uygun dozlar hazırlanmıştır. Hazırlanan ilk dozdan itibaren ilaç konsantrasyonları %50 seyreltilerek denemeler 1 kontrol + 7 doz serisi ve 3 tekerrürlü olacak şekilde kurulmuştur. Nem sağlamak amacıyla ıslatılmış pamukla kaplı 9 cm. çapındaki petrilere üzerinde barbunya bitkisinden hazırlanan yaprak diskler yerleştirilmiştir. . Yaprak disk üzerine 25 adet 0-24 saatlik avcı akar nimfleri binoküler altında yumuşak uçlu fırça yardımıyla aktarılmıştır. Petrilere spray tower (Burkard Scientific) kullanılarak 1 atm basınç altında yaprak yüzeyine 2 ml sıvı düşecek şekilde ilaç püskürtülmüştür. Kontrole sadece saf su uygulanmıştır. Ayrıca yaprak disk üzerine av olarak kullanılmak üzere yaklaşık elli tane *T. urticae* aktarılmıştır. Ölü-canlı sayımları 7. günde yapılmıştır. Elde edilen verilerden yararlanarak avcı akar popülasyonlarının LC₅₀ değerleri POLO bilgisayar paket programında (LeOra Software, 1994) hesaplanmıştır. Avcı akar popülasyonlarının belirlenen LC₅₀ değerlerinin hassas popülasyonun LC₅₀ değerine bölünmesi ile direnç katları bulunmuştur.

Sinerjist + ilaç testleri

Sinerjistler, ilaçlarla birlikte (ya da peşi sıra) kullanıldıklarında popülasyonlar üzerinde elde edilen sinerjizm oranları, olası direnç mekanizmaları hakkında bilgiler sunmaktadır. Bu çalışmada, monoksijenaz enzim inhibitörü piperonyl butoxide (PBO) (2000µl/l) (Leeuwen et al., 2004), esteraz enzim inhibitörü S-Benzyl-O,O-diisopropyl phosphorothioate (IBP) (200 µl/l) (Kim et al., 2004) ve GST enzim inhibitörü diethylmaleate (DEM) (2000µl/l) (Leeuwen et al., 2004) sinerjistleri kullanılmıştır. Sinerjist+ilaç çalışmalarında avcı akarın 0-24 saatlik nimfleri kullanılmıştır. Denemeler bioassay çalışmalarında anlatıldığı gibi, 1 kontrol+7 doz ve 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Sinerjistler 1:1 oranında

aseton: saf su içerisinde çözülmüştür. Hazırlanan sinerjistik çözeltileri ilaçlama kulesinde petrilere 1 atm. basınç altında 1 ml olarak püskürtülmüştür. Ayrıca yaprak disk üzerine av olarak kullanılmak üzere *T. urticae* aktarılmıştır. İçerisinde avcı akar bulunan petrilere 24 saat boyunca 26±1 °C sıcaklıkta %60-65 nem ve 16:8 sa (aydınlık:karanlık) fotoperiyot koşullarının sağlandığı iklim odalarında tutulmuştur. Sinerjistik uygulaması yapılan avcı akarlar 24 saat sonra ilaç solüsyonları uygulanmıştır. Kontrolde sadece sinerjistik uygulanmıştır. Ölü-canlı sayımları 7. günde yapılmıştır. Elde edilen verilerden yararlanarak farklı akar popülasyonlarının LC₅₀, değerleri POLO bilgisayar paket programında hesaplanmıştır.

Sinerjistik etki oranı: Sinerjistsiz LC₅₀/ Sinerjistik LC₅₀ formülü ile hesaplanmıştır (Kim et al., 2004).

Biyokimyasal testler

Poliakrilamid jel elektroforez (PAGE) ile esteraz enziminin incelenmesi

Elektroforez çalışmalarında Ay ve Gürkan (2005)'in yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. Elektroforez işleminde farklı yoğunlukta iki poliakrilamid jel kullanılmıştır. Jel dökme standı hazırlandıktan sonra %7.5'lük poliakrilamid jel dökülmüş ve cam plakaların üst kısmında 2 cm'lik bir boşluk bırakılmıştır. Yaklaşık 30 dk sonra hazırlanan %3.5'lik poliakrilamid jel pastör pipet ile jel standına dökülmüştür. Taraklar yerleştirildikten sonra geniş delikli jelin polimerize olması beklenmiştir. Jel hazırlandıktan sonra elektroforez tankına yerleştirilerek alt ve üst tank elektrot buffer (Glycine buffer, pH:8.3) ile doldurulmuştur. 5 adet ergin dişi birey 50 µl homojenizasyon buffer (%0.1 Triton X-100 içeren %32'lik sukroz) içerisinde plastik ezici ile ezilmiştir. Polimerizasyondan sonra her bir jel hücrelerine 10 µl homojenat yerleştirilmiştir. Elektroforezde koşturma işlemi 150 V' da yaklaşık 1.5 saat'te tamamlanmıştır. 0.2 M fosfat buffer (pH 6.5 ve %1 aseton içeriyor) ile %0.02 lik α-naphthyl asetat solüsyonu hazırlanmıştır. Jel bu çözeltide esteraz enzimi inkübasyonu için 30 dk bekletilmiştir. %0.02'lik α-naphthyl asetat solüsyonu ile %0.4 oranında fast blue BB salt boya solüsyonu hazırlanmış ve jel bu çözeltide 1 saat boyanmıştır. Boyama işlemi bittikten sonra jel %7'lik asetik asit çözeltisi içerisine alınmış ve 24 saat sonra görüntüleme cihazında fotoğrafı çekilmiştir.

Neoseiulus californicus'un toplam esteraz enziminin kinetik olarak belirlenmesi

Esteraz aktivitesinin kinetik olarak belirlenmesinde Stumpf ve Nauen (2002)'in geliştirdikleri yöntem kullanılmıştır. Bu assayde, α naphthyl asetat substrat olarak kullanılmıştır. 20 adet ergin dişi 100 µl sodyum fosfat buffer (0.1M, pH 7.5) (%0.1 Triton X-100 içeren) içinde plastik ezici yardımıyla eppendorf tüplerde ezilmiştir. Bu homojenat 10000 g, +4 °C'de ve 5 dk santrifüj edildikten sonra enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. Enzim kaynağı olarak kullanılan supernatant 10 kez seyreltilmiştir. Mikroplakanın hücrelerine 25 µl supernatant ve 25 µl

fosfat buffer (0.2 M, pH:6) konulmuştur. Çalışma hücrelere 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 naphthyl asetat'ın eklenmesiyle elde edilmiştir. Enzim aktivitesi 23 °C, 450 nm'de 10 dk süreyle okunmuştur. Kontrol hücreleri ise homojenatsız olarak okunmuştur. Enzim okumaları en az üç tekrarlolu olacak şekilde yapılmıştır.

Neoseiulus californicus'un glutathion S-transferaz (GST) enziminin kinetik olarak incelenmesi

GST enziminin kinetik olarak belirlenmesinde Stumpf ve Nauen, (2002)'in geliştirdikleri yöntem kullanılmıştır. 30 ergin dişi 300 µl Tris HCL buffer (0.05M, pH:7.5) içinde eppendorf tüplerde plastik ezici yardımıyla ezilmiştir. Supernatant 10000g, +4 °C'de 5 dk santrifüj edilmiştir. 100 µl supernatant, 100 µl 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) ve 100 µl reduced glutathione (GSH)'dan oluşan toplam hacim mikroplaka hücrelerine konulmuştur. CDNB %0.1 ethanolde hazırlanmış ve final konsantrasyonda hücrelerde 0.4 mM CDNB bulunmuştur. Reduced glutathion (GSH) Tris HCL bufferda hazırlanmış ve final konsantrasyonda hücrelerde 4 mM GSH bulunmuştur. Absorvanstaki değişim 340 nm, 25 °C'de ve 5 dk'da okunmuştur. Enzim okumaları en az üç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.

N. californicus'un asetilkolinesteraz (AChE) enziminin kinetik olarak incelenmesi

Asetilkolinesteraz belirlenmesinde Stumpf et al. (2001) yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. *N. californicus*'un 50 ergin dişisi eppendorf tüp içinde bulunan 500 µl %0.1 Triton X-100 içeren fosfat buffer (0.1M pH:7.5) içinde plastik ezici ile homojenize edilmiştir. Buz içinde 20 dakika dokuların çözülmesi beklendikten sonra, homojenat 10 000 g, 4 °C'de ve 5 dk santrifüj edilerek elde edilen supernatant enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. AChE aktivitesini ölçmek için mikroplaka hücrelerine 100 µl acetylcholine iodide (ATChI), 100 µl 5,5-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) ve 100 µl enzim solüsyonu ilave edilmiştir. 300 µL'lik final konsantrasyonunda her bir maddenin miktarı 0.5 mM olmuştur. AChE aktivitesi kinetik mikroplaka okuyucuda 23 °C de 412 nm'de 20 dakikada ölçülmüştür. Kontrol hücreleri ise homojenatsız olarak okunmuştur. Okumalar en az üç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.

Biyokimyasal çalışmalarda, 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 popülasyonlar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır (Winer et al., 1991).

Bulgular

Bioassay Sonuçları

Isparta ili elma bahçelerinden toplanan 8 farklı *N. californicus* popülasyonlarının spiromesifen, spirodiclofen ve hexythiazox'a karşı duyarlılık düzeyleri, ve ayrıca sinerjist ve enzim aktiviteleri ile direnç mekanizmaları belirlenmiştir. *N. californicus* popülasyonlarında spiromesifen'e karşı 4.35-7.61 kat arasında değişen direnç oranları belirlenmiştir (Çizelge 2). Spiromesifen'e karşı en yüksek direnç oranı Gelendost-3 popülasyonu (7.61 kat), en düşük direnç oranı ise Gökdere popülasyonunda (4.35 kat) bulunmuştur.

N. californicus popülasyonlarında spirodiclofen'e karşı 5.07-8.60 kat arasında değişen direnç belirlenmiştir (Çizelge 3). Spirodiclofen'e karşı en yüksek direnç Gelendost-3 popülasyonunda (8.60 kat), en düşük direnç ise Gelendost-8 popülasyonunda (5.07 kat) bulunmuştur.

N. californicus popülasyonlarında hexythiazox'a karşı 3.75-8.01 kat arasında değişen direnç belirlenmiştir (Çizelge 4). Hexythiazox'a karşı en yüksek direnç Gelendost-3 popülasyonunda (8.01 kat), en düşük direnç Gökdere popülasyonunda (3.75 kat) bulunmuştur.

Çizelge 2. *Neoseiulus californicus* popülasyonlarının spiromesifen'e karşı belirlenen LC₅₀ değerleri ve direnç oranları

Popülasyon	n*	Eğim±se	LC ₅₀ µl/100 ml (%95 Güven aralıkları)	R**
Eğirdir-Boğazova	711	1.615±0.614	19.75 9.95-31.08	5.87
Eyüpler-1	631	1.196±0.116	18.28 11.52-27.00	5.44
Eyüpler-2	704	1.718±0.272	23.83 21.6-41.39	7.09
Gelendost-1	659	1.594±0.177	16.08 5.80-27.33	4.87
Gelendost-3	690	1.135±0.119	25.58 14.73-41.22	7.61
Gelendost-8	691	1.341±0.148	23.10 10.23-93.65	6.87
Gökdere	687	1.707±0.156	14.64 11.28-18.24	4.35
Sarıdris	696	1.578±0.179	19.71 7.21-32.30	5.86
Hassas popülasyon	603	1.635±0.138	3.36 3.00-4.60	-

*n: denemede kullanılan birey sayısı

**R: direnç oranı

Çizelge 3. *Neoseiulus californicus* popülasyonlarının spirodiclofen'e karşı belirlenen LC₅₀ değerleri ve direnç oranları

Popülasyon	n*	Eğim±se	LC ₅₀ µl/100 ml (%95 Güven aralıkları)	R**
Eğirdir-Boğazova	600	1.338±0.118	23.58 18.66-29.49	8.48
Gelendost-1	603	1.391±0.125	21.46 16.75-26.98	7.71
Gelendost-3	728	1.363±0.121	23.92 16.41-33.49	8.60
Gelendost-8	611	1.318±0.114	14.12 11.52-18.15	5.07
Eyüpler-1	603	1.277±0.135	19.73 15.43-23.83	7.09
Eyüpler-2	602	1.516±0.134	16.92 13.23-21.07	6.08
Gökdere	598	1.597±0.138	15.66 12.38-19.33	5.63
Sarıdris	600	1.389±0.114	23.07 18.82-28.24	8.29
Hassas popülasyon	604	1.700±0.139	2.78 2.25-3.36	-

*n: denemede kullanılan birey sayısı

**R: direnç oranı

Çizelge 4. *Neoseiulus californicus* popülasyonlarının hexythiazox'a karşı belirlenen LC₅₀ değerleri ve direnç oranları

Popülasyon	n*	Eğim±se	LC ₅₀ µl/100 ml (%95 Güven aralıkları)	R**
Eğirdir-Bozova	601	1.501±0.130	18.59 14.68-23.06	5.65
Gelendost-1	607	1.273±0.117	23.94 18.68-30.34	7.27
Gelendost-3	631	1.436±0.141	26.37 20.04-33.64	8.01
Gelendost-8	602	1.364±0.135	23.27 18.05-29.42	7.07
Eyüpler-1	600	1.390±0.125	24.12 16.95-33.33	7.33
Eyüpler-2	602	1.489±0.127	18.30 14.61-22.54	5.56
Gökdere	601	1.601±0.135	12.35 9.89-15.01	3.75
Sarıdris	605	1.281±0.123	25.95 19.88-33.27	7.88
Hassas popülasyon	604	1.601±0.135	3.29 2.63-4.02	-

*n: denemede kullanılan birey sayısı

**R: direnç oranı

Sinerjist + ilaç çalışma sonuçları

Spiromesifen+PBO'nun birlikte uygulanması sonucunda en düşük Gelendost-1 popülasyonunda 1.43 kat, en yüksek Sarıdris popülasyonunda ise 3.22 kat; spiromesifen+IBP'nin birlikte uygulanması sonucunda en düşük Gelendost-3 popülasyonunda <1 kat ve en yüksek Eyüpler-2 popülasyonunda 3.15 kat; spiromesifen+DEM'in birlikte uygulanması sonucunda ise en düşük Gelendost-1 popülasyonunda 1.45 kat ve en yüksek Gelendost-8 popülasyonunda 3.82 kat sinerjistik etki (sinerjizm) oranları belirlenmiştir (Çizelge 5).

Çizelge 5. *Neoseiulus californicus* popülasyonlarında spiromesifen ve spiromesifen+ sinerjistlerin LC₅₀ değerleri ve sinerjizm oranları

Popülasyonlar / Sinerjistsiz LC ₅₀ ve ilaç+sinerjist'li LC ₅₀	n*	Eğim±se	LC ₅₀ µl/100 ml (% 95 Güven aralıkları)	SR**
Eğirdir-Boğazova				
(Sinerjistsiz)	711	1.615±0.614	19.75 9.95-31.08	-
Spiromesifen+ PBO	604	1.432±0.126	8.36 6.53-10.45	2.36
Spiromesifen+IBP	604	1.471±0.134	7.51 5.76-9.48	2.62
Spiromesifen+DEM	529	1.333±0.134	8.08 6.46-9.45	2.44
Eyüpler-1				
(Sinerjistsiz)	631	1.196±0.116	18.28 11.52-27.00	-
Spiromesifen+ PBO	610	1.648±0.164	10.49 7.96-13.24	1.74
Spiromesifen+IBP	610	1.557±0.123	7.34 5.48-9.59	2.49
Spiromesifen+DEM	602	1.515±0.119	9.84 7.61-12.37	1.85
Gelendost-1				
(Sinerjistsiz)	659	1.594±0.177	16.08 5.80-27.33	-
Spiromesifen+ PBO	612	1.680±0.164	11.23 7.75-15.13	1.43
Spiromesifen+IBP	614	1.637±0.135	6.32 5.08-7.68	2.54
Spiromesifen+DEM	613	1.509±0.157	11.04 5.74-17.48	1.45
Gelendost-3				
(Sinerjistsiz)	690	1.135±0.119	25.58 14.73-41.22	-
Spiromesifen+ PBO	626	1.400±0.120	8.59 6.80-10.66	2.97
Spiromesifen+IBP	604	1.524±0.134	25.99 14.12-29.07	0.98
Spiromesifen+DEM	613	1.738±0.150	8.02 6.40-9.80	3.18
Gelendost-8				
(Sinerjistsiz)	691	1.341±0.148	23.10 10.23-93.65	-
Spiromesifen+ PBO	618	1.612±0.135	8.63 5.74-12.00	2.67
Spiromesifen+IBP	604	1.550±0.143	7.59 5.05-10.03	3.04
Spiromesifen+DEM	618	1.774±0.136	6.04 4.97-7.20	3.82
Gökdere				
(Sinerjistsiz)	687	1.707±0.156	14.64 11.28-18.24	-
Spiromesifen+ PBO	606	1.664±0.152	9.86 7.67-12.27	1.48
Spiromesifen+IBP	613	1.474±0.122	7.26 5.07-9.90	2.01
Spiromesifen+DEM	611	1.672±0.138	7.60 5.37-10.24	1.92

Çizelge 5'in devamı

Sanidris	n*	Eğim±se	LC ₅₀ µl/100 ml (% 95 Güven aralıkları)	SR**
(Sinerjistsiz)	696	1.578±0.179	19.71 7.21-32.30	-
Spiromesifen+ PBO	604	1.613±0.134	6.12 4.29-7.05	3.22
Spiromesifen+IBP	607	1.520±0.132	5.86 4.59-7.07	3.36
Spiromesifen+DEM	618	1.742±0.131	9.25 7.22-11.57	2.13
Eyüpler-2				
(Sinerjistsiz)	704	1.718±0.272	23.83 21.96-41.39	-
Spiromesifen+ PBO	603	1.430±0.129	7.80 6.00-7.94	3.05
Spiromesifen+IBP	604	1.649±0.141	6.35 5.03-7.79	3.75
Spiromesifen+DEM	603	1.419±0.126	8.81 6.86-11.03	2.70

*n: denemede kullanılan birey sayısı

**SR: Sinerjistik etki oranı

Spirodiclofen +PBO'nun birlikte uygulanması sonucunda en düşük Gökdere popülasyonunda <1 kat, en yüksek ise Eyüpler-1 popülasyonunda 2.14 kat; spirodiclofen+IBP'nin birlikte uygulanması sonucunda en düşük Gelendost-8 popülasyonunda <1 kat ve en yüksek Eğirdir-Boğazova popülasyonunda 1.90 kat; spirodiclofen+DEM'in birlikte uygulanması sonucunda ise en düşük Gelendost-8 popülasyonunda <1 kat ve en yüksek Gelendost-3 popülasyonunda 1.64 kat sinerjistik etki oranları belirlenmiştir (Çizelge 6).

Çizelge 6. *Neoseiulus californicus* popülasyonlarında spirodiclofen ve spirodiclofen+ sinerjistlerin LC₅₀ değerleri ve sinerjist etki oranları

Popülasyonlar / Sinerjistsiz LC ₅₀ ve ilaç+sinerjist'li LC ₅₀	n*	Eğim±se	LC ₅₀ µl/100 ml (%95 Güven aralıkları)	SR**
Eğirdir-Boğazova				
(Sinerjistsiz)	600	1.338±0.118	23.58 18.66-29.49	-
Spirodiclofen+PBO	602	1.648±0.142	11.27 8.93-13.84	2.09
Spirodiclofen +IBP	600	1.521±0.129	12.37 9.85-15.16	1.90
Spirodiclofen+DEM	600	1.494±0.128	14.79 11.64-18.33	1.59
Eyüpler-1				
(Sinerjistsiz)	603	1.277±0.135	19.73 15.43-23.83	-
Spirodiclofen +PBO	603	1.433±0.128	9.19 7.09-11.48	2.14
Spirodiclofen +IBP	601	1.351±0.122	10.69 8.22-13.42	1.84
Spirodiclofen+DEM	601	1.636±0.136	13.67 11.01-16.62	1.44
Gelendost-1				
(Sinerjistsiz)	603	1.391±0.125	21.46 16.75-26.98	-
Spirodiclofen +PBO	599	1.492±0.129	14.90 10.27-20.49	1.44
Spirodiclofen +IBP	609	1.593±0.132	12.70 10.21-15.48	1.68
Spirodiclofen+DEM	600	1.460±0.133	13.30 10.13-16.84	1.61

Çizelge 6'nın devamı

Gelendost-3				
(Sinerjistsiz)	728	1.363±0.121	23.92 16.41-33.49	-
Spirodiclofen +PBO	606	1.783±0.162	15.65 12.24-19.33	1.52
Spirodiclofen +IBP	602	1.667±0.146	13.55 10.63-16.76	1.76
Spirodiclofen+DEM	600	1.470±0.125	14.58 11.60-17.96	1.64
Gelendost-8				
(Sinerjistsiz)	611	1.318±0.114	14.12 11.52-18.15	-
Spirodiclofen +PBO	600	1.533±0.131	9.29 7.39-11.34	1.51
Spirodiclofen +IBP	602	1.583±0.132	14.47 11.56-17.73	0.97
Spirodiclofen+DEM	600	1.469±0.130	17.60 13.75-21.98	0.80
Gökdere				
(Sinerjistsiz)	598	1.597±0.138	15.66 12.38-19.33	-
Spirodiclofen +PBO	600	1.415±0.132	20.67 15.84-26.24	0.75
Spirodiclofen +IBP	600	1.480±0.128	11.10 8.74-13.70	1.41
Spirodiclofen+DEM	600	1.440±0.118	16.70 13.58-20.31	0.93
Sarıdris				
(Sinerjistsiz)	600	1.389±0.114	23.07 18.82-28.24	-
Spirodiclofen +PBO	600	1.692±0.134	12.05 9.94-14.39	1.91
Spirodiclofen +IBP	602	1.534±0.139	18.29 14.15-22.95	1.26
Spirodiclofen+DEM	600	1.423±0.130	21.39 16.59-26.93	1.07
Eyüpler-2				
(Sinerjistsiz)	602	1.516±0.134	16.92 13.23-21.07	-
Spirodiclofen +PBO	600	1.662±0.145	9.92 7.82-12.19	1.70
Spirodiclofen +IBP	601	1.533±0.128	13.66 10.95-16.71	1.23
Spirodiclofen+DEM	600	1.396±0.128	19.75 15.24-24.95	0.85

*n: denemede kullanılan birey sayısı

**SR: Sinerjistik etki oranı

Hexythiazox+PBO'nun birlikte uygulanması sonucunda en düşük Gökdere popülasyonunda 1.11 kat, en yüksek Gelendost-8 popülasyonunda 2.06 kat; hexythiazox+IBP'nin birlikte uygulanması sonucunda en düşük Gökdere popülasyonunda <1, en yüksek Sarıdris popülasyonunda 2.32 kat; hexythiazox+DEM'in birlikte uygulanması sonucunda ise en düşük Gökdere popülasyonunda <1 kat, en yüksek Eyüpler-1 popülasyonunda 2.62 kat sinerjistik etki oranları belirlenmiştir (Çizelge 7).

Çizelge 7. *Neoseiulus californicus* popülasyonlarında hexythiazox ve hexythiazox + sinerjistiklerin LC₅₀ değerleri ve sinerjistik etki oranları

Popülasyonlar / Sinerjistsiz LC ₅₀ ve ilaç+sinerjistikli LC ₅₀	n*	Eğim±se	LC ₅₀ µl/100 ml (%95 Güven aralıkları)	SR**
Eğirdir-Boğazova				
(Sinerjistsiz)	601	1.501±0.130	18.59 14.68-23.06	-
Hexythiazox +PBO	603	1.584±0.132	10.09 8.14-12.23	1.84
Hexythiazox +IBP	601	1.498±0.137	20.13 15.53-25.37	0.92
Hexythiazox+DEM	600	1.611±0.137	14.08 11.19-17.29	1.32
Eyüpler-1				
(Sinerjistsiz)	600	1.390±0.125	24.12 16.95-33.33	-
Hexythiazox +PBO	603	1.521±0.140	20.62 15.92-25.94	1.16
Hexythiazox +IBP	601	1.484±0.125	16.08 12.83-19.78	1.50
Hexythiazox+DEM	601	1.446±0.127	9.19 7.22-11.34	2.62
Gelendost-1				
(Sinerjistsiz)	607	1.273±0.117	23.94 18.68-30.34	-
Hexythiazox +PBO	603	1.784±0.162	12.41 9.69-15.35	1.92
Hexythiazox +IBP	603	1.647±0.147	17.07 9.47-26.61	1.40
Hexythiazox+DEM	599	1.497±0.122	13.51 10.97-16.38	1.77
Gelendost-3				
(Sinerjistsiz)	631	1.436±0.141	26.37 20.04-33.64	-
Hexythiazox +PBO	603	1.632±0.140	15.83 12.58-19.46	1.66
Hexythiazox +IBP	605	1.408±0.137	23.93 18.19-30.57	1.10
Hexythiazox+DEM	603	1.292±0.117	14.56 11.29-18.30	1.81
Gelendost-8				
(Sinerjistsiz)	602	1.364±0.135	23.27 18.05-29.42	-
Hexythiazox +PBO	602	1.644±0.141	11.27 8.93-13.82	2.06
Hexythiazox +IBP	600	1.561±0.169	13.58 10.90-16.57	1.71
Hexythiazox+DEM	600	1.554±0.141	18.94 14.70-23.73	1.22
Gökdere				
(Sinerjistsiz)	601	1.601±0.135	12.35 9.89-15.01	-
Hexythiazox +PBO	600	1.429±0.121	11.05 8.77-13.57	1.11
Hexythiazox +IBP	600	1.497±0.125	14.97 11.98-17.38	0.82
Hexythiazox+DEM	600	1.422±0.127	15.18 11.82-18.97	0.81

Çizelge 7'nin devamı

Sarıdris				
(Sinerjistsiz)	605	1.281±0.123	25.95 19.88-33.27	-
Hexythiazox +PBO	602	1.596±0.134	20.27 16.34-24.77	1.28
Hexythiazox +IBP	602	1.583±0.137	11.14 8.76-13.75	2.32
Hexythiazox+DEM	601	1.517±0.133	16.72 13.12-20.79	1.55
Eyüpler-2				
(Sinerjistsiz)	602	1.489±0.127	18.30 14.61-22.54	-
Hexythiazox +PBO	600	1.581±0.135	10.52 8.06-12.43	1.73
Hexythiazox +IBP	601	1.458±0.128	15.02 11.94-18.50	1.21
Hexythiazox+DEM	601	1.484±0.128	14.66 11.56-18.14	1.24

*n: denemede kullanılan birey sayısı

**SR: Sinerjistik etki oranı

Biyokimyasal test sonuçları

Biyokimyasal çalışmalar içerisinde *N. californicus* popülasyonlarının esteraz enzimleri hem elektroforetik hem de kinetik olarak incelenmiştir. Ayrıca *N. californicus* popülasyonlarının GST ve AChE enzim aktiviteleri de kinetik olarak belirlenmiştir.

Esteraz enzim aktivitesi sonuçları

En yüksek esteraz enzim düzeyi Gelendost-8 popülasyonunda 10,211 mOD/min/mg protein olarak belirlenmiştir. Gelendost-8 popülasyonu istatistiki olarak diğer popülasyonlardan farklı bir grubu oluşturmuştur (P<0.05). Gelendost-3 popülasyonu ise 7,748 mOD/min/mg protein değeri ile en düşük esteraz enzim seviyesine sahiptir ve istatistiki olarak diğer popülasyonlardan farklı bulunmuştur (Çizelge 8).

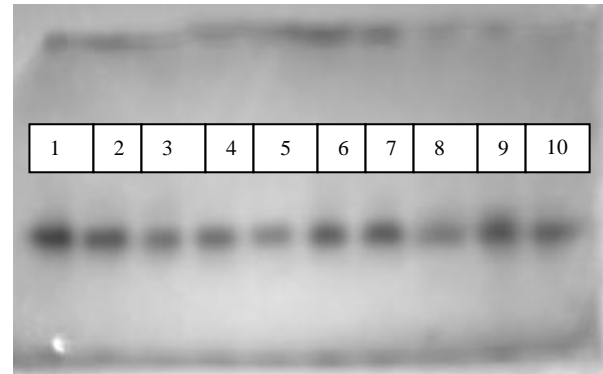
Çizelge 8. Neoseiulus californicus popülasyonlarının esteraz enzim aktiviteleri

Popülasyon	N*	mOD/min/mg protein	Enzim oranı
Eğirdir-Boğazova	4	9.796 C	<1
Eyüpler-1	4	9.019 C	<1
Eyüpler-2	4	9.105 C	<1
Gelendost-1	4	9.025 C	<1
Gelendost-3	4	7.748 D	<1
Gelendost-8	4	10.211 A	1.03
Gökdere	4	8.679 C	<1
Sarıdris	4	9.088 C	<1
Koppert	4	9.809 AB	<1
Hassas popülasyon	4	9.856 BC	-

*N: tekrür sayısı

Poliakrilamid jel elektroforez sonuçları

N. californicus popülasyonlarının esteraz enzimleri poliakrilamid jel elektroforez yöntemiyle belirlenmiş ve bantlar Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Neoseiulus californicus popülasyonlarının esteraz bantları (1: Gelendost-8, 2: Eğirdir-Boğazova, 3: Gökdere, 4: Eyüpler-2, 5: Hassas, 6: Koppert, 7: Gelendost-1, 8: Gelendost-3, 9: Sarıdris ve 10: Eyüpler-1)

N. californicus'un tüm popülasyonlarında esteraz enzimleri tek banttandır olduğu belirlenmiştir. Esteraz enzimlerinin poliakrilamid jelde oluşan bantları ve esteraz enzimlerinin kinetik olarak okunması sonucu elde edilen veriler birlikte değerlendirildiğinde, en yüksek esteraz enzim seviyesine sahip olan Gelendost-8 popülasyonunun diğer popülasyonlara göre daha kalın bir banta sahip olduğu belirlenmiştir. En düşük esteraz enzim seviyesine sahip Gelendost-3 ve hassas popülasyonlarının diğer popülasyonlarının bantlarına göre daha ince olduğu belirlenmiştir. Diğer popülasyonların ise bantları birbirine benzer bulunmuştur.

Glutation S-transferaz (GST) enzim aktivitesi sonuçları

N. californicus popülasyonlarının GST enzim seviyeleri verilmiştir. 1.74 mOD/min/mg protein değeri ile Eğirdir-Boğazova popülasyonu en yüksek GST enzim aktivitesine sahipken, Gelendost-3 popülasyonu ise 1.23 mOD/min/mg protein değeri ile en düşük GST enzim aktivitesi göstermiştir. Yüksek GST enzim aktivitesine sahip olan Eğirdir-Boğazova, Eyüpler-1, Eyüpler-2 ve Gökdere popülasyonları istatistiki olarak diğer gruplardan farklı bulunmuştur (P<0.05). Gelendost-8 ve Sarıdris popülasyonları hassas popülasyonla aynı grup içerisinde yer alırken; Gelendost-1 ve Gelendost-3 popülasyonları düşük GST enzim aktiviteleri ile istatistiki olarak farklı bir grubu oluşturmaktadırlar (Çizelge 9).

Çizelge 9. *Neoseiulus californicus* popülasyonlarının GST enzim aktiviteleri

Popülasyon	N*	mOD/min/mg protein	Enzim oranı
Eğirdir- Boğazova	3	1.74 A	1.32
Eyüpler-1	3	1.51 A	1.15
Eyüpler-2	3	1.50 A	1.14
Gelendost-1	3	1.24 C	<1
Gelendost-3	3	1.23 C	<1
Gelendost-8	3	1.36 AB	1.03
Gökdere	3	1.49 A	1.13
Sarıdris	3	1.42 AB	1.08
Koppert	3	1.25 C	<1
Hassas popülasyon	3	1.31 B	-

*N: tekrerrüt sayısı

N. californicus popülasyonlarının asetilkolinesteraz (AChE) enzim seviyeleri çizelge 10'da verilmiştir. Sarıdris ve Eyüpler-2 popülasyonları 0.045 mOD/min/mg ve 0.033 mOD/min/mg protein değerleri ile en yüksek seviyede AChE enzim aktivitesini göstermişler ve istatistiki olarak farklı bir grup oluşturmuşlardır. Hassas ve Eyüpler-1 popülasyonları ise en düşük AChE enzim aktivitesini göstermişler ve istatistiki olarak farklı bir grup içerisinde yer almışlardır (P<0.05).

Çizelge 10. *Neoseiulus californicus* popülasyonlarının AChE enzim aktiviteleri

Popülasyon	N*	mOD/min/mg protein	Enzim oranı
Eğirdir- Boğazova	4	0.026 B	1.85
Eyüpler-1	3	0.010 C	<1
Eyüpler-2	3	0.033 A	2.35
Gelendost-1	4	0.019 BC	1.35
Gelendost-3	3	0.024 B	1.71
Gelendost-8	3	0.019 BC	1.35
Gökdere	4	0.024 B	1.71
Sarıdris	4	0.045 A	3.21
Koppert	4	0.025 B	1.78
Hassas popülasyon	4	0.014 C	-

*N: tekrerrüt sayısı

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada zararlı kırmızıörümceklerin önemli ve etkili bir avcısı olan *N. californicus*'un arazi popülasyonlarının spiromesifen, spiroadiclofen ve hexythiazox'a karşı direnç düzeyleri ve direnç mekanizmaları biyoassay ve biyokimyasal yöntemlerle belirlenmiştir.

Hassas popülasyonla karşılaştırıldığında arazi popülasyonlarının tamamı spiromesifen, spiroadiclofen ve hexythiazox'a karşı LC₅₀ değerlerine göre dirençli bulunmuştur. *N. californicus* popülasyonlarında spiromesifen'e karşı 4.35 - 7.61 kat; spiroadiclofen'e karşı 4.10 - 8.48 kat ve hexythiazox'a karşı ise 3.75 - 9.79 kat aralıklarında değişen düzeylerde direnç belirlenmiştir. Sökeli et al. (2007), Isparta ili ve çevresindeki elma üretimi yapılan alanlardan toplanan *T. urticae* popülasyonlarında propargite, chlorpyrifos ve abamectin için sırasıyla <1.0-1.046, 2.341-40.206 ve <1.0-1.387 kat direnç belirlemiştir. Suh et al. (2006), sera ve elma bahçesinden toplanan *T. urticae* popülasyonlarında fenpyroximate ve pyridaben direnç oranlarını saptamışlardır. Bonafos et al. (2007) bağ alanlarından topladıkları avcı akarlar *Typhlodromus pyri* (Acari:Phytoseiidae) ve *Amblyseius andersoni* (Acari:Phytoseiidae) popülasyonlarının deltamethrin, lamda-cyhalothrin ve chlorpyrifos-ethyl'e karşı orta düzeyden yüksek düzeye kadar değişen oranlarda dirençli bulunmuşlardır. Yorulmaz vd. (2010), Isparta elma bahçelerinden topladıkları 13 adet *T. urticae* popülasyonunda cyhexatin'e karşı 1.24-3.36 kat, propargite karşı ise 1.23-3.18 kat arasında değişen direnç tespit etmişlerdir. Mugo et al. (2011), chlorpyrifosa karşı *Euseius kenya* (Acari: Phytoseiidae)'nın popülasyonlarında 1-10 kat arasında değişen düzeylerde direnç bulunmuşlardır. Tirello et al. (2012), bağ alanları ve elma bahçelerinden toplanan dört farklı *Kampimodromus aberrans* (Oudemans) (Acari: Phytoseiidae) popülasyonlarında 1.85-6.83 arasında değişen katlarda chlorpyrifos direnci belirlemiştir.

Sinerjistiklerle yapılan çalışmalarda, spiromesifen+PBO, spiroadiclofen+PBO ve hexythiazox+PBO'nun birlikte uygulanması sonucunda sırasıyla 1.43-3.22, <1-2.14 ve 1.11- 2.06 arasında değişen katlarda sinerjistik etki belirlenmiştir. Spiromesifen+PBO ile yapılan çalışmalar sonucunda *N. californicus* popülasyonları içerisinde spiromesifen'e karşı belirlenen en yüksek direnç katlarına sahip Gelendost-3 (7.61 kat) ve Eyüpler-2 (7.09 kat) popülasyonlarında en yüksek sinerjistik etki belirlenmiştir (sırasıyla 2.97-3.05 kat). Buna karşılık spiromesifen'e karşı en düşük dirence sahip Gökdere (4.35 kat) ve Gelendost-1 (4.87 kat) popülasyonlarında ise en düşük sinerjistik etki bulunmuştur (sırasıyla 1.48-1.43kat). Kang et al. (2006), *B. tabaci*'nin tarla popülasyonunda PBO ile 9 insektisit; TPP ile imidacloprid, fenvalerate, phoxim, chlorpyrifos, methamidophos'un; DEM ile avermectin ve methamidophos'un birlikte uygulanmaları sonucunda yüksek düzeyde sinerjizm oranı bulunmuşlardır. Spiroadiclofen+PBO'nun birlikte uygulanması sonucunda, spiroadiclofene'e karşı yüksek direnç belirlenen Eğirdir-Boğazova (8.48 kat), Sarıdris (8.29 kat) ve Eyüpler-1 (7.09 kat) popülasyonlarında yüksek seviyelerde sinerjistik etki belirlenmiştir (2.09, 1.91 ve 2.14 kat). Spiroadiclofen'e karşı düşük oranda direnç belirlenen Gökdere (5.63 kat) popülasyonunda ise sinerjistik etki <1'in altında bulunmuştur. Hexythiazox+PBO ile yapılan çalışmalar sonucunda *N. californicus* popülasyonları içerisinde hexythiazox'a karşı belirlenen yüksek direnç katlarına sahip Gelendost-8 (7.07 kat), Gelendost-1 (7.27

kat) ve Gelendost-3 (8.01 kat) popülasyonlarında en yüksek sinerjistik etki belirlenmiştir (sırasıyla 2.06, 1.92 ve 1.66 kat). Buna karşılık 3.75 kat ile hexythiazox'a karşı en düşük dirence sahip Gökdere popülasyonunda ise 1.11 kat ile en düşük sinerjistik etki bulunmuştur. Bu sonuçlar göz önüne alındığında spiromesifen, spirodiclofen ve hexythiazox'a karşı PBO ile yüksek düzeyde sinerjistik etki belirlenen popülasyonlar aynı zamanda söz konusu ilaçlara karşı yüksek seviyede direnç göstermişlerdir. Ancak spiromesifen, spirodiclofen ve hexythiazox üzerinde PBO'nun etkisinin daha iyi belirlenebilmesi açısından PBO sinerjisinin inhibitörü olduğu P450 monoksijenaz enziminin de avcı akar popülasyonlarında incelenmesi gerekmektedir. Sato et al. (2001) *A. womersleyi*'de monooksijenaz 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. Kim et al. (2006), pyridaben'e 240 kat dirençli *T. urticae*'de fenpyroximate için 373 kat, acrinathrin için 329 kat, benzoximate için 84 kat direnç tespit ettikleri çalışmada, PBO'nun pyridaben direnci üzerinde büyük etkisi olduğunu bulmuşlardır. Sato et al. (2006) methidathion'a 177 kat dirençli ve hassas *Amblyseius womersleyi*'de monooksijenaz aktivitesinin dirençli popülasyonda hassas popülasyona göre 3.60 kat arttığını belirlemişlerdir. Kwon et al. (2010), monocrofos'a karşı 3568 kat dirençli (AD) ve hassas (PyriF) *T. urticae* popülasyonlarında P450 monooksijenaz enzim aktivitesi arasında fark olmadığını belirlemişlerdir.

Esteraz enzim inhibitörü IBP ile yapılan çalışmalar sonucunda, spiromesifen+IBP, spirodiclofen+IBP ve hexythiazox+IBP'nin birlikte uygulanmasıyla <1-3.75, <1-1.90 ve <1-2.32 arasında değişen katlarda sinerjistik etki bulunmuştur. *N. californicus* popülasyonları içerisinde 7.09 kat ve 6.87 kat ile spiromesifen'e yüksek direnç gösteren Eyüpler-2 ve Gelendost-8 popülasyonlarında IBP sinerjisti için 3.75 kat ve 3.04 kat ile yüksek düzeyde sinerjizm oranı belirlenmiştir. Spirodiclofen+IBP sonuçlarına göre spirodiclofen'e karşı yüksek direnç belirlenen Eğirdir-Boğazova (8.48 kat), Eyüpler-1 (7.09 kat) ve Gelendost-3 (8.60 kat) popülasyonlarında yüksek sinerjistik etki belirlenmiştir (sırasıyla 1.90, 1.84 ve 1.76 kat). Hexythiazox+IBP uygulaması sonucunda ise hexythiazox'a karşı yüksek direnç belirlenen Sariidris (7.88 kat) popülasyonunda en yüksek sinerjistik etki (2.32 kat) belirlenirken; en düşük direnç belirlenen Gökdere (3.75 kat) popülasyonunda sinerjistik etki <1 altında bulunmuştur. Elektroferez sonucu elde edilen bantlarda Gelendost-8 popülasyonuna ait bantın biraz daha kalın olduğu belirlenirken, Gelendost-3 popülasyonuna ait bant ise hassas popülasyonla aynı bulunmuştur. Ayrıca esteraz enziminin kinetik olarak incelenmesi sonucunda en yüksek enzim düzeyi Gelendost-8 popülasyonunda belirlenmiştir. Gelendost-3 popülasyonunda en düşük esteraz enzimi belirlenirken, diğer popülasyonlarda esteraz enzim seviyesi hassas popülasyonla aynı bulunmuştur. Sonuçlar birlikte düşünüldüğünde *N. californicus*'un arazi popülasyonlarının bazılarında esteraz enziminin spiromesifen, spirodiclofen ve hexythiazox direnç gelişiminde etkili olduğu söylenebilir. Booth et al. (2007),

tarla ve laboratuvar koşullarında, lambda-cyhalothrin ve dimethoate'nin *Rhopalosiphon padi* (L.) ve afitin predatörü olan *Micromus tasmaniae* Walker üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, kolinesteraz enzimi dimethoate direncini etkilerken; GST enziminin lambda-cyhalothrin ve dimethoate direnci üzerine etkisi olmadığını belirlemişlerdir. Pottelberge et al. (2009), spirodiclofen'e 274 kat dirençli *T. urticae* popülasyonunda, spirodiclofen ve PBO, DEF sinerjistleri ile yapılan çalışma sonucunda dirençli *T. urticae* popülasyonunda P450 monooksijenaz, esteraz ve GST enzimlerinin direnç gelişiminde rol oynadığı bildirilmiştir. Sayyed et al. (2010), deltamethrin'e 896 kat dirençli *Chrysoperla carnae* popülasyonunda esteraz ve monooksijenaz enzim seviyelerinin arttığını belirlemişlerdir.

Glutathion S-transferaz enzim inhibitörü olan DEM sinerjisti ile yapılan çalışmalar sonucunda spiromesifen+DEM, spirodiclofen+DEM ve hexythiazox+DEM uygulamaları sonucunda sinerjizm oranları sırasıyla 1.45-3.18, <1-1.64 ve <1-2.62 kat olarak bulunmuştur. Spiromesifen+DEM uygulaması sonucunda spiromesifen'e karşı 7.61 kat ile en yüksek direnç belirlenen Gelendost-3 popülasyonunda 3.18 kat sinerjistik etki belirlenmiştir. Spirodiclofen+DEM uygulaması sonucunda spirodiclofen'e karşı en yüksek oranda direnç belirlenen Gelendost-3 (8.60 kat) ve Eğirdir-Boğazova (8.48 kat) popülasyonlarında 1.64 kat ve 1.59 kat ile en yüksek sinerjistik etkiler belirlenmiştir. Hexythiazox+DEM uygulaması sonucunda ise, hexythiazox'a karşı 7.33 kat ile yüksek dirence sahip Eyüpler-1 popülasyonunda 2.62 kat sinerjistik etki belirlenmiştir. GST enzim inhibitörü olan DEM sinerjisti ile yapılan çalışmalarla beraber GST enziminin kinetik olarak belirlenmesi sonucunda Eğirdir-Boğazova ve Eyüpler-1 popülasyonlarında en yüksek enzim seviyesi belirlenmiştir. Bu durumda bu popülasyonlarda direnç gelişiminde GST enziminin etkisi olduğu söylenebilir. Fournier et al. (1987), yaptıkları çalışmada, methidathion'a dirençli ve hassas *P. persimilis* popülasyonlarında yaptıkları çalışmada, methidathion direnci üzerinde GST enziminin etkili olduğunu bulmuşlardır.

N. californicus popülasyonlarının AChE enzim aktiviteleri ve direnç oranları birlikte değerlendirildiğinde, AChE enzim aktivitesi hassas popülasyon ve Eyüpler-1 popülasyonun da en az seviyede bulunmuş ve aynı grup içerisinde yer almıştır. *N. californicus*'un diğer arazi popülasyonlarında ise yüksek bulunmuş ve bunlar istatistiki olarak farklı grupta yer almıştır. en yüksek AChE enzim aktivitesi Sariidris ve Eyüpler-2 popülasyonlarında belirlenmiştir ve bu popülasyonlar istatistiki olarak farklı grupta yer almıştır. Sariidris ve Eyüpler-1 popülasyonlarının ilaçlara karşı yüksek oranda direnç geliştirdikleri görülmektedir. Bu durum direnç gelişiminde AChE enziminin etkisinin de olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca AChE enziminin organik fosforlu ve karbamatlı ilaçlarla ilişkisi olduğu bilinmektedir. *N. californicus*'un arazi popülasyonlarının elma bahçelerinde bu gruptan ilaçlara maruz kaldığı ve böylece AChE enziminin yükseldiği de diğer bir olasılıktır. Bu nedenle avcı akarın laboratuvarında bu

ilaçlara karşı seleksiyon baskısı sonucu direnç geliştiren popülasyonlarında da AChE enziminin incelenmesi gerekmektedir. Anber and Overmeer (1988), *Amblyseius potentillae* (Garman)'de substrat olarak acetylthiocholine kullanarak S ve A ırklarında 0.71 kat ve 0.35 kat asetilkolinesteraz enzimi belirlemişlerdir. Kumral et al. (2011), *Panonychus ulmi* ve avcısı *Stethorus gilvifrons*'da parathion-methyl direnci, karboksilesteraz enzim seviyesi ve AChE hassasiyetini benzer bulmuşlar ve *Stethorus gilvifrons*'un tarla koşullarında ilaçlara karşı direnç geliştirebileceği belirtilmiştir.

Bu çalışmada *N. californicus*'un arazi popülasyonlarının spiromesifen, spirodiclofen ve hexythiazox'a karşı direnç gelişim düzeyleri ve direnç mekanizmaları biyoassay ve biyokimyasal yöntemlerle belirlenmeye çalışılmıştır. Bu çalışmanın, *N. californicus*'da direnç mekanizmasının belirlenmesi için dünyada ve ülkemizde yapılan ilk çalışma olması ilerde bu tür üzerinde yapılacak olan sonraki çalışmalar için faydalı bilgiler sağlayabilir.

Teşekkür

Bu çalışma için elma bahçelerinden toplanan avcı akarların teşhisini yapan Prof. Dr. Sultan ÇOBANOĞLU'na teşekkür ederiz. 1164-D-10 No'lu Proje ile bu çalışmayı maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederiz.

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, 2011a. T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu Başkanlığı, Ankara. <http://www.tuik.gov.tr>, (Erişim Tarihi: 28.12.2011).
- Anonim, 2011b. T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu Başkanlığı, Ankara. <http://www.tuik.gov.tr>, (Erişim tarihi: 23.12.2011).
- Ay, R., Gürkan, M., O. 2005. *Tetranychus urticae* Koch (Acari:Tetranychidae)'nin Değişik Popülasyonlarının İki Selektif Akarisite Karşı Duyarlılıkları ve Duyarlılık Mekanizmaları Üzerinde Araştırmalar. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 11 (2), 217-223.
- Bonafos, R., Serrano, E., Auger, P., Kreiter, S. 2007. Resistance to Deltamethrin, Lambda-Cyhalothrin and Chlorpyrifos-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.

- Booth, L.H., Wratten, S.D., Kehrli, P. 2007. Effects of Reduced Rates of Two Insecticides on Enzyme Activity and Mortality of an Aphid and Its Lacewing Predator. *Journal Economic Entomology*, 100(1), 11-19.
- Bowie, M.H., Wornner, S.P., Krips, O.E., Penman, D.R. 2001. Sublethal Effects of Esfenvalerate Residues on Pyrethroid Resistant *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae) and Its Prey *Panonychus ulmi* and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Experimental and Applied Acarology*, 25, 311-319.
- Bradford, M.M. 1976. A Rapid and Sensitiv Method for the Quantitation of Microgramm Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein - Dye Inding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Castagnoli, M., Simoni, S. 1999. Effect of Long-Term Feeding History on Functional and Numerical Response of *Neoseiulus californicus* (Acari:Phytoseiidae). *Experimental Applied Acarology*, 23, 217-234.
- Fournier, D., Cuany, A., Pralavorio, M., Bride, J.M., Berge, J.B. 1987. Analysis of Methidathion Resistance Mechanisms in *Phytoseiulus persimilis* A.H. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 28(2), 271-278.
- Kang, C., Y., Wu, G., Miyata, T. 2006. Synergism of Enzyme Inhibitors and Mechanisms of Insecticide Resistance in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (HOM., Aleyrodidae). *Journal Applied Entomology*, 130(6-7), 377-385.
- 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.
- Kim, Y.J., Park, H.M., Cho, J.R., Ahn, Y.J. 2006. Multiple Resistance and Biochemical Mechanisms of Pyridaben Resistance in *Tetranychus urticae* (Acari:Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 99(3), 954-958.
- Kumral, N.A., Gencer, N.S., Susurluk, H., Yalcin, C. 2011. A Comparative Evaluation of the Susceptibility to Insecticides and Detoxifying Enzyme Activities in *Stethorus gilvifrons* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Panonychus ulmi* (Acarina:Tetranychidae). *International Journal of Acarology*, 37(3), 255-268.
- Kwon, D.H., J Clark, J.M., Lee, S.H. 2010. Cloning of a Sodium Channel Gene and Identification of Mutations Putatively Associated with Fenpropathrin Resistance in *Tetranychus urticae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 97(2), 93-100.

Isparta İli Elma Bahçelerinden Toplanan Avcı Akar Neoseiulus californicus (Acari: Phytoseiidae) Popülasyonlarının Bazı Akarisitlere Karşı Direnç Düzeyleri ve Direnç Mekanizmaları

- Leeuwen, T.V., Stullatus, 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.
- LeOra Software, 1994. Polo-pc: A User's Guide to Probit or Logit Analysis Leora Software, Berkeley, 28 pp.
- Mugo, H.M., El-Banhawy, E.M., Irungu, L.W., Ndegwa, P.N., Mburu, D.N. 2011. Resistance of Predacious Mite, *Euseius kenyae* (Acari: Phytoseiidae) to Chlorpyrifos (Dursban) in Kenyan Coffee Farms. *Jagst* 13(1), 53-64.
- Pottelberge, S.V., Leeuwen, T.V., Khajeali, J., Tirry, L. 2009. Genetic and Biochemical Analysis of a Laboratory-Selected Spirodiclofen-Resistant Strain of *Tetranychus urticae* Koch (Acari:Tetranychidae). *Pest Management Science*, 65, 358–366.
- Öncüer, C., Durmuşoğlu, E. 2008. Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları. Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları, No:28, Aydın, 464s.
- Sato, E.M., Miyata, T., Kawai, A., Nakano, O. 2000. Selection for Resistance and Susceptibility to Methidathion and Cross Resistance in *Amblyseius womersleyi* 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 womersleyi* Schicha (Acari: Phytoseiidae). *Experimental Applied Acarology*, 39, 13-24.
- Sayyed, A.H., Pahtan, A.K., Faheem, U. 2010. Cross-Resistance, Genetics and Stability of Resistance to Deltamethrin in a Population of *Chrysoperla*
- Sökeli, E., Ay, R., Karaca, İ. 2007. Determination of the Resistance Level of Two-Spotted Spider Mite (*Tetranychus urticae* Koch) Populations in Apple Orchards in Isparta Province Against Some Pesticides. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 13(4), 326-330.
- Suh, E., Koh, S.H., Lee, J.H., Shin, K.I., Cho, K. 2006. Evulation of Resistance Pattern to Fenpyroximate and Pyridaben in *Tetranychus urticae* Collected From Greenhouses and Apple Orchards Using Lethal Concentration-Slope Relationship. *Experimental and Applied Acarology*, 38, 151-165.
- 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., Zebitz, P-W., Kraus, W., Moores, G.D., Nauen, R. 2001. Resistance to Organophosphates and Biochemical Genotyping of Acetylcholinesterases in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 69, 131-142.
- Tirello, P., Pozzebon, A., Duso, C. 2012. Resistance to Chlorpyrifos in the Predatory Mite *Kampimodromus aberrans*. *Experimental Applied Acarology*, 56, 1–8.
- Yorulmaz, S., Ay, R. 2011. Isparta İli Elma Bahçelerinden Toplanan Avcı Akar *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) Popülasyonlarının Spiromesifen'e Karşı Duyarlılık Düzeylerinin ve Sinerjistlerinin Belirlenmesi. *Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi Bildiri Kitabı*, 28-30 Haziran, Kahramanmaraş, 129.
- Yorulmaz, S., Kaplan P., Boztürk D., Çobanoğlu S., Ay R. 2010. Isparta İli Elma Bahçelerinden Toplanan *Tetranychus urticae* koch. (acarina: tetranychidae) Popülasyonlarının Cyhexatin ve Propargite Karşı Duyarlılıklarının Belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 5(1), 17-23.
- 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 pp.